



UNIVERZITET U NIŠU  
PRIRODNO-MATEMATIČKI FAKULTET  
DEPARTMAN ZA HEMIJU



**Branka T. Stojanović**

**HEMIJSKI SASTAV I ANTIOKSIDATIVNA  
AKTIVNOST METANOLNIH I ACETONSKIH  
EKSTRAKATA PULPE I KORE ODABRANIH VRSTA  
VOĆA SA PODRUČJA JUGOISTOČNE SRBIJE**

Doktorska disertacija

Niš, 2014.



UNIVERSITY OF NIŠ  
FACULTY OF SCIENCE AND MATHEMATICS  
DEPARTMENT OF CHEMISTRY



**Branka T. Stojanović**

**CHEMICAL COMPOSITION AND ANTIOXIDANT  
ACTIVITY OF METHANOL AND ACETONE PULP  
AND PEEL EXTRACTS OF SELECTED FRUIT FROM  
SOUTHEAST SERBIA**

PhD thesis

Niš, 2014.

*Mentor:*

**dr Snežana Mitić,**

redovni profesor Prirodno-matematičkog fakulteta Univerziteta u Nišu

*Članovi komisije:*

**dr Danijela Kostić,**

redovni profesor Prirodno-matematičkog fakulteta Univerziteta u Nišu,

**dr Aleksandra Pavlović,**

vanredni profesor Prirodno-matematičkog fakulteta Univerziteta u Nišu,

**dr Milan Mitić,**

docent Prirodno-matematičkog fakulteta Univerziteta u Nišu i

**dr Ružica Micić,**

docent Prirodno-matematičkog fakulteta Univerziteta u Prištini.

*Ova doktorska disertacija je urađena u laboratorijama Departmana za hemiju Prirodno matematičkog fakulteta Univerziteta u Nišu. Srdačno se zahvaljujem svom dragom mentoru dr Snežani Mitić, redovnom profesoru PMF-a u Nišu na strpljenju i podršci tokom izrade doktorske disertacije, kao i na uloženom trudu, stručnoj pomoći, smernicama i stečenom znanju, koji su bili ključni za izradu ove teze.*

*Takođe se zahvaljujem svojim kolegama sa Katedre za analitičku i fizičku hemiju, Departmana za hemiju, na korisnim savetima, saradnji, razumevanju.*

*I naravno, najveću zahvalnost dugujem Melaniji i Vladići. Bez njihove podrške i ljubavi ne bih mogla da istrajem do kraja.*

*Hvala mojoj sestri i roditeljima, na pruženim prilikama da učim i radim ono što volim i na svemu što su učinili da danas budem to što jesam, zato im posvećujem ovaj rad.*

*Autor*



**ПРИРОДНО - МАТЕМАТИЧКИ ФАКУЛТЕТ  
НИШ**

**КЉУЧНА ДОКУМЕНТАЦИЈСКА ИНФОРМАЦИЈА**

Редни број, <b>РБР:</b>	
Идентификациони број, <b>ИБР:</b>	
Тип документације, <b>ТД:</b>	монографска
Тип записа, <b>ТЗ:</b>	текстуални / графички
Врста рада, <b>ВР:</b>	докторска дисертација
Аутор, <b>АУ:</b>	Бранка Т. Стојановић
Ментор, <b>МН:</b>	Снежана Митић
Наслов рада, <b>НР:</b>	<b>Хемијски састав и антиоксидативна активност метанолних и ацетонских екстраката пулпе и коре одабраних врста воћа са подручја Југоисточне Србије</b>
Језик публикације, <b>ЈП:</b>	српски
Језик извода, <b>ЈИ:</b>	енглески
Земља публикавања, <b>ЗП:</b>	Србија
Уже географско подручје, <b>УГП:</b>	Србија
Година, <b>ГО:</b>	2014.
Издавач, <b>ИЗ:</b>	ауторски репринт
Место и адреса, <b>МА:</b>	Ниш, Вишеградска 33.
Физички опис рада, <b>ФО:</b> (поглавља/страна/ цитата/табела/слика/графика/прилога)	237 стр., граф. прикази
Научна област, <b>НО:</b>	хемија
Научна дисциплина, <b>НД:</b>	аналитичка хемија
Предметна одредница/Кључне речи, <b>ПО:</b>	<i>Cydonia oblonga</i> , <i>Prunus persica</i> , <i>Malus domestica</i> , HPLC, UV-VIS, ICP, метали, антиоксиданти, анализа
<b>УДК</b>	581.192 : (661.721 + 661.727.4 + 641.13)(497.11-12) 615.322 : (661.721 + 661.727.4 + 641.13)(497.11-12)
Чува се, <b>ЧУ:</b>	библиотека
Важна напомена, <b>ВН:</b>	Експериментални део је урађен у лабораторији ПМФ-а у Нишу
Извод, <b>ИЗ:</b>	Применом више инструменталних метода (UV-VIS спектрофотометрије, HPLC хроматографије, ICP емисионе спектрофотометрије) извршена је анализа антиоксидантне активности, фенолног и минералног састава пулпе и коре екстраката изабраних врста воћа ( <i>Cydonia oblonga</i> , <i>Prunus persica</i> , <i>Malus domestica</i> ), као и утицај метанолних и ацетонских растварача на испитивани састав. Добијени резултати су дискутовани, упоређени са литературним и статистички анализирани.
Датум прихватања теме, <b>ДП:</b>	26. 02. 2014.
Датум одбране, <b>ДО:</b>	
Чланови комисије, <b>КО:</b>	Председник: Члан: Члан, ментор:



**ПРИРОДНО - МАТЕМАТИЧКИ ФАКУЛТЕТ  
НИШ**

**KEY WORDS DOCUMENTATION**

Accession number, <b>ANO</b> :	
Identification number, <b>INO</b> :	
Document type, <b>DT</b> :	monograph
Type of record, <b>TR</b> :	textual / graphic
Contents code, <b>CC</b> :	doctoral dissertation
Author, <b>AU</b> :	Branka T. Stojanović
Mentor, <b>MN</b> :	Snežana Mitić
Title, <b>TI</b> :	<b>CHEMICAL COMPOSITION AND ANTIOXIDANT ACTIVITY OF METHANOL AND ACETONE PULP AND PEEL EXTRACTS OF SELECTED FRUIT FROM SOUTHEAST SERBIA</b>
Language of text, <b>LT</b> :	Serbian
Language of abstract, <b>LA</b> :	English
Country of publication, <b>CP</b> :	Serbia
Locality of publication, <b>LP</b> :	Serbia
Publication year, <b>PY</b> :	2014.
Publisher, <b>PB</b> :	author's reprint
Publication place, <b>PP</b> :	Niš, Višegradska 33.
Physical description, <b>PD</b> : <small>(chapters/pages/ref./tables/pictures/graphs/appendixes)</small>	237 p. ; graphic representations
Scientific field, <b>SF</b> :	chemistry
Scientific discipline, <b>SD</b> :	analytical chemistry
Subject/Key words, <b>S/KW</b> :	<i>Cydonia oblonga</i> , <i>Prunus persica</i> , <i>Malus domestica</i> , HPLC, UV-Vis, ICP, metal, antioxidant, analysis
<b>UC</b>	581.192 : (661.721 + 661.727.4 + 641.13)(497.11-12) 615.322 : (661.721 + 661.727.4 + 641.13)(497.11-12)
Holding data, <b>HD</b> :	library
Note, <b>N</b> :	The experimental part of this work was performed in the research laboratory of the Faculty of Science and Mathematics in Niš
Abstract, <b>AB</b> :	By applying more instrumental methods (UV-Vis spectrophotometry, HPLC chromatography, ICP emission spectrophotometry), the antioxidant activity, phenolic and mineral composition of the pulp and peel extracts of selected types of fruit ( <i>Cydonia oblonga</i> , <i>Prunus persica</i> , <i>Malus domestica</i> ) were determined and the effect of methanol and acetone solvent of determined composition was investigated. The obtained results are discussed, compared with the literature and analyzed statistically.
Accepted by the Scientific Board on, <b>ASB</b> :	26.02.2014.
Defended on, <b>DE</b> :	
Defended Board, <b>DB</b> :	President:
	Member:
	Member, Mentor:

## ***Skraćenice***

3,5-diCQA - 3,5-dikafeoilhinska kiselina

3-CQA - 3-O-kafeoilhinska kiselina;

4-CQA - 4-O-kafeoilhinska kiselina

5-CQA - 5-O-kafeoilhinska kiselina

ABTS<sup>•+</sup> - 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolin-6-sulfonska kiselina)

ANOVA - Jednosmerna analiza varijanse

CafA - kafena kiselina

CE - Katehin ekvivalent

Cy-Glu - cijanidin-3-glukozid

Cy-Ru - cijanidin-3-rutinozid

DPPH<sup>•</sup> - 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil radikal

FerA - ferulna kiselina

FRAP - Fe(III)-Fe(II) redoks kapaciteta (*ferric ion reducing antioxidant power*)

GAE - Ekvivalent galne kiseline

HC1 - 4-p-kumaroilhinska kiselina

HC2 - p-kumaroilhinska kiselina

HPLC - Tečna hromatografija sa visokim performansama (*high performance liquid chromatography*)

ICP - Induktivno spregnuta plazma (*inductively coupled plasma*)

ICP-OES - Induktivno spregnuta plazma sa optičkom detekcijom

K-Glu - kemferol-3-glukozid

K-Ru - kemferol-3-rutinozid

LOD - Limit detekcije

LOQ - Limit kvantifikacije

MDK - Maksimalno dozvoljena koncentracija

nd - nije nađeno

PCA - Analiza glavne komponente

p-CouA - p-kumarna kiselina

Q-Ga - kvercetin-3-galaktozid

Q-Glu - kvercetin-3-glukozid

Q-Ru - kvercetin-3-rutinozid

RP - Redukciona sposobnost (*Reduction power*)

RSD - Relativna standardna devijacija

SD - Standardna devijacija

TE - Troloks ekvivalent

TEAC - antioksidativni kapacitet ekvivalenta troloksa

TF - Ukupni flavonoidi

TP - Ukupni fenoli

TPTZ - 2,4,6-tris(2-piridil)-s-triazin

UAE - Ultrazvučna ekstrakcija (*Ultrasound assisted extraction*)

WHO - Svetska zdravstvena organizacija (*World Health Organization*)



## Sadržaj

<b>1. UVOD.....</b>	<b>1</b>
<b>2. TEORIJSKI DEO.....</b>	<b>6</b>
2.1. Ekstrakcija.....	7
2.1.1. Čvrsto-tečna ekstrakcija.....	10
2.1.2. Ultrazvučna ekstrakcija.....	13
2.2. UV-Vis spektrofotometrija.....	15
2.3. HPLC hromatografija.....	18
2.3.1. Kvalitativna HPLC analiza.....	21
2.3.2. Kvantitativna HPLC analiza.....	22
2.4. Optička emisiona spektrometrija sa induktivno kuplovanom plazmom, ICP-OES...24	
2.5. Metalni joni.....	27
2.6. Fenolna jedinjenja i antioksidansi.....	29
2.7. Karakteristike odabranih vrsta voća.....	35
2.7.1. <i>Cydonia oblonga</i> Miller – dunja.....	35
2.7.2. <i>Prunus persica</i> – breskva.....	37
2.7.3. <i>Malus domestica</i> – jabuka.....	40
<b>3. EKPERIMENTALNI DEO.....</b>	<b>46</b>
3.1. Materijal.....	46
3.1.1. Voćni materijal.....	46
3.1.2. Hemikalije i reagensi.....	46
3.2. Aparati.....	48
3.3. Metode.....	50
3.3.1. Priprema uzoraka.....	50
3.3.1.1. Postupak ekstrakcije uzoraka za HPLC i UV-Vis analizu.....	50
3.3.1.2. Postupak mineralizacije.....	50
3.3.2. Spektrofotometrijska analiza ekstrakata.....	51
3.3.2.1. Određivanje ukupnih fenola u ekstraktima voća.....	51
3.3.2.2. Određivanje ukupnih flavonoida u ekstraktima voća.....	52
3.3.2.3. Određivanje antioksidantne aktivnosti DPPH testom.....	53
3.3.2.4. Određivanje antioksidantne aktivnosti ABTS testom.....	55
3.3.2.5. Određivanje antioksidantne aktivnosti FRAP testom.....	57
3.3.2.6. Redukciona sposobnost (Reducing Power, RP).....	58
3.3.3. HPLC analiza ekstrakata.....	59

3.3.4.ICP-OES metoda.....	60
<b>4. REZULTATI I DISKUSIJA.....</b>	<b>61</b>
4.1. Sadržaj ukupnih fenola i flavonoida u ekstraktima voća.....	62
4.1.1.Sadržaj ukupnih fenola i flavonoida u ekstraktima dunja.....	63
4.1.2.Sadržaj ukupnih fenola i flavonoida u ekstraktima bresaka.....	68
4.1.3.Sadržaj ukupnih fenola i flavonoida u ekstraktima jabuka.....	74
4.2. HPLC analiza ekstrakata voća.....	80
4.2.1.HPLC analiza ekstrakata pulpe i kore dunja.....	81
4.2.2.HPLC analiza ekstrakata sortnih i vinogradarskih bresaka.....	92
4.2.3.HPLC analiza ekstrakata kore crvenih sorti jabuka.....	103
4.3. Antioksidativna aktivnost ekstrakata voća.....	113
4.3.1.Antioksidativna aktivnost metanolnih i acetonskih ekstrakata dunja.....	113
4.3.2.Antioksidativna aktivnost sortnih i vinogradarskih bresaka.....	118
4.3.3.Antioksidativna aktivnost metanolnih ekstrakata jabuke.....	122
4.4. ICP-OES analiza voća.....	128
4.4.1.ICP-OES analiza kore, pulpe i semenki dunja.....	128
4.4.2.ICP-OES analiza vinogradarskih bresaka, kore i pulpe sortnih bresaka.....	137
4.4.3.ICP-OES analiza ploda, kore i semenki jabuka.....	146
4.5. Uporedna, korelaciona i pca analiza dobijenih rezultata.....	160
4.5.1.Uporedni pregled sadržaja ukupnih fenola i flavonoida ispitivanih vrsta voća.....	160
4.5.2.Uporedni pregled sadržaja hidrosicimetnih kiselina i flavonola ispitivanog voća....	161
4.5.3.Uporedni pregled antioksidativnih aktivnosti ispitivanih vrsta voća.....	162
4.5.4.Korelaciona analiza sadržaja fenolnih jedinjenja i antioksidativnih aktivnosti.....	163
4.5.5.Uporedni pregled mineralnog sastava ispitivanih vrsta voća.....	167
4.5.6.Korelaciona i PCA analiza mineralnog sastava ispitivanih vrsta voća.....	169
<b>5. IZVOD.....</b>	<b>185</b>
<b>6. SUMMARY.....</b>	<b>189</b>
<b>7. LITERATURA.....</b>	<b>193</b>
<b>8. PRILOG.....</b>	<b>215</b>
<b>9. BIOGRAFIJA SA BIBLIOGRAFIJOM.....</b>	<b>233</b>

## ***1. Uvod***

Poznato je da je upotreba voća, povrća i lekovitog bilja značajan činilac koji poboljšava opšte zdravstveno stanje ljudi, pa je izučavanje njihovog pozitivnog uticaja sve više predmet aktuelnih istraživanja. To potvrđuju brojne istraživačke studije iz ove oblasti. Pomenuto svojstvo objašnjava se, pre svega hemijskim sastavom i prisustvom sekundarnih metabolita u voću, povrću i biljkama, koji mogu ispoljavati različite biološke aktivnosti.

Pod hemijskim sastavom voća podrazumeva se udeo svih sastojaka voća uključujući i vodu. Komponente hemijskog sastava količinom i međusobnim odnosima formiraju senzorna, nutritivna i biološka svojstva voća. Hemijski i mehanički sastav specifičan je za svaku vrstu i sortu. Ova specifičnost je okarakterisana variranjem u određenim granicama u zavisnosti od klimatskih uslova, agrotehničkih mera i stepena zrelosti.

Voće je po svom hemijskom sastavu bogat izvor raznih esencijalnih mikronutrijenata kao što su vitamini i minerali. Međutim, u zadnje vreme se ističe važnost voća kao bogatog izvora jedinjenja, koja nisu esencijalna za ljudsko zdravlje, ali pokazuju biološko delovanje u ljudskom organizmu. U takva jedinjenja spadaju polifenolna jedinjenja (*Kaur i Kapoor, 2001*) koja su zbog svoje kompleksne hemijske građe podeljena u brojne grupe od kojih su najvažnije flavonoidi i fenolne kiseline. Važna karakteristika polifenola je njihovo snažno antioksidativno delovanje koje se ostvaruje hvatanjem slobodnih radikala, vezanjem metalnih jona i prekursora pri stvaranju slobodnih radikala (*Rice-Evans i sar., 1997*). Antioksidativno delovanje polifenola povezano je s različitim fiziološkim delovanjima polifenola u ljudskom organizmu. Naime, polifenoli pokazuju antiinflamatorno, antialergijsko i antikancerogeno delovanje (*Rotelli i sar., 2003; Mamani-Matsuda i sar., 2006*) i zbog takvog pozitivnog delovanja su poslednjih nekoliko decenija, postali predmet brojnih istraživanja.

S obzirom da su dunje, breskve i jabuke bogat izvor antioksidativnih komponenti, te da tome najviše doprinose polifenolne komponente, fokus ovog istraživanja je bio određivanje sadržaja fenolnih jedinjenja, mineralnih materija i antioksidativnih komponenti u dunjama, breskvama i jabukama. Sadržaj fenolnih jedinjenja i mineralnih materija je znatno veći u pokožici (kori) u odnosu na pulpu, pa su stoga u nastavku prikazani rezultati koji prezentuju sadržaj fenolnih jedinjenja i mineralnih materija u pojedinim delovima ploda (kora, pulpa i semenke) analiziranih sorti dunja, bresaka i jabuka.

Kako postoji relativno veliki broj istraživanja koja se odnose na analizu kako nutritivnih tako i nenutritivnih komponenti u plodovima dunja, bresaka i jabuka, od posebnog je značaja utvrditi i odstupanja, odnosno podudarnosti dobijenih rezultata sa literaturnim

podacima, tim pre jer su u radu korišćene vrste voća iz Jugoistočne Srbije za koje takvi podaci još nisu dostupni.

Sadržaj fenolnih jedinjenja u voću, kao i njihova antioksidativna aktivnost određuje se u odgovarajućim ekstraktima. Ekstrakti voća su uvek smeše različitih klasa jedinjenja rastvorenih u datom rastvaraču. Rastvorljivost fenolnih jedinjenja je određena tipom upotrebljenog rastvarača (polarnost rastvarača), interakcijom fenola sa drugim jedinjenjima, stepenom polimerizacije kao i sklonošću ka formiranju nerastvornih kompleksa. Primenjeni ekstrakcioni sistem, kao i postupak ekstrakcije treba da obezbedi potpunu ekstrakciju komponenti koje su od interesa i spreči njihovu hemijsku modifikaciju.

U voću su prisutne i mineralne materije kao soli odgovarajućih organskih i neorganskih kiselina, ili u obliku kompleksnih jedinjenja. To je od velike važnosti za njihovu biodostupnost. Pored vazduha, zemljišta i vode, na sadržaj metala u voću mogu uticati: upotreba agrotehničkih mera, industrijski procesi u preradi voća, upotreba konzervanasa i aditiva i dr. Veće prisustvo pojedinih teških, toksičnih metala važan je parameter kako u proceni eventualnog štetnog uticaja tih proizvoda na zdravlje ljudi, tako i kao indikator zagađenja životne sredine. Prisustvo velikog broja metala u ljudskom organizmu je prvenstveno posledica hrane koju konzumiramo. Zbog toga je neophodno praćenje sadržaja metala u različitim namirnicama koje svakodnevno unosimo u odnosu na preporučene dnevne potrebe za ovim elementima.

Detaljnim pregledom literature utvrdili smo da ima malo podataka o sistematskom fitohemijskom ispitivanju voća sa područja Jugoistočne Srbije. Polazeći od činjenice da s obzirom na prisustvo fenolnih jedinjenja i mineralnih materija voće može biti značajan prirodni resurs biološki aktivnih jedinjenja i makro i mikronutrijenata, u okviru ove doktorske disertacije postavljeni su sledeći ciljevi:

1. Hemijska karakterizacija dunje, *Cydonia oblonga* Miller,
2. Hemijska karakterizacija breskve, *Prunus persica* L. i
3. Hemijska karakterizacija jabuke, *Malus domestica*.

U skladu sa postavljenim ciljevima, definisani su zadaci:

1. *Fitohemijska analiza ispitivanih vrsta voća:*

- ekstrakcija fenolnih komponenti pomoću više rastvarača,
  - kvantitativno određivanje ukupnih fenola i flavonoida kao i identifikacija i kvantifikacija fenolnih komponenti u plodu, kori i pulpi voća u odgovarajućim ekstraktima primenom spektrofotometrijskih metoda i metode tečne hromatografije (HPLC).
2. *Ispitivanje antioksidativne aktivnosti ekstrakata ploda, kore i pulpe voća, na osnovu:*
- spektrofotometrijskog određivanja „skevindžer“ aktivnosti na DPPH<sup>•</sup> radikale,
  - spektrofotometrijskog određivanja aktivnosti na ABTS<sup>•+</sup> katjon radikale,
  - spektrofotometrijskog određivanja Fe(III)-Fe(II) redoks kapaciteta (FRAP) i
  - spektrofotometrijskog određivanja Fe(III)-Fe(II) redukcione sposobnosti (RP).
3. *Hemijska analiza mineralnog sastava voća:*
- kvantitativno određivanje mineralnog sastava kore, pulpe i semenki dunja,
  - kvantitativno određivanje mineralnog sastava kore i pulpe sortnih bresaka i ploda vinogradarskih bresaka,
  - kvantitativno određivanje mineralnog sastava ploda, kore i semenki jabuka i
  - kvantitativno određivanje mineralnog sastava i ekstrakcionih koeficijenata ekstrakata kore crvenih sorti jabuka.
4. *Statistička obrada podataka:*
- korelaciona analiza,
  - analiza glavnih komponentata (PCA).

Rad je podeljen na: Teorijski deo, Eksperimentalni deo, Rezultati i diskusija, Izvod, Summary, Prilog, Literatura, Biografija sa bibliografijom.

U *Teorijskom delu* obrađeni su osnovni principi ekstrakcije kao i osnovni principi instrumentalnih metoda korišćenih u radu: UV-Vis spektrofotometrije, HPLC hromatografije i optičko-emisione spektrometrije sa induktivno kuplovanom plazmom (ICP-OES). Takođe, dat je kratak osvrt na metalne jone, fenolna jedinjenja i antioksidante u voću, kao i karakteristike ispitivanih vrsta voća.

U *Eksperimentalnom delu* je dat program eksperimentalnog rada, opisan je način pripreme uzoraka, primenjeni aparati i reagensi i detaljan opis primenjene procedure za UV-Vis spektrofotometriju, ICP-OES spektrometriju i HPLC hromatografiju.

U delu *Rezultati i diskusija* izloženi su rezultati do kojih se došlo u određivanju najefikasnijeg ekstragensa, fenolnog sastava, antioksidativne aktivnosti i mineralnog sastava ispitivanog voća: dunje (*Cydonia oblonga* Miller), breskve (*Prunus persica* L.) i jabuke (*Malus domestica*). Dobijeni sadržaji su diskutovani u kontekstu uticaja prirode, koncentracije i kiselosti rastvarača za ekstrakciju na sadržaj i sastav fenolnih jedinjenja, sa aspekta sadržaja fenolnih jedinjenja u kori i pulpi voća, sa aspekta sadržaja makro i mikroelemenata u cilju određivanja nutritivne vrednosti voća i sa aspekta sadržaja toksičnih metala kao indikatora zagađenosti životne sredine.

U delu *Izvod* dat je kratak pregled dobijenih rezultata.

U delu *Prilog* dat je Tabelarni prikaz dobijenih sadržaja za ukupne fenole, flavonoide, pojedinačna fenolna jedinjenja i antioksidativne aktivnosti ispitivanih ekstrakata, kao i Tabelarni prikaz Pirsonovih koeficijenata na sadržaje metala u ispitivanim uzorcima.

## ***2. Teorijski deo***



## 2.1. EKSTRAKCIJA

Ekstrakcija je tehnološka operacija kojom se iz materijala biljnog i životinjskog porekla ekstrahuju, odnosno izdvajaju aktivne supstance pomoću određenog rastvarača, ekstragensa. Ekstrakcija rastvaračima podrazumeva preuzimanje neke supstance iz jedne faze u kojoj je ona rastvorena ili suspendovana u drugu, tečnu fazu. Rastvorljivi sastojak čvrste ili tečne faze se ovom operacijom izoluje odgovarajućim rastvaračem. Ako se rastvorljiva supstanca ekstrahuje iz čvrstog materijala, reč je o ekstrakciji čvrsto-tečno, a ako se ekstrahuje iz tečnosti, onda se govori o ekstrakciji tečno-tečno.

Klasična ekstrakcija ili maceracija se najčešće primenjuje za dobijanje preparata prirodnih jedinjenja. Izvodi se tako što se biljni material potapa u rastvarač, pri određenom odnosu biljni material-rastvarač i temperature. Dvostruka maceracija ili remaceracija predstavlja dodavanje svežeg rastvarača iscrpljenom biljnom materijalu. Perkolacija se izvodi tako što rastvarač protiče kontinualno kroz nepokretan sloj čvrstog materijala odozgo naniže. Fino usitnjen material, koji se može lako održati suspendovan u rastvaraču podvrgava se maceraciji, dok se ekstrakcija krupnijeg, komadnog materijala vrši perkolacijom. Većina aktivnih supstanci sadržanih u biljnom materijalu lako podleže hemijskim promenama, pod uticajem enzima ili drugih pratećih supstanci prisutnih u prirodnom materijalu, koje dovode do smanjenja ili gubitka lekovitih svojstava. Hemijske promene aktivnih sastojaka mogu nastati i u toku ekstrakcije, pod uticajem upotrebljenog rastvarača ili primenjenog tehnološkog režima (*Pekić, 1980.*). Samim tim ekstrakcija zavisi od velikog broja procesnih parametara (veličine čestica, vremena, temperature, pritiska ekstrakcije, ekstragensa, itd.). Iz ovih razloga, u cilju dobijanja ekstrakta što boljeg kvaliteta, potrebno je operaciju ekstrakcije dobro proučiti i obezbediti odgovarajuće uslove.

Prema najjednostavnijem mehanizmu, proces ekstrakcije ekstraktivnih materija iz biljne sirovine odigrava se kroz dve faze:

1. *Ispiranje (brza ekstrakcija)*, kada neposredno po potapanju biljnog materijala u rastvarač dolazi do brzog spiranja i rastvaranja ekstraktivnih materija iz biljnih ćelija koje se nalaze na površini čestica biljnog materijala i čija brzina zavisi uglavnom od njihove rastvorljivosti u rastvaraču i hidrodinamičkih uslova u suspenziji.

2. *Unutrašnja difuzija (spora ekstrakcija)*, kada dolazi do prenosa mase ekstraktivnih materija iz nerazorenih ćelija u unutrašnjost čestica biljnog materijala prema rastvoru. Ovaj

prenos mase kroz čestice biljnog materijala, natopljenog rastvorom, i graničnog sloja rastvora oko čvrstih čestica vrši se difuzijom.

Zatim se vrši filtracija, centrifugiranje i sušenje. Za ekstrakciju čvrstih supstanci treba povećati dodirnu površinu između faza (usitnjavanjem). Za povećanje količine supstanci, potrebno je produžiti vreme trajanja procesa ekstrakcije.

Za ekstrakciju kore, korena, plodova i semenki glavni uslov je odgovarajuća usitnjenost polaznog materijala. Usitnjavanjem se povećava specifična površina materijala, a time i mogućnost kontakta pojedinih čestica sa rastvaračem za ekstrakciju. U slučaju prevelike usitnjenosti ekstrakcija je otežana, jer se zasićenija ekstrakciona tečnost teško probija i kroz malo deblji sloj ekstrakcionog materijala, pogotovo u prisustvu supstanci koje jako bubre. Osim toga, od jako usitnjenog materijala ekstrakt se teško odvaja, a jako usitnjeni materijal može naknadno adsorbovati već ekstrahovanu aktivnu materiju. Stepenn usitnjenosti biljnog materijala i čvrstih supstanci propisan je farmakopejama (*Ph. Jug. IV, Ph. Eur. 6*). Pri kontaktu rastvarača sa usitnjenim biljnim materijalom u oštećenim biljnim ćelijama dolazi do ispiranja, tj. rastvaranja njihovog sadržaja. U neoštećene ćelije rastvarač najpre mora da prođe. Bubljenjem, membrana postaje manje čvrsta, pojavljuju se intermicelarni prostori i rastvarač ulazi u ćeliju. Zatim bubri protoplazma, a sadržaj ćelija se rastvara i ukoliko se nalazi u molekularnom rastvoru, izlazi difuzijom kroz intracelularne prostore u okolnu tečnost dok se ne uspostavi ravnoteža koncentracija unutar i izvan ćelija (*Jovanović, 2003*).

Izbor ekstragensa se vrši tako da omogućava što kvantitativnije iscrpljenje uzorka, odnosno ostvarenje visokih prinosa ekstrakcije. Takođe, neophodno je voditi računa i o selektivnosti ekstrakcije, odnosno dobijanju ekstrakata sa minimalnim sadržajem primesa, a maksimalnim sadržajem željenih aktivnih supstanci. Izbor rastvarača za ekstrakciju zavisi od stepena hidrofilnosti supstance koja se želi dobiti ekstrakcijom, pri čemu se može koristiti poznato pravilo, slično se rastvara u sličnom. Prilikom izbora potrebno je uzeti u obzir (*Albu i sur., 2004*): polarnost, tačku ključanja – treba biti što niža, da olakša odvajanje rastvarača od komponente; reaktivnost – rastvarač ne sme reagovati sa ekstraktom, niti se sme razgrađivati, viskoznost – rastvarač mora imati nisku viskoznost, stabilnost rastvarača na toplotu, kiseonik i svetlo, sigurnost pri upotrebi – po mogućnosti nezapaljivo, neškodljivo za analitičara i prilikom odlaganja za životnu sredinu.

Većina organskih rastvarača je toksična za ljudski organizam. Takođe, oni nisu selektivni, tako da rastvaraju i visokomolekulske sastojke, kao što su smole, voskovi, masna ulja i boje. Mešanjem alkohola i vode u različitim kvantitativnim odnosima dielektrična konstanta smeše se menja u širokim granicama, što omogućava primenu ovakvih smeša za

ekstrakciju velikog broja supstanci iz biljnog materijala. Neophodno je istaći da rastvarač ne utiče samo na ekstrakciju neke određene grupe jedinjenja, već i ukupna količina ekstrahovanih materija zavisi od polarnosti rastvarača (*Lepojević, 2000*). Primenom smeše metanola i vode, kao relativno polarnog rastvarača, mogu se iz polaznog materijala ekstrahovati polarne komponente kao što su fenoli, flavonoidi, tanini, šećeri, glikozidi, soli, neki vitamini i druga jedinjenja. Kako izbor rastvarača za ekstrakciju u velikoj meri određuju komponente koje se žele izdvojiti, nije najjednostavnije odrediti koji je rastvarač najpogodniji (čak i procenat alkohola u ekstragensu kod ekstrahovanja polarnih supstanci), pa se zato za određivanje najpogodnijeg rastvarača pri ekstrakciji biljnog materijala sve više primenjuje optimizacija procesa ekstrakcije. Na taj način se sa sigurnošću može tvrditi da se primenjenim ekstragensom dobija ekstrakt najboljih osobina u odnosu na željene karakteristike (*Xu i Diosady, 2010*).

Pored dobrih prinosa, klasične tehnike ekstrakcije imaju nedostatke kao što su: dugo vreme trajanja, velika potrošnja rastvarača, pojava degradacije bioaktivnih materija, zahtevi za dodatnim koracima u obradi ekstrakata (filtriranje, koncentrovanje). U cilju dobijanja većeg prinosa ukupnog ekstrakta ili željene komponente iz različitog biljnog materijala, ekstrakti se sve više dobijaju primenom nekonvencionalnih tehnika ekstrakcije, kao što su: super- i sub-kritična ekstrakcija ili ekstrakcija pod dejstvom električne energije, povišenog pritiska, mikrotalasa ili ultrazvuka (*Karabegović, 2011*).

Zatim se vrši filtracija, centrifugiranje i sušenje. Za ekstrakciju čvrstih supstanci treba povećati dodirnu površinu između faza (usitnjavanjem). Za povećanje količine supstanci, potrebno je produžiti vreme trajanja procesa ekstrakcije.

Moguće metode ekstrakcije su:

- ekstrakcija rastvaračem,
- ekstrakcija tečno-tečno,
- ekstrakcija čvrsto-tečno,
- superkritična ekstrakcija,
- ekstrakcija mikrotalasima,
- sokslet ekstrakcija i

- ekstrakcija ultrazvukom.

U ovom radu korišćene su dve metode ekstrakcije: ekstrakcija čvrsto-tečno i ekstrakcija ultrazvukom.

### **2.1.1. Čvrsto-tečna ekstrakcija**

Ekstrakcija čvrsto-tečno je operacija prenosa mase kojom se jedna ili više supstanci izdvaja iz čvrstog biljnog materijala pomoću pogodnog rastvarača. Dve tehnike ekstrakcije čvrsto-tečno koje se najčešće koriste su maceracija i perkolacija.

Kod izbora tehnike i uslova ekstrakcije potrebno je obratiti pažnju na: veličinu čestice, vrstu rastvarača, temperaturu i mešanje. Što su čestice manje to je veća kontaktna površina čvrsto-tečno, pa je veća i brzina prenosa mase, a rastojanje koje rastvorak treba da pređe difuzijom unutar čvrstog materijala je kraće. Rastvarač koji se koristi treba da je manje viskoznan. Rastvarač je čist samo na početku, kasnije koncentracija rastvorka u rastvaraču raste, dok se brzina prenosa mase smanjuje, zbog toga što se smanjuje gradijent koncentracije i povećava viskoznost rastvora. Prilikom povećanja temperature, koeficijent difuzije se povećava, a time se povećava i brzina prenosa mase u rastvoru.

Na brzinu difuzije takođe utiče molekulska masa jedinjenja koje difunduje, debljina sloja kroz koji difunduje, kao i veličina dodirne površine faza. Ukoliko je površina kontakta veća, a debljina sloja manja, difuzija je brža.

Uticaj pojedinih faktora na proces difuzije matematički je definisana prvim Fikovim zakonom difuzije. Ovaj zakon se odnosi na stacionarni proces difuzije, pri čemu je koncentracija materije u jednoj tački sistema konstantna. Drugi Fikov zakon difuzije predstavlja proces nestacionarne difuzije, kojim se izražava promena koncentracije materije koja difunduje u određenoj tački sistema sa vremenom (*Lepojević, 2000*).

Bez obzira od primenjene tehnike, proces ekstrakcije se sastoji iz sledećih faza :

- ispiranje (brza ekstrakcija) – neposredno po potapanju biljnog materijala u rastvarač dolazi do brzog ispiranja i rastvaranja ekstraktivnih materija koje se nalaze na površini biljnog materijala. Brzina ove faze zavisi od rastvorljivosti ekstraktivnih materija u rastvaraču i hidrodinamičkih uslova u suspenziji, i

- unutrašnja difuzija (spora ekstrakcija) – rastvaranje ekstraktivnih materija i njihova difuzija iz unutrašnjosti nerazorenih ćelija biljnog materijala prema spoljašnjoj površini, kroz ćelijsku membranu, a od spoljašnje površine čestica kroz granični sloj u masu rastvora.

Nakon završene ekstrakcije, ekstrakt se odvaja od iscrpljenog biljnog materijala filtracijom na Bihnerovom levku.

Rastvarač prodire u biljnu sirovinu pod uticajem kapilarnih sila. Biljni materijal ima ogroman broj pora kapilarnog tipa, zbog čega rastvarač prodire u tkiva po kapilarama i popunjava ćelije i druge šupljine u sirovini. Vreme popunjavanja kapilara i ćelija rastvaračem može biti veoma veliko, zbog vazduha koji se nalazi u kapilarama i ćelijama biljnog materijala.

Brzina procesa rastvaranja ekstraktivnih supstanci zavisi od njihove rastvorljivosti u rastvaraču, koja je određena njihovom prirodom i prirodom rastvarača i temperaturom. Koncentracija rastvora zavisi od odnosa biljne sirovine i rastvarača i povećava se sa vremenom, smanjujući brzinu rastvaranja. Otpor prenosu mase ekstraktivnih supstanci sa površine biljnih čestica u masu rastvora zavisi od hidrodinamičkih uslova. Mešanje smanjuje otpor prenosu mase i ujednačava sastav rastvora. Unutar čvrstih biljnih čestica rastvarač praktično ne struji, a debljina difuzionog graničnog sloja oko njih je reda veličina biljnih čestica. Brzina rastvaranja ekstraktivnih supstanci unutar čestica je određena i brzinom prenosa mase kroz čestice biljnog materijala, tj. koeficijentom molekulske difuzije ekstraktivnih supstanci za dati rastvarač.

Na tok ekstrakcije iz biljne sirovine utiče veliki broj faktora, koji se mogu podeliti u dve grupe: faktori određeni tehnološkim karakteristikama biljne sirovine i faktori koji utiču na prenos mase unutar čestice biljne sirovine i u rastvoru.

Najvažnije tehnološke karakteristike biljne sirovine su: stepen usitnjenosti sirovine, sadržaj vlage, površina čestice, sadržaj aktivnih i ekstraktivnih supstanci, brzina i stepen bubrenja biljne sirovine i količina rastvarača koja je adsorbovana u biljnoj sirovini.

Usitnjenost biljne sirovine ima veliki uticaj na proces ekstrakcije. Tehnike usitnjavanja biljne sirovine su: lomljenje, rezanje, struganje i udar. Ekstrakcija iz biljne sirovine kod kojih je ćelijska struktura više razorena biće brža, kao posledica ubrzanja ispiranja supstanci iz razorenih ćelija.

Hidrodinamički uslovi imaju uticaj na prenos mase kroz difuzioni podsloj i u masu rastvora. Sa povećanjem brzine strujanja rastvora oko čestice biljne sirovine, debljina difuzionog podsloja se smanjuje, a molekularni mehanizam prenosa u rastvoru zamenjuje bržim, konvektivnim. Povoljniji hidrodinamički uslovi postižu se mešanjem, vibracijom, cirkulacijom itd.

Tip rastvarača ima veliku ulogu u procesu ekstrakcije. Prema stepenu hidrofobnosti, supstance koje se ekstrahuju iz biljne sirovine mogu se podeliti na:

- rastvorne u polarnim rastvaračima (hidrofobne supstance),
- rastvorne u slabo polarnim rastvaračima i
- rastvorne u nepolarnim rastvaračima (hidrofobne supstance).

Izbor rastvarača za ekstrakciju zavisi od stepena hidrofilnosti supstance. Koristi se poznato pravilo slično se rastvara u sličnom. Polarne supstance, sa visokim vrednostima dielektrične konstante, dobro se rastvaraju u polarnim rastvaračima i obratno. Fizička svojstva nekih rastvarača data su u Tabeli 2.1.

**Tabela 2.1.** Podela ekstragenasa po polarnosti

Polarnost	Rastvarač	Viskoznost, mPa s	Površinski napon, (N/m)10 <sup>3</sup>	Dielektrična konstanta
Polarni	Voda	1	72,75	78,3
	Glicerin	1490	62,47	64,1
	Metanol	0,6	22,99	37,9
Slabo polarni	Etanol	1,2	22,03	25,2
	Aceton	0,32	23,70	20,7
	Propanol	2,23	22,90	19,7
	Butanol	2,95	24,60	17,7
Nepolarni	Dihloretnan	0,89	32,20	10,3
	Sirćetna kiselina	1,21	27,79	6,2
	Etilacetat	0,49	23,75	6,0
	Hloroform	0,57	27,14	4,7
	Dietiletar	0,23	16,49	4,2
	Benzol	0,65	28,87	2,3
	Ugljentetrahlorid	0,97	25,68	2,2
	Heksan	0,31	1,41	1,9

### 2.1.2. Ultrazvučna ekstrakcija

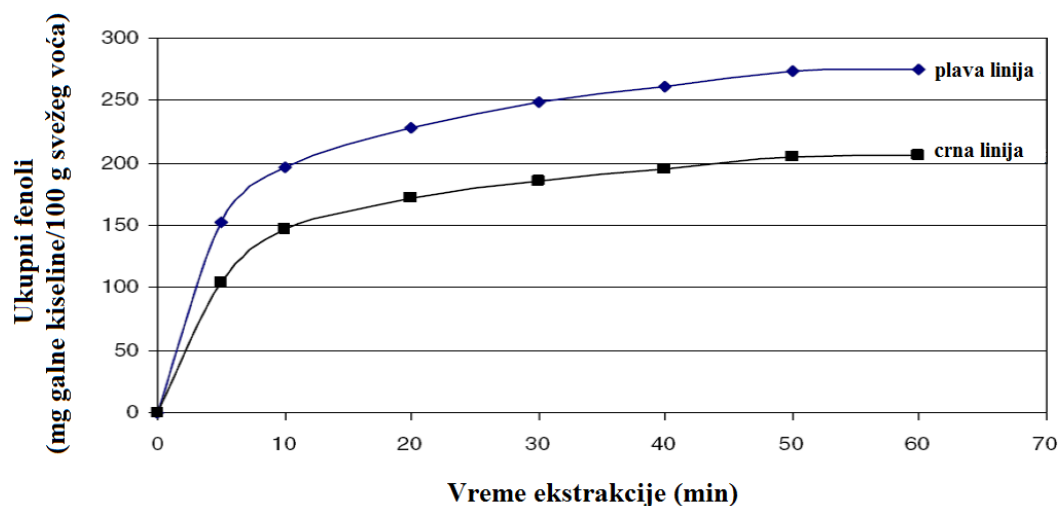
Ultrazvučna ekstrakcija (UAE – „*Ultrasound assisted extraction*“) jednostavan je postupak koji uključuje upotrebu ultrazvučnih talasa kako bi se ekstrahovao uzorak uronjen u organski rastvarač. Ultrazvuk je po definiciji zvuk iznad gornje granice čujnosti za normalno ljudsko uho. Ljudsko uho čuje frekvencije oscilacija između 20 Hz i 20 kHz. Ultrazvuk visoke snage, usled delovanja kavitacija na materijal, tačnije na zidove ćelija, omogućuje veće prodiranje rastvarača u materijal te takođe povećava prenos mase. Usled pucanja ćelijskih zidova dolazi do direktnog kontakta sa sadržajem ćelije (Vinatoru, 2001). Na taj način se ubrzava ekstrakcija i povećava njena efikasnost.

Primena ultrazvučne ekstrakcije u tehnologiji prerade hrane je od interesa zbog povećanja efikasnosti ekstrakcije određenih komponenti, kao što su polifenoli (Springett, 2001), antocijani (Springett, 2001), aromatična jedinjenja (Vinatoru, 2001), polisaharidi (Ebringerova i Hromadkova, 1997), i ulja (Chemat i sar., 2004), kada se ultrazvuk koristi kao

predtretman obrade namirnice. Upotrebom UAE se smanjenje količina rastvarača i skraćuje vreme ekstrakcije (Vilkhu i sar., 2008).

Novi postupci UAE omogućavaju modifikaciju biljnog materijala čime je poboljšana bioraspoloživost mikronutrijenata, zadržavajući njihov prirodni kvalitet (Vilkhu i sar., 2008).

U dostupnoj literaturi možemo uočiti prednosti primene ultrazvuka u ekstrakciji polifenola. U radu Kamran Khana i sar., (2010) standardna ekstrakcija (SE) fenola iz narandžine kore sprovedena je pri istim uslovima kao i UAE. Ukupne fenolne komponente ekstrahovane pomoću UAE u vremenu od 15 minuta su značajno više od onih dobijenih standardnom ekstrakcijom tokom 60 minuta. Zbog mehaničkog uticaja na ćelijske zidove biljnog uzorka, UAE omogućuje više ekstrakcione prinose u kraćem vremenskom periodu, čime se smanjuje utrošak energije. Nije dokazana degradacija flavona usled sonifikacije jer do razgradnje fenola dolazi pri višim frekvencijama od onih korišćenih za ovo ispitivanje (20 kHz). Prinos ekstrakcije je takode bitna funkcija ekstrakcije, te je za UAE 10,9 %, a za SE 8,6 %, a prednosti UAE nad SE možemo primetiti i u razlici prinosa ukupnih fenolnih komponenti iz Slike 2.1.



*Slika 2.1. Promene sadržaja ukupnih fenola (mg GAE/100 g svežeg voća) dobijenih ultrazvučnom ekstrakcijom (plava linija) i standardnom ekstrakcijom (crna linija) (Kamran Khan i sar., 2010)*



## 2.2. UV-VIS SPEKTROFOTOMETRIJA

Ultraljubičasta/vidljiva (UV/Vis) spektrofotometrija je spektroskopska metoda koja obuhvata proučavanje apsorpcije elektromagnetnog zračenja u oblasti između 200 i 800 nm. Kako veliki broj organskih jedinjenja ne apsorbuje u ovom delu spektra, to UV/Vis spektrofotometrija, u poređenju sa drugim strukturnim metodama (IC, NMR, MS), ima daleko manju primenu za strukturna određivanja i uglavnom se koristi kao komplementarna metoda za identifikaciju delova molekula koji apsorbuju u navedenoj oblasti, takozvanih hromofora. UV/Vis spektri dobijeni na ovaj način, pružaju veoma korisne informacije o strukturi ispitivanog jedinjenja. Na primer, ona je nezamenljiva pomoćna (a često i glavna) metoda za identifikaciju prirodnih konjugovanih jedinjenja, kao što su: biljni pigmenti (karotenoidi), poliacetileni, porfirini, flavonoidi, itd. Pored primene za identifikaciju organskih jedinjenja, UV/Vis spektrofotometrija se danas dosta primenjuje u kvantitativnoj analizi. Njene prednosti nad ostalim metodama su u izuzetno velikoj osetljivosti i jednostavnom rukovanju instrumentom.

UV/VIS spektrofotometrija je kvalitativna i kvantitativna metoda. Kvalitativna analiza zasniva se na činjenici da apsorpcioni spektar supstance zavisi od njenog sastava i strukture. Na osnovu zavisnosti apsorptiviteta talasne dužine ili vrednosti apsorptiviteta na određenoj talasnoj dužini moguće je identifikovati apsorbujuću supstancu.

Kvantitativna analiza zasnovana je na *Lambert-Beer*-ovom zakonu, koji kaže da je apsorbanca rastvora direktno proporcionalna koncentraciji apsorbujuće vrste i debljini sloja kroz koje zračenje prolazi:

$$A = \log(I_0 / I) = \varepsilon \cdot l \cdot c$$

A-apsorbancija

$I_0$ -intenzitet upadnog svetla

I-intenzitet propuštenog svetla

$\varepsilon$ -konstanta (molarna apsortivnost)

c-tražena koncentracija

l- debljina sloja

U rastvoru koji sadrži više komponenti koje apsorbiraju elektromagnetno zračenje, a koje međusobno ne reaguju, apsorbanca rastvora jednaka je zbiru pojedinačnih apsorbanca svih komponenti.

$$A = \sum A_i = A_1 + A_2 + A_3 + \dots + A_i$$

Molarna apsorptivnost,  $\epsilon$  (naziva se još i ekstinkcioni koeficijent) je karakteristika analizirajuće supstance i konstantna je vrednost za konstantne uslove snimanja (talasna dužina, temperatura i rastvarač). U praksi, vrednost molarne apsorptivnosti takođe zavisi i od karakteristika upotrebljenog aparata. Zbog toga se u kvantitativnoj analizi najčešće ne koristi već određena vrednost, nego se svaki put snima kalibraciona prava koristeći standardni rastvor ispitivane supstance.

Za kvantitativnu analizu je bitno da se merenja apsorbanca vrše sa najvećom mogućom tačnošću i osetljivošću. Da bi se to postiglo bitan je izbor talasne dužine na kojoj se merenje vrši. Ona mora da ispuni nekoliko uslova:

- merenjem mora da se postigne maksimalna osetljivost,
- mala promena talasne dužine ne sme da utiče na reproduktivnost,
- mora da važi *Lambert-Beer-ov zakon*.

U zavisnosti od uslova, merenje apsorbanca se može vršiti na:

talasnoj dužini gde je maksimalna apsorpcija,  $\lambda_{\max}$ ,

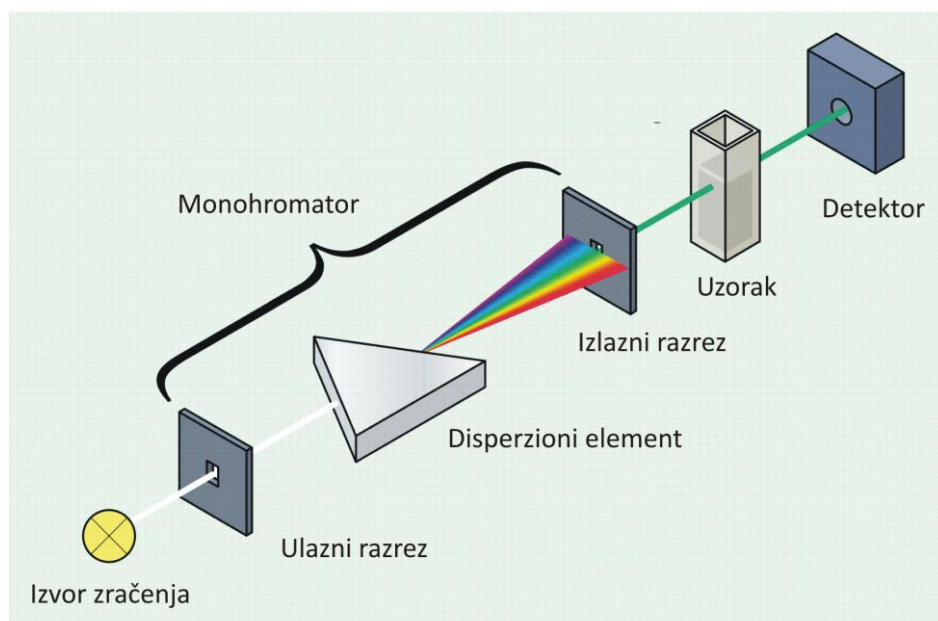
- na talasnoj dužini optimalne apsorbanca,  $\lambda_{\text{opt}}$ ,
- na talasnoj dužini izobestičke tačke,  $\lambda_{\text{izob}}$ .

*Lambert-Berr-ov zakon* ne važi kada:

- rastvorak postoji u više oblika koji su u međusobnoj ravnoteži,
- rastvorak i rastvarač grade asocijat,
- postoji termička ravnoteža između osnovnog i pobuđenog stanja,
- jedinjenja fluoresciraju ili se hemijski menjaju prilikom apsorpcije zračenja  
(*Todorović, 1997*).

U spektrofotometriji se koristi mnogo uži deo spektra zračenja koji se od izvora kontinualnog zračenja dobija pomoću monohromatora (optičke prizme ili difrakcione rešetke).

Spektrofotometar je uređaj za analizu spektra elektromagnetskog zračenja. Sastoji se od izvora zračenja, monohromatora i detektora. Monohromator menja talasnu dužinu zračenja koje propušta. Registrovanjem intenziteta zračenja koje je uzorak apsorbovao, propustio ili reflektovao u zavisnosti od talasne dužine nastaje spektar.



*Slika 2.2. Osnovni delovi UV-VIS spektrofotometra*

Najčešće se mere tečni uzorci, iako se mogu meriti i čvrsti i gasoviti uzorci. Uzorak je smešten u prozirnoj posudi (kiveti) koja ja najčešće širine 1 cm. Za vidljivi deo spektra kivete su staklene, a za UV deo spektra (staklo ne propušta UV zračenje) koriste se kvarcne kivete. Za vidljivi deo spektra najčešće se koristi volframova lampa, dok se za ultraljubičasti deo spektra koristi deuterijumska lampa.

Spektrofotometri se dele na jednozračne i dvozračne. Jednozračni spektrofotometri imaju jedan svetlostni put i jedan uzorak. Referentni uzorak (slepa proba) se mora analizirati posebno.

Dvoznačni spektrofotometri imaju dva svetlostna puta i istovremeno mogu primiti dva uzorka: mereni uzorak i referentni uzorak (slepu probu). Spektri se automatski oduzimaju jedan od drugoga, pa naknadna obrada spektra nije potrebna. Dvoznačni spektrofotometri u prostornom domenu koriste dva odvojena detektora zračenja, za dva svetlosna puta. Dvoznačni spektrofotometar u vremenskom domenu koristi jedan detektor zračenja, koji naizmenično detektuje intenzitet zračenja dva svetlosna puta - na taj način se eliminišu eventualne sporadične greške koje se mogu javiti usled promene napona u mreži, promene temperature lampe itd.

### **2.3. HPLC HROMATOGRAFIJA**

Visoko-efikasna tečna hromatografija (*high performance liquid chromatography* – HPLC) je metoda visoke tačnosti, preciznosti, brzine i efikasnosti, a veoma niskih granica detekcije. Ovo je čini pogodnom kako za kvalitativne tako i za kvantitativne analize, posebno uzoraka u kojima je koncentracija ispitivane supstance niska.

Separacione metode, među kojima vodeću ulogu ima hromatografija, zauzimaju značajano mesto u proučavanju uzoraka različitog porekla. Početak hromatografije vezuje se za radove ruskog botaničara Cveta u kojima se daje prikaz razdvajanja biljnih pigmenata hromatografijom na koloni. Samo pola veka kasnije, sredinom XX veka, radovima naučnika A.T. Džejmsa i A.J.P. Martina započeo je razvoj modernih hromatografskih metoda. Danas je hromatografija kao brza, jednostavna i efikasna metoda, prisutna u najvećem broju analitičkih laboratorija i nalazi primenu kako u kvalitativnoj tako i u kvantitativnoj analizi.

Hromatografske metode su separacione metode koje se zasnivaju na procesu raspodele molekula ili jona uzorka između mobilne (pokretne) i stacionarne (nepokretne) faze. Stacionarna faza, mobilna faza i analizirana supstanca su osnovni elementi hromatografskog sistema (*Milovanović, 1985*).

Postoji više podela hromatografskih metoda: prema prirodi mobilne faze na tečnu, gasnu i hromatografiju superkritičnih fluida; prema načinu smeštanja stacionarne faze na planarnu i kolonsku; prema mehanizmu razdvajanja na adsorpcionu, particionu, jonoizmenjivačku i gel-filtracionu hromatografiju. Takođe, hromatografske metode se, na osnovu polarnosti mobilne i stacionarne faze, mogu podeliti na normalno– (kod koje je stacionarna faza polarnija u odnosu na mobilnu) i reverzno–fazne (mobilna faza polarnija od

stacionarne). Izbor hromatografskog sistema, normalno- ili reverzno-faznog, zavisi prevashodno od karakteristika ispitivanih supstanci, njihove polarnosti, rastvorljivosti, jonizabilnosti, veličine njihovih molekula.

U cilju povećanja efikasnosti i smanjenja granica detekcije, hromatografija se kombinuje i dopunjava drugim metodama: masenom, UV, IC spektroskopijom, a moguće je i međusobno kombinovati različite hromatografske metode. Među hromatografskim metodama posebno značajno mesto zauzima moderna, osetljiva, tačna i precizna visoko-efikasna tečna hromatografija. Visoko-efikasna tečna hromatografija, HPLC je danas najšire primenjavana hromatografska metoda u kvalitativnim, a posebno u kvantitativnim analizama uzoraka različitog porekla.

Separacioni procesi u hromatografskoj koloni objašnjeni su kroz dve teorije. Prema fizičkoj teoriji „koncepta teorijskih podova“, hromatografska kolona na kojoj se vrši razdvajanje sastoji se od serije zamišljenih slojeva, postavljenih upravno na pravac kretanja zone. U svakom od ovih slojeva uspostavlja se ravnotežna raspodela ispitivane supstance između mobilne i stacionarne faze. Dužina jednog ovakvog sloja odgovara visini teorijskog platoa, odnosno poda. Po ovoj teoriji, broj i visina teorijskih podova predstavljaju meru efikasnosti kolone. Međutim, ova teorija ne daje realno objašnjenje procesa na koloni i ne vodi računa o svim fizičkim procesima koji se na njoj odigravaju. Da bi se izbegli nedostaci prethodne teorije, razvijena je kinetička teorija u kojoj se ističe značaj brzine kojom se pod hromatografskim uslovima može uspostaviti ravnoteža kao i brzine difuzije u mobilnoj i stacionarnoj fazi. Ova teorija razmatra sve mehanizme koji doprinose širenju zone i dovodi u vezu visinu ekvivalentnu teorijskom podu i promenljive od značaja za širenje hromatografske zone.

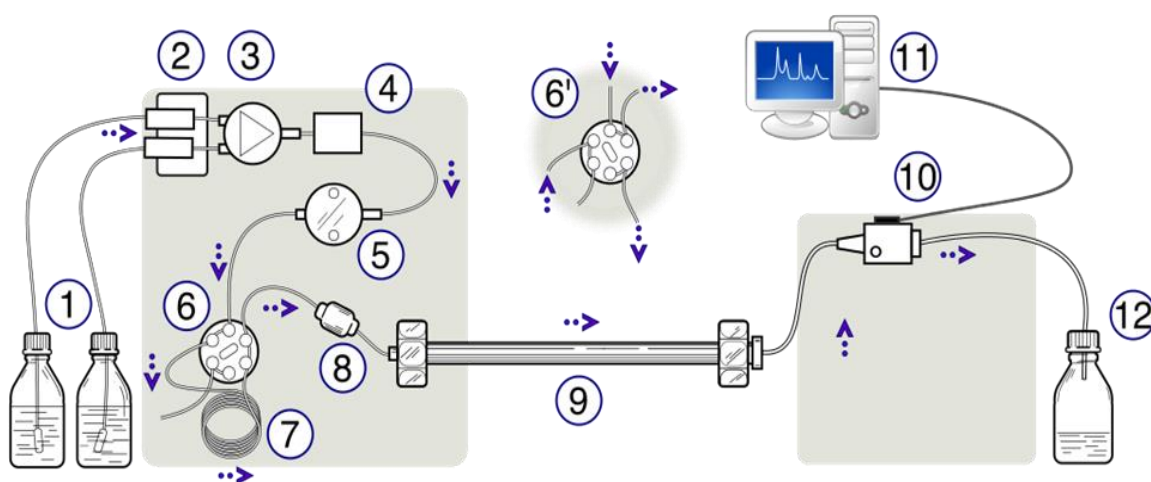
Osnovni cilj moderne tečne hromatografije jeste visoka efikasnost odvajanja u dovoljno kratkom vremenu. Visoko-efikasna tečna hromatografija postiže ovaj cilj primenom kolona malog prečnika, kompaktno i uniformno punjenih česticama malog prečnika, kao i pumpi koje održavaju povišeni pritisak i time obezbeđuju odgovarajući protok mobilne faze (Milovanović, 1985).

Visoko-efikasni tečni hromatograf (Slika 1.) sastoji se od:

- pumpe,
- injektora (sistem za unošenje uzorka),

- hromatografske kolone,
- termostata,
- detektora,
- sistema za prikupljanje i obradu podataka.

Kolone se izrađuju od nerđajućeg čelika i u njih se pakuju odgovarajuće stacionarne faze. Mobilna faza može biti smeša dva ili više rastvarača u koje se može dodati odgovarajući pufer i druge pomoćne supstance koje utiču na brzinu i efikasnost razdvajanja i na kvalitet zone. Postoje dva tipa eluiranja: izokratsko, kod kojeg je sastav mobilne faze konstantan tokom analize, i gradijentno, kod kojeg se sastav mobilne faze (odnos komponenata) menja tokom eluiranja.



**Slika 2.3.** Šematski prikaz uređaja za HPLC: (1) rezervoar mobilne faze, (2) degasifikator mobilne faze, (3) gradientni ventil, (4) ventil za doziranje mobilne faze, (5) pumpa, (6) ulazni ventil za nadzor, (6) izlazni ventil za nadzor, (7) petlja za injektiranje uzorka, (8) filter, (9) kolona, (10) detektor, (11) računar, (12) kolektor otpada

Gradijentno eluiranje se primenjuje kada treba razdvojiti supstance značajno različite polarnosti u cilju skraćanja vremena analize. Registrovanje ispitivanih supstanci vrši se detektorom koji na izlazu daje signal proporcionalan koncentraciji analita. Upotrebljavaju se detektori visoke osetljivosti, najčešće UV/Vis i fluorescentni, a u novije vreme se sve više

koriste maseni, infracrveni, atomsko-apsorpcioni, elektrohemijski detektori (Lough i Wainer, 1995).

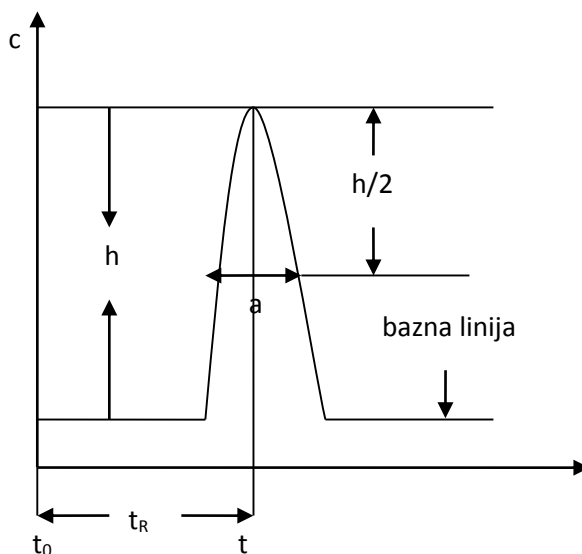
### **2.3.1. Kvalitativna HPLC analiza**

Dobijen hromatogram sa pikovima koji predstavljaju izdvojene komponente ukazuje samo na broj komponenti u nekom uzorku, odnosno smeši, ali ništa ne kazuje o vrsti supstance. Kod kvalitativne analize identifikacija se vrši poređenjem standarda sa nepoznatom komponentom ispitivanog uzorka. Upoređuju se vreme zadržavanja standarda i izdvojene komponente u hromatografskoj koloni. To jedino i ima fizički smisao jer se vrši merenje vremena od ulaska uzorka u kolonu do dostizanja maksimuma pika izdvojene komponente. Vreme zadržavanja ili kako se u literaturi naziva *retenciono vreme* (lat. *retentio* – zadržavanje) meri se od trenutka kada se uzorak injektuje u kolonu do izlaska, jedne ili više komponenti iz kolone.

Kada se identifikuje komponenta tada se metodom standardnog dodatka, odnosno dodatkom određene količine standarda u ispitivanom uzorku, sa apsolutnom sigurnošću identifikuje određena komponenta pod uslovom da se standardni dodatak i izdvojena komponenta po retencionom vremenu potpuno poklapaju. To se utvrđuje na osnovu povećanja visine pika izdvojene komponente.

### **2.3.2. Kvantitativna HPLC analiza**

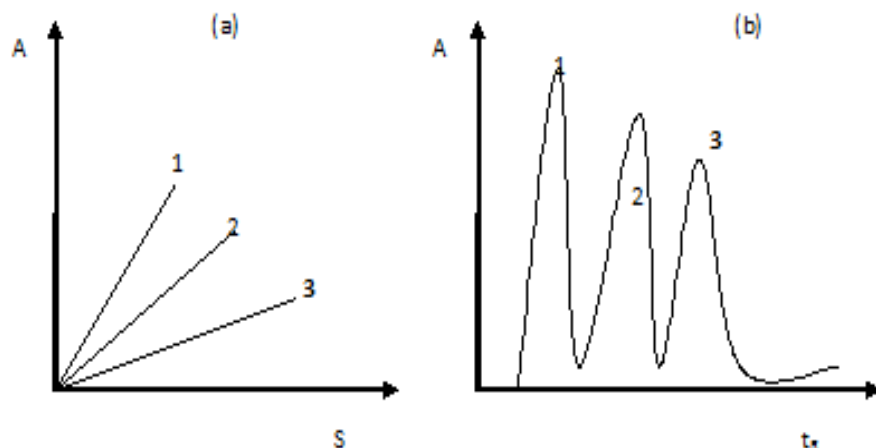
Visina pika, ili tačnije površina ispod pika, izdvojene komponente direktno je proporcionalna koncentraciji (Slika 8.). Kada se radi o simetričnom piku tada se najčešće koristi metoda poluvisine. Naime, kada se visina pika  $h$  pomnoži sa njegovom širinom  $a$  na poluvisini  $h/2$  dobija se vrednost koja približno predstavlja 94% površine ispod pika. Ako se ista metoda koristi i za standard i za uzorak greška od 6% se poništava, a dobijeni rezultati potpuno zadovoljavaju.



**Slika 2.4.** Kvantitativna HPLC analiza

Treba voditi računa da izračunate površine pikova predstavljaju meru relativnih koncentracija komponenti u smeši. Ukoliko se žele apsolutne koncentracije komponenata potrebno je napraviti kalibracioni dijagram koji će povezati površine pikova sa apsorbcijama odgovarajućih komponenti. Osnov za povezivanje je kalibracioni dijagram  $A = f(S)$ , prikazan na Slici 9, gde je  $A$  – apsorbcija, a  $S$  – integrisana površina pikova. Apsorbance  $A$  su određene za niz standardnih koncentracija rastvora supstanci, koje se analiziraju HPLC-om. Kada se nakon izvršene HPLC analize odredi integrisana površina za dati pik, sa kalibracionog dijagrama pročita se odgovarajuća vrednost apsorbcije  $A$  na ordinati, a odatle se preko *Beer*-ovog zakona ( $A = abc$ ) izračuna i tačna koncentracija.





**Slika 2.5.** Kalibracioni dijagram (a) i hromatogram (b) za tri komponente date smeše, gde je  $A$  – apsorbancija,  $S$  – površina pika,  $t_R$  – retenciono vreme

Nekada je potrebno da pored određivanja tačne koncentracije komponenti u uzorku i njihova kvantitativna kolekcija (skupljanje). Tada se koriste preparativne kolone, znatno šireg prečnika (i do 1cm) posebno konstruisane za visoki pritisak. Kolekcije se vrše prostim skupljanjem odgovarajućih frakcija mobilne faze koje sadrže datu komponentu. Početak i kraj kolekcije se vezuje za momente pojavljivanja i nestajanja odgovarajućeg pika na hromatogramu (Mišović, 1981).

## 2.4. OPTIČKA EMISIONA SPEKTROMETRIJA SA INDUKTIVNO KUPLOVANOM PLAZMOM, ICP-OES

Instrument ICP-OES (*Inductively coupled plasma - atomic emission spectrometry*) je konstruisao *Stanley Greenfield* (1964. godine) i postao je važan analitički alat za determinaciju od sedamdesetpet do devedeset elemenata iz različitih matriksa.

ICP-OES je optička emisiona spektrometrija sa induktivno kuplovanom plazmom. Zasniva na merenju intenziteta emitovane svetlosti. Zahteva veoma male količine uzorka i moguće je detektovati veoma niske koncentracije elemenata:

- u *parts per million* (ppm) = mg/L =  $\mu\text{g}/\text{cm}^3$ ,
- u *parts per billion* (ppb) =  $\mu\text{g}/\text{L}$  =  $\text{ng}/\text{cm}^3$ .

*Princip:*

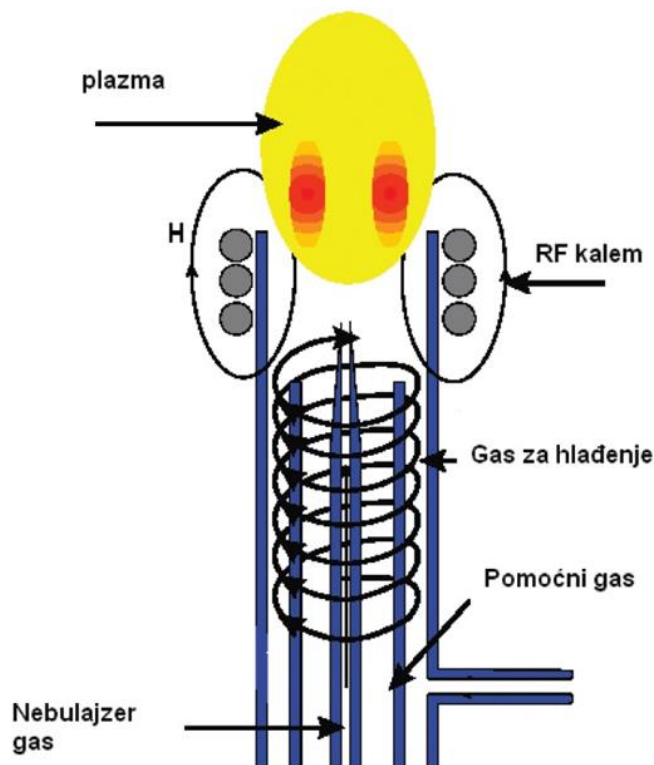
Atomi iz uzorka primaju energiju plazme i prelaze u pobuđeno stanje. Povratkom u osnovno stanje emituju elektromagnetno zračenje tačno određene talasne dužine, karakteristične za dati element. Intenzitet emitovane svetlosti je proporcionalan broju pobuđenih atoma odnosno koncentraciji elementa.

Tečni uzorak se pomoću peristaltičke pumpe upumpava u nebulajzer koji rastvor pretvara u aerosol. Sprej komora uklanja velike kapi, a male kapi, koje čine svega 1-5% od ukupnog rastvora, bivaju nošene strujom nebulajzer gasa u ICP Torch odnosno plazma plamenik. Plazma plamenik se sastoji od tri koncentrične kvarcne cevi (Slika 2.6.):

- kroz unutrašnju cev struju nebulajzer gas, struja argona (Ar) koja ima laminarni protok i koja injektuje uzorak u plazmu,
- kroz srednju cev struji pomoćni gas, struja Ar koja ima tangencijalni protok i služi za hlađenje te cevi,
- kroz spoljašnju cev struji gas za hlađenje, tangencijalna struja Ar koja hladi zidove kvarcne cevi, stabilizuje i centrira plazmu.

Na vrhu cevi nalazi se vodom hlađeni indukcijski kalem koji napaja radiofrekventni generator (*Manning i Grow, 1997*).

Plazma je četvrto agregatno stanje, stanje visoko jonizovanog gasa. Argonska plazma je elektroprovodljiv, visokojonizovan gas koji sadrži veliku količinu jona i elektrona argona.



Slika 2.6. Plazma plamenik

Ar je plemeniti, hemijski inertan gas koji ne reaguje sa jonima iz uzorka, ima visoku energiju jonizacije, emituje jednostavne spektre i može da pobuđuje većinu elemenata periodnog sistema. Plazma se uključuje kratkotrajnim uključivanjem Teslinog pražnjenja, a zatim dok prolazi kroz polje oko indukcionog kalema koje proizvodi RF generator. Uloga polja jeste da jonizuje gas i da održava plazmu stabilnom. Atomi i elektroni iz uzorka u sudaru sa jonima i elektronima plazme primaju energiju i prelaze u pobuđeno stanje. Vraćanjem u osnovno stanje emituju energiju u obliku karakterističnog linijskog spektra. Temperatura plazme varira od 5000-8000 K pa se zbog visokih temperatura u ICP izvorima dobijaju veoma složeni spektri koji se potom analiziraju pomoću spektrometra (*Montaser i Golightly, 1998*).

Spektrometar je optički sistem visoke rezolucije koji pomoću disperzionog elementa (difrakcione rešetke i kvarcne prizme) propušta svetlosni zrak na nekoliko talasnih dužina istovremeno. Kako se sastoji od velikog broja izlaznih razreza ovaj sistem ima veliku moć

rezolucije, što je posebna prednost u odnosu na atomsku apsorpcionu, gde se koriste izvori zračenja specifični za dati element i gde se širina razreza monohromatora podešava tako da propusti samo jednu, rezonantnu talasnu dužinu.

CID (*Charge Injection Devise*) detektor registruje stvorenu fotostruju čija je jačina srazmerna intenzitetu emitovane svetlosti odnosno koncentraciji elementa u uzorku. Kvantitativna analiza se vrši pomoću metode kalibracione krive gde se nepoznata koncentracija elementa izračunava poređenjem intenziteta emisije ispitivanog uzorka sa standardima. Izbor radne talasne duzine zavisi od prirode matriksa uzorka i mogućih interferencija na izabranim talasnim dužinama. Zbog minimiziranja uticaja matriksa i veće osetljivosti metode kada je reč o uzorcima koji sadrže jako niske koncentracije elemenata koje su ispod limita kvantifikacije metode kalibracione krive neophodno je kreirati metodu dodatog standarda. Pomoću ove metode nepoznata koncentracija elementa se izračunava na osnovu nagiba prave koja koreliše merene intenzitete sa koncentracijama dodatim u uzorke (*Stalović i Dorđević, 2013*).

Tačnost metode je istog reda veličine kao i RSD i kreće se od 1-10% u zavisnosti od koncentracije određivanog elementa.

Limit detekcije (LOD) predstavlja najniži sadržaj ispitivanog analita koji može biti određen sa opravdanom statističkom sigurnošću, primenjenom analitičkom metodom. LOD je brojčano jednak trostrukoj vrednosti standardne devijacije od dvadeset reprezentativnih slepih proba. Alternativni način određivanja LOD (*Miller i Miller, 2005*) je preko jednačine:

$$\text{LOD}=3 S_{y/x}/k$$

Takođe, limit kvantifikacije (LOQ), koji predstavlja minimalni sadržaj analita u ispitivanom uzorku, koji kvantitativno može biti određen sa opravdanom statističkom sigurnošću (primenjenom analitičkom metodom), može se izračunati kao:

$$\text{LOD}=10 S_{y/x}/k$$

gde je  $S_{x/y}$  standardno odstupanje odziva za određenu koncentraciju analita, dok je  $k$  nagib pravca iz jednačine prave.

## 2.5. METALNI JONI

Posle gasovitih otrova metali su na drugom mestu kao najznačajniji uzročnici profesionalnih bolesti. Razlikuju se od drugih toksičnih supstanci po tome što ih *čovek niti ih je stvorio niti ih može uništiti*. Samo sedamnaest elemenata, od ukupnog broja elemenata periodnog sistema su nemetali, sedam su metaloidi koji čine prelazni oblik između metala i nemetala, a ostali (više od osamdeset elemenata) pripadaju grupi metala. Od svih metala, teški metali su metali čija je gustina veća od  $5 \text{ g/cm}^3$ . Nema jedinstvene definicije teških metala, neki autori kao graničnu (*cut-off*) vrednost uzimaju i gustinu veću od  $4 \text{ g/cm}^3$  (Duffus, 2002).

Prema biološkoj funkciji koju imaju u organizmu dele se na:

1. *Esencijalne metale* (Cu, Zn, Fe, Mn, Cr), neophodne za život, čiji potpuni nedostatak ili smanjeno unošenje može dovesti do ozbiljnih poremećaja u funkcionisanju organizma pa čak i smrti. Imaju vrlo važne uloge u organizmu: strukturna su komponenta enzima i deluju kao enzimski aktivatori. Prisutni su u veoma niskim koncentracijama u organizmu zbog čega se nazivaju elementima u tragu ili u ultratragu. Samo u tim, niskim koncentracijama, ispoljavaju biološke funkcije a ako su prisutni u većim koncentracijama mogu delovati toksično.

2. *Neesencijalne metale* (Pb, Al, Cd, Hg, As), nisu biogeni tj. nemaju nikakve biološke funkcije u organizmu, već deluju isključivo toksično (Majkić, 2006). Široka rasprostranjenost teških metala u životnoj i radnoj sredini predstavlja ozbiljan zdravstveni i ekološki problem jer su toksični, nisu biorazgradivi, imaju dugo poluvreme života u zemljištu i akumuliraju se u živi sistem kroz aktivni lanac ishrane. Teški metali se prirodno nalaze u zemljištu. U zemljište dospevaju trošenjem matične stene iz koje su nastali ili mogu dospeti antropogeno, kao posledica ljudske aktivnosti (prvenstveno industrije, sagorevanjem fosilnih goriva, primenom agrohemijskih sredstava, atmosferskom depozicijom), što za posledicu može imati trajnu kontaminaciju zemljišta i podzemnih i površinskih voda. U vodi mogu graditi teško rastvorne karbonate, sulfate i sulfite koji se talože na dnu vodenih površina gde dolazi do njihove akumulacije. Biljke preuzimaju teške metale iz voda, zemljišta, veštačkih đubriva, pesticida. Korišćenjem biljaka za ishranu, životinje i ljudi unose teške metale u svoj organizam i time započinju biološki procesi: bioakumulacija i ugrađivanje u lanac ishrane.

Za toksične metale su prvenstveno vezana profesionalna, hronična trovanja do kojih dolazi usled izloženosti parama ili česticama metala u toku različitih industrijskih procesa, pa su glavni putevi unosa metalnih otrova u organizam respiratorni trakt i koža kod profesionalno eksponiranih osoba i respiratorni i digestivni trakt za opštu populaciju. Za resorpciju teških metala iz vazduha najznačajniji je unos preko respiratornog trakta gde se teški metali inhalacijom unose u obliku aerosola ili pare u pluća odakle se apsorbuju u cirkulaciju i vezuju za proteine plazme, koji ih distribuiraju do ciljnih organa gde ispoljavaju toksične efekte. Resorpcija preko kože odvija se prolaskom kroz epidermis, folikul korena dlake ili kanale lojnih žlezda. Uglavnom se teški metali deponuju u ciljnom organu. Za neke metale je karakteristično da se akumuliraju u organizmu (kadmijum u bubrezima ima biološki poluživot 10-30 godina a olovo u kostima 10 godina). Najveći procenat resorbovanih metala izlučuje se urinom u nepromenjenom obliku. Metali su metabolički inertne supstance, u organizmu ne podležu transformaciji osim metaloida (As, Sb i Se), pa se u urinu mogu naći njihova organska i neorganska jedinjenja (*Jovanović, 2012*).

Toksičnost metala je prvenstveno rezultat njihove interakcije sa proteinima, lipidima, nukleinskim kiselinama, vezuju se za slobodnu amino, hidroksilnu, karboksilnu, tiolnu funkcionalnu grupu i time blokiraju funkcije biološki aktivnih jedinjenja. Svi metali deluju na jonske kanale. Neki metali pospešuju nastanak slobodnih radikala i time izazivaju oksidativni stres. Kao protoplazmatski otrovi deluju na strukture unutar ćelija, vezuju se za sulfhidrilne grupe intracelularnih proteina i inaktiviraju njihovu funkciju. Neki metali ispoljavaju genotoksično a neki kancerogeno dejstvo, dok pojedini mogu izazvati i reakcije preosetljivosti (*Bulat 2010/11*).

## 2.6. FENOLNA JEDINJENJA I ANTIOKSIDANTI

Epidemiološke studije su pokazale jasnu pozitivnu povezanost između unosa voća i povrća i smanjenog broja srčanih bolesti, tumora i drugih degenerativnih bolesti kao i usporavanja starenja (*Skupien i Oszmainski, 2004*). Sa povećanjem eksperimentalnih, kliničkih i epidemioloških podataka koji pokazuju pozitivne efekte antioksidanasa, raste i njihova važnost i uloga. Osim nutritivnih i senzorskih svojstava, hrana a posebno neki njeni sastojci imaju zaštitnu ulogu. Posebno je to slučaj s voćem, koje sadrži prirodne antioksidanse (*Thomas, 1995*).

Antioksidansi su jedinjenja koja usporavaju procese oksidacije u organizmu. Vitamini i polifenoli su poznati kao prehrambene komponente u voću i povrću koje poseduju antioksidativnu aktivnost (*Skupien i Oszmainski, 2004*). Fenolna jedinjenja, kao npr. vitamin E i flavonoidi su tipični antioksidansi (*Shi i sar., 2001*). Uz prirodne antioksidanse razvijeni su i sintetički antioksidansi koji se u praksi koriste kao aditivi, suplementi i lekovi, ali je opšte prihvaćena činjenica da su prirodni antioksidansi vredniji, efikasniji i sigurniji od sintetičkih (*Yanishlieva-Maslarova i Heinonen, 2001*).

Polifenoli uključuju više od osam hiljada jedinjenja različite hemijske strukture, od jednostavnih hidrosimetilnih kiselina i antocijana (biljni pigmenti) do složenijih flavonoida i tanina čije je osnovno obeležje prisutnost jednog ili više hidroksilovanih benzenovih prstenova.

Polifenoli su rastvorljivi u vodi. Građeni su od dvadest do šesnaest fenolnih grupa sa pet do sedam aromatičnih prstenova. Daju uobičajene fenolne reakcije kao što su stvaranje intenzivno plavo-crnog kompleksa na tretman sa gvožđe (III) solima. Imaju izražena posebna svojstva kao što su sposobnost da talože alkaloidne i proteine. Mnogi polifenoli se nalaze u obliku glikozida.

S obzirom na veliku raznovrsnost biljnih fenola, njihova klasifikacija je veoma kompleksna, pa se i u literaturi često sreću različite klasifikacije ovih jedinjenja, uglavnom prema hemijskoj strukturi i biosintetskom poreklu. U Tabeli 2.2. dat je pregled strukturnih klasa fenola od prostih do najkompleksnijih.

Tabela 2.2. Glavne strukturne klase biljnih fenola u biljkama)

Broj C-atoma	Osnovni skelet	Klasa	Jedinjenje
6	C <sub>6</sub>	Prosti fenoli, Benzohinoni	Katehol, hidrohionon, rezorcinol
7	C <sub>6</sub> - C <sub>1</sub>	Fenolne kiseline	p-hidroksibenzoeva kiselina
8	C <sub>6</sub> - C <sub>2</sub>	Fenilsirćetne kiseline	p-hidroksifenilsirćetna
9	C <sub>6</sub> - C <sub>3</sub>	Cimetne kiseline	Kafena kiselina, ferulna kiselina
		Fenilpropeni	Eugenol, miristicin
		Kumarini	Umbeliferon, skopoli
		Hromoni	Eugenin
10	C <sub>6</sub> - C <sub>4</sub>	Naftohinoni	Juglon
13	C <sub>6</sub> - C <sub>1</sub> - C <sub>6</sub>	Hantoni	Mangostin, magniferin
14	C <sub>6</sub> - C <sub>2</sub> - C <sub>6</sub>	Stilbeni	Rezveratrol
		Antrahinoni	Apigenin, luteolin, sinensitin, nobiletin, izosinensitin, tangeretin, diosmin
15	C <sub>6</sub> - C <sub>3</sub> - C <sub>6</sub>	Flavanoli	Dihidrokvarcetin i dihidrokamferol glikozidi
		Flavanoni	Hesperidin, naringenin
		Flavanon glikozidi	Hesperidin, neohesperidin, narirutin, naringenin, eriocitrin
		Antocijanini	Glikozidi peralgonidina, peonidina, delfinidina, petunidina, cijanidina
		Katehini	Katehin, epikatehin, galokatehin, epigalokatehin
		Halkoni	Floridzin, arbutin, halkonarigenin
18	(C <sub>6</sub> - C <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	Lignani, neolignani	Pinorezinol
30	(C <sub>6</sub> - C <sub>3</sub> - C <sub>6</sub> ) <sub>2</sub>	Biflavonoidi	Agatisflavon, amentoflavon

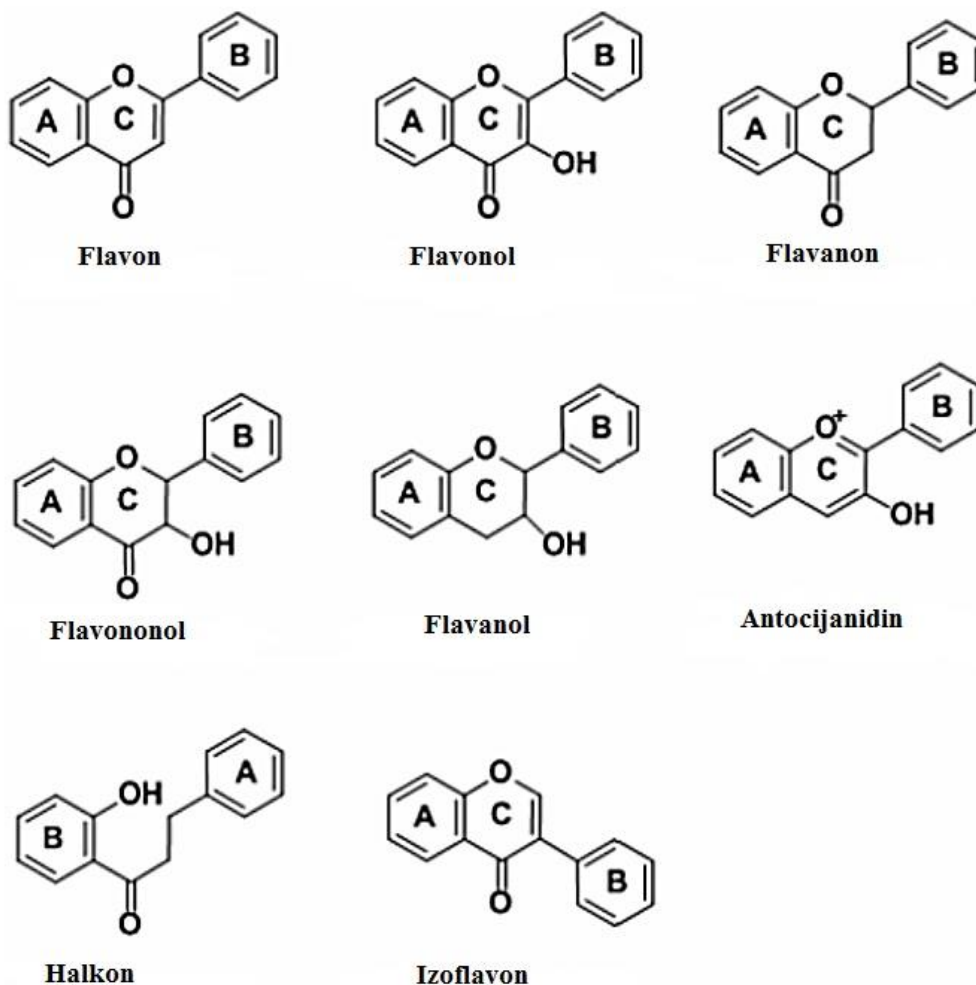


Polifenoli su sekundarni metaboliti biljaka u kojima imaju višestruku ulogu:

- senzorska svojstva kao što su boja, aroma ili ukus,
- utiču na otpornost biljke prema bolestima i mikroorganizmima,
- neki polifenoli indirektno utiču na rast biljke i
- štite osetljive ćelijske delove od štetnog zračenja (apsorpcija UV zračenja).

Kao značajnije aktivne komponente u strukturi polifenola su fenolne kiseline i flavonoidi. Fenolne kiseline se nalaze isključivo u spoljašnjim slojevima biljaka. Mogu se podeliti u dve grupe: kiseline koje su derivati benzojeve kiseline i one koje su derivati cimetine kiseline (*Robbins, 2003*). Najzastupljeniji derivati hidroksibenzojeve kiseline su vanilinska, galna, elaginska, protokatehinska, siringinska i gentizinska kiselina. Derivati cimetine kiseline su zastupljeniji u prirodi i obuhvataju kumarnu, kafenu, ružmarinsku, ferulnu, sinapinsku i hlorogenu kiselinu. One stupaju u kovalentnu vezu s policikličnim aromatičnim ugljenohidratima i time potiskuju njihovo kancerogeno delovanje. U ogleđima na životinjama fenolne kiseline blokiraju hemijski indukovani nastanak raka jednjaka, želuca, kože i pluća. U polifenole spadaju prethodno spomenuti flavonoidi, katehini, kao i rezveratrol i antocijanidini. Uticaj polifenola na zdravlje čoveka zavisi od konzumirane količine i njihove biodostupnosti. Za rezveratrol je eksperimentalno dokazan učinak usporavanja zgrušnjavanja krvnih pločica.

Najvažnija i najveća grupa polifenola su flavonoidi koji se pojavljuju u skoro svim delovima biljaka. Flavonoidi su ne ketonski polihidroksi polifenolna jedinjenja. Nalaze se najviše u kori voća i povrća. Poznato je oko 4000 - 5000 raznih vrsta flavonoida (*Milić i sar., 2000*). Struktura flavonoida temelji se na flavonoidnom jezgru koje se sastoji od tri fenolna prstena (A, B i C prsten). Benzenski prsten A kondenzovan je s tročlanim alifatičnim nizom koji zajedno sa kiseonikom gradi šestočlani prsten C, a na poziciji 2 prstena C nalazi se benzenski prsten B. Za flavonoide koji imaju vezanu karbonilnu grupu na C-4 atomu prstena C često se koristi izraz 4-okso-flavonoidi. Flavonoidi su podeljeni na nekoliko podgrupa: flavoni, flavonoli, flavanoni, izoflavoni, flavanonoli, flavani, flavanoli, halkoni, dihidrohalkoni, flavan-3,4-dioli i antocijani. Ovu raznovrsnost uglavnom kontrolišu geni biljke, ali i zrelost biljke, klima i način uzgajanja. U prirodi se flavonoidi nalaze uglavnom u obliku glikozida, tj. povezani su s različitim molekulima šećera.



Slika 2.7. Podela flavonoida

Antocijani (grčki: *anthos*-cveće, *kyanos*-plav) biljni pigmenti rastvorljivi u vodi koji cveću, voću i povrću daju plavu, purpurnu i crvenu boju (Milić i sar., 2000). Antocijani su glikozidi antocijanidina s karakterističnom kemijskom strukturom flavonoida C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>. Postoji šest osnovnih antocijanidina: cijanidin, delfinidin, pelargonidin, peonidin, petunidin i malvidin, a vezanjem šećera na ove osnovne antocijanidine nastaju molekuli antocijanina. Različite hemijske strukture antocijanina pokazuju različitu boju u zavisnosti od pH sredine. Pri pH 1 prevladava crveno obojenje, između pH 2 i 4 prevladava plava boja, kod pH 5 i 6 bezbojno, a pri pH vrednostima višim od 7, molekul antocijanina se raspada. Mnoge in vivo studije pokazuju da unos flavonoida smanjuje rizik nastanka raka želuca, debelog crieva i dojke. Istraživanja pokazuju da flavonoidi maskiraju mesta vezivanja kancerogenih agenasa

na DNK, štiteći na taj način nasledni materijal ćelije od mogućeg uticaja kancerogenih agenasa.

Flavonoidi pokazuju sledeća delovanja: antiinflamatorno, antimikrobno, antifungalno, diuretičko, antihepatotoksično, antihipertenzivno, antiaritmično, antikoagulirajuće, spazmolitičko, kardiotonično, antialergijsko, antiulkusno, analgetsko, antimalarično, hipoglihemijsko i antioksidativno (*Eastwood, 1999; Hollman, 1999*).

Slobodni radikali su reakcione intermedijerne čestice koje imaju barem jedan nesporeni elektron, uglavnom nemaju naelektrisanje dok u hemijskim reakcijama reaguju sa neutralnim molekulima ili drugim radikalima. Nesporeni elektron, odnosno radikalski centar, može se stvarati i postojati na  $sp^3$  i  $sp^2$  hibridizovanim ugljenikovim atomima (alkil, vinil, aril radikali), zatim na kiseoniku (alkoksi radikali), azotu (amino, amido radikali), sumporu, fosforu i mnogim drugim elementima (*Čeković, 2000*).

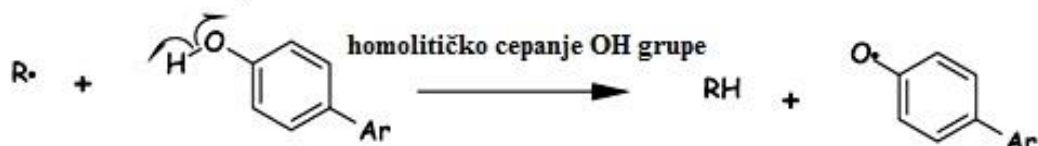
Prisustvo nesporenog elektrona čini slobodni radikal jakim oksidansom i visoko reaktivnim zato što teži da se spari sa drugim elektronom i na taj način oštećuje ćelije lančanom reakcijom (molekul koji je ostao bez elektrona i sam postaje slobodan radikal). Slobodni radikali mogu oštetiti ćelijsku membranu, masne kiseline, holesterol, proteine i DNK i imaju ulogu u patogenezi mnogih hroničnih degenerativnih bolesti. Oksidacija ćelijskih proteina i membrana može izazvati oštećenje tkiva kod mnogih bolesti kao što su: reumatoidni artritis, zapaljenska crevna oboljenja, Parkinsonova bolest. Oksidativno oštećenje DNK može doprineti nastanku karcinoma. Slobodni radikali imaju važnu ulogu i u procesu starenja organizma. Oksidativni stres predstavlja dakle poremećaj ravnoteže između prooksidanasa i antioksidanasa u korist prooksidanasa usled čega dolazi do oštećenja vitalnih ćelijskih makromolekula (*Sies, 1991*).

Kod zdravih aerobnih organizama, produkcija slobodnoradikalskih vrsta je u stalnoj ravnoteži sa antioksidantnim odbrambenim sistemom. Iako slobodni radikali imaju značajnu ulogu u nizu fizioloških procesa, poremećaj balansa između ovih reaktivnih vrsta i antioksidantnog sistema može da dovede do ozbiljnog narušavanja normalne homeostaze ćelije. Naime, narušavanje oksido-reduktivne ravnoteže usled povišenog nivoa slobodnih radikala, uz visok stepen njihove neselektivne reaktivnosti i nestabilnosti, čiji uzrok su nesporeni elektroni, dovodi do stanja oksidativnog stresa. Kao posledica oksidativnog stresa javljaju se tzv. oksidativna oštećenja, koja se izražavaju kroz različita patološka stanja.

Danas postoji veliki broj definicija antioksidanasa različitih autora, ali ni jedna nije opšte prihvaćena. U hemijskom smislu preciznu definiciju antioksidanasa dao je Britton 1995. godine. On je antioksidanse definisao kao molekule koji uklanjaju slobodne radikale iz sistema. Oni treba da uklanjaju radikale bilo reagujući sa njima stvarajući manje štetne proizvode, bilo prekidajući lančanu reakciju izazvanu slobodnim radikalima. Danas je poznat veliki broj jedinjenja za koje se pokazalo da imaju antioksidativna svojstva. Na osnovu hemijske strukture antioksidansi se mogu klasifikovati na enzimske i neenzimske. U enzimске antioksidanse spadaju: superoksid dismutaza, koja razgrađuje superoksidni radikal, katalaza i glutation peroksidaza, koje uklanjaju vodonik peroksid. Spisak neenzimskih antioksidanasa je znatno duži i tu spadaju: minerali (Se, Cu, Zn i Mn, kao kofaktori antioksidativnih enzima), vitamini C i E, karotenoidi (prvenstveno  $\beta$ -karoten, luten i lutein) koenzim Q10, cistein, glutation, polifenoli, albumin.

Antioksidativna aktivnost fenolnih jedinjenja se zasniva na direktnoj reakciji fenola i slobodnih radikala, a ovaj proces se na molekularnom nivou može odvijati na tri načina (*Wright i sar., 2001*):

### 1. Prenos vodonikovog atoma

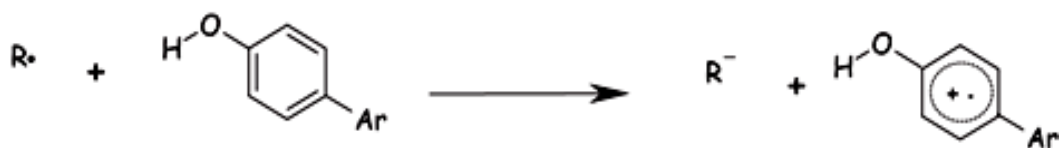


**Slika 2.8.** Mehanizam dejstva fenolnih jedinjenja u reakciji uklanjanju slobodnih radikala.

Prenos vodonikovog atoma sa fenolnog jedinjenja na slobodni radikal. Prvi način uklanjanja slobodnih radikala ( $R\cdot$ ) se zasniva na homolitičkom cepanju O-H grupe i prenosu vodonikovog atoma sa fenolnog jedinjenja ( $\text{Ar-OH}$ ) na slobodni radikal. U opisanoj reakciji ponovo nastaje radikal ( $\text{ArO}\cdot$ ) koji je manje reaktivan, zbog sposobnosti nastalog fenol radikala da stabilizuje i delokalizuje nesporeni elektron (Slika 9).

Drugi mehanizam se zasniva na prenosu jednog elektrona sa fenolnog jedinjenja, pri čemu nastaju katjonski radikal ( $\text{ArOH}^+$ ) i anjon ( $R^-$ ) (Slika 2.9). Nastali anjon ima sparen broj elektrona i pri tome je energetski stabilizovan, dok je aromatična struktura sa preostalim elektronom takođe stabilizovana delokalizacijom elektrona i postojanjem više rezonantnih oblika. (*Wright i sar., 2001*).

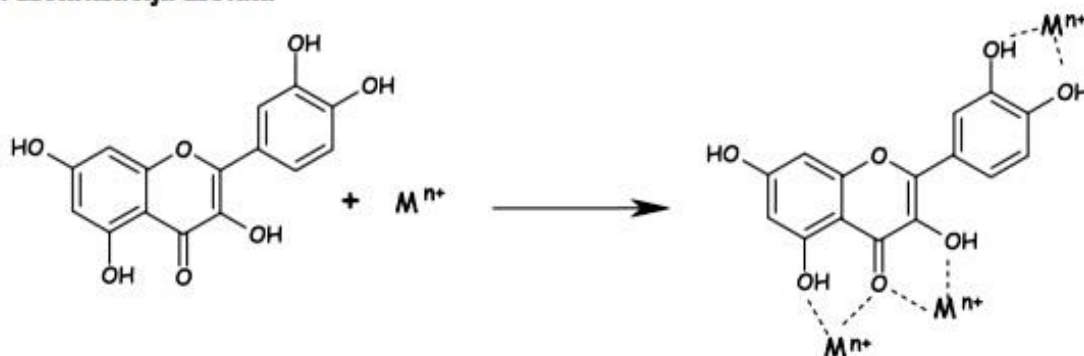
## 2. Prenos elektrona



**Slika 2.9.** Mehanizam dejstva fenolnih jedinjenja u reakciji uklanjanju slobodnih radikala. Prenos elektrona sa fenolnog jedinjenja na slobodni radikal

Treći mehanizam se bazira na sposobnosti fenolnih jedinjenja da vezuju za sebe metale, formirajući stabilne komplekse, što sprečava učešće metala u reakcijama u kojima se proizvode slobodni radikali (Slika 2.10). Poznato je da neki metali u nižem oksidacionom stanju mogu da učestvuju u Fentonovoj reakciji sa  $\text{H}_2\text{O}_2$ , pri čemu dolazi do formiranja  $\text{OH}^\bullet$  radikala koji je veoma reaktivan i jedan od najštetnijih radikala u biljnom tkivu (Nestorović Živković, 2013).

## 3. Helatizacija metala



**Slika 2.10.** Mehanizam dejstva fenolnih jedinjenja u reakciji uklanjanju slobodnih radikala. Vezivanje metala od strane fenolnog jedinjenja

## 2.7. KARAKTERISTIKE ODABRANIH VRSTA VOĆA

### 2.7.1. *Cydonia oblonga* Miller-dunja

Dunja (*Cydonia oblonga* Mill.) je jedina vrsta u rodu *Cydonia*, koja pripada familiji *Rosaceae*, podfamiliji *Pomoideae*, zajedno sa jabukom (*Malus domestica* Borkh.), kruškom (*Pyrus spp.*), japanskom mušmulom (*Eriobotrya japonica*) i običnom mušmulom (*Mespilus germanica*; Rieger i Basra 2007). Dunje se retko uzgajaju izvan mediteranskog podneblja, a

ponekad se pogrešno poistovećuju sa srodnim vrstama, japanskom dunjom (*Chanomeles japonica*) ili kineskom dunjom (*Pseudocydonia sinensis*, Rieger i Basra, 2007).



*Slika 2.11. Cydonia oblonga Miller-dunja*

Plod dunje se obično koristi za džemove, marmelade, žele i slične proizvode, a retko konzumira kao sirovo voće. Turska je vodeći uzgajivač dunja u svetu (*Kaya i sar.*, 2007). Dunja ima veliku primenu u narodnoj medicini. Plod, list i seme dunje su lekoviti a ukoliko stablo nije tretirano hemikalijama kora se može koristiti za pripremu lekovitog čaja. Obloge od dunje napravljene od kore, lista, ploda koriste se za lečenje otvorenih rana, opekotina, bradavica i ispucale kože. Dunja se preporučuje kao lek ili pomoćno lekovito sredstvo kod sledećih bolesti: akne, anemija, bolesti grla i nosa (krajnici), bronhitis, grčevi u želucu, grip i prehlada, dijareja, ekcem, infekcija kože, jačanje imuniteta, nervoza, nesanic, opekotine, problemi sa želucom i organima za varenje, sindrom nadraženih creva, skorbut, upala organa za disanje.

### Fenolni profili dunje

Plod dunje je prepoznat kao u ishrani važan izvor jedinjenja, koja pozitivno utiču na zdravlje, zahvaljujući svojim antioksidativnim, antimikrobnim i antiulcerativnim svojstvima (Fattouch i sar., 2007; Fiorentino i sar., 2008; Hamauzu i sar., 2005; Oliveira i sar., 2007; Silva i sar., 2004, 2008). Dunja, (*Cydonia oblonga* Miller) takođe ima zaštitni efekat protiv oksidativne hemolize ljudskih eritrocita (Magalhães i sar., 2009). Silva i sar., (2002) su saopštili da je sadržaj ukupnih fenola u rasponu od 11,7 do 268,3 mg/kg za pulpu, a između 243 i 1738 mg/kg za koru dunje. U pulpi i kori dunje određeni su 3-*O*-kafeoilhinska kiselina, 5-*O*-kafeoilhinska kiselina, 3,5-*O*-dikafeoilhinska kiselina, kvercetin-3-*O*-galaktozid, kvercetin-3-*O*-rutinozid, kemferol-3-*O*-glikozid, kemferol-3-*O*-glukozid, kemferol-3-*O*-rutinozid, kvercetin-glikozid acilovan sa p-kumarnom kiselinom i kemferol glikozid acilovan sa p-kumarnom kiselinom. Cijanidin-3-glukozid i cijanidin-3,5-diglukozid su glavni antocijani otkriveni u plodovima dunje s crvenim pigmentima kore. Rutin i 5-*O*-kafeoilhinska kiselina su glavni fenoli u kori, a 3-*O*-kafeoilhinska i 5-*O*-kafeoilhinska kiselina su glavni fenoli u pulpi dunje (Silva i sar., 2002, 2008).

#### 2.7.2. *Prunus persica* – breskva

Breskva (*Prunus persica* L.; Slika 2.12.) je listopadno drvo, raste 5-10 m visine. Pripada familiji *Rosaceae*, podfamiliji *Prunoideae* (Armstrong, 2008;). Nektarine [*Prunus persica* (L.) Batsch, var. *nectarina*] i [*P. persica* var. *nucipersica*] pripadaju porodici *Rosaceae* i jedna su vrsta drveta breskve (Salunkhe i Desai, 1984). Nektarine i breskve su veoma slične po svom izgledu i boji, a razlikuju se samo po jednom genu, genu za teksturu kože. Boja breskve i nektarine varira kao crvena, ružičasta, žuta ili bela a kora nektarina je glatka i sjajna, za razliku od kore breskve.

U narodnoj medicini se koriste kao lek protiv malokrvnosti, za crevna oboljenja, bolesti jetre. Sok od breskve preporučuje se ljudima sa srčanom aritmijom, smanjenim lučenjem želudačne kiseline, osetljivim nervnim sistemom, kao i za čišćenje organizma. Breskva se koristi u ishrani, kozmetici i industriji. U ishrani je pogodna kod problema sa probavom, a ima laksativno i diuretsko delovanje. Dobra je za smirenje živaca i u za rad probavnih organa.

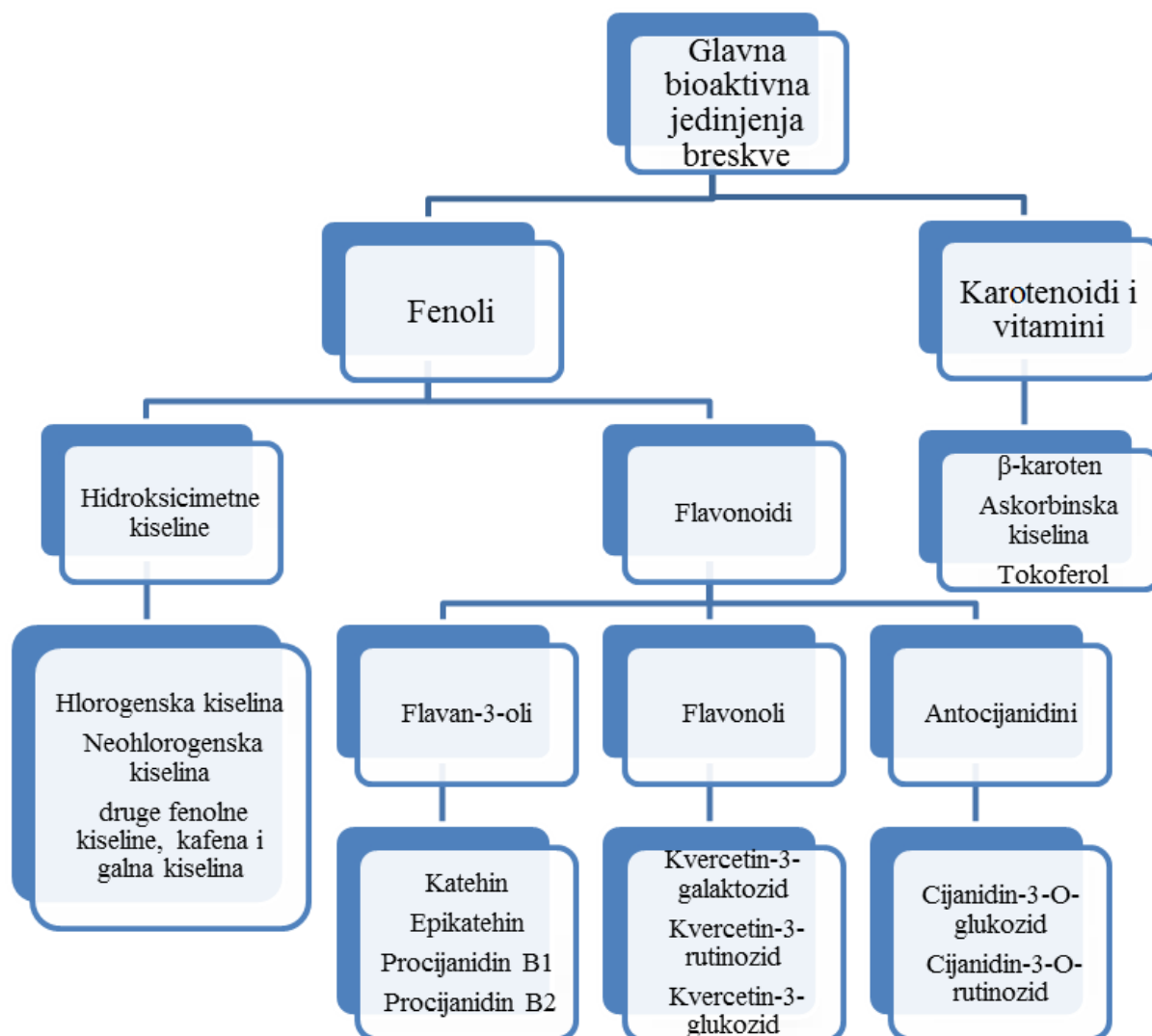


**Slika 2.12.** *Prunus persica*-breskva

#### *Bioaktivne komponente breskve i nektarine*

Breskve su bogate askorbinskom kiselinom (vitamin C), karotenoidima (provitamin A) i fenolnim jedinjenjima, koji su dobri izvori antioksidansa (Drogoudi i Tsitouridis 2007; Tomas-Barberà*n* i sar., 2001). Sadržaj ukupnih fenola kreće u opsegu 100-449 mg ekvivalenta hlorogenske kiseline/100 g sveže breskve. Sadržaj antocijana breskve kreće se u rasponu 6-37 mg/100 g (Cevallos-Casals sar., 2006). Hlorogenska kiselina je glavni fenolni sastojak breskve i nektarine (Slika 2.13). Nektarine i breskve pokazuju identičan fenolni profil, i sadrže ista pojedinačna jedinjenja (Tomas-Barberà*n* i sar., 2001).





**Slika 2.13.** Glavna bioaktivna jedinjenja breskve

Versari i sar., (2002) su saopštili fenolni profil sokova dobijenih od više sorti bresaka (*Redhaven*, *Suncrest* i *Maria Marta*) uzgajanih u Italiji. Sadržaj katehina italijanskih sorti varira od 20 do 34 mg/kg, u gore navedenim sokovima breskve. Hlorogenska kiselina je nađena u količini od 12 do 19 mg/kg u različitim sokovima breskve, dok kafena kiselina je nađena u manjem iznosu kod ovih sokova (0,5-1,5 mg/kg; Versari i sar., 2002). Izokvercetin je određen u količini od 6,0 do 7,1 mg/kg je bio otkriven u sokovima od prethodno navedenih italijanskih sorti.

Prema studiji koju su publikovali Lavelli i sar., (2009), određeni su sadržaji HCA (hlorogenske i neohlorogenske kiseline) od 34-73 mg/kg, katehina od 0 do 24 mg/kg, 3-O-kvercetin-glikozida 3,9-12,7 mg/kg i cijanidin-3-O-glukozida od 0-9,4 mg/kg u soratama

*Elegant Lady* i *Redhaven*. Glavni antocijani identifikovani u breskvama su cijanidin-3-glukozid kao i cijanidin-3-rutinozid (*Ishikura 1975*). Nekoliko hidrokscimernih kiselina, flavan-3-oli i flavonoli, uglavnom hlorogenska kiselina, neohlorogenska kiselina, katehin, epikatehin i kvercetin-3-rutinozid, su identifikovani u breskvama (*Tomas-Barberà i sar., 2001*).

Pozitivna korelacija između fenolnog sadržaja i relativnog antioksidativnog kapaciteta ( $r^2=0,8262$ ) pokazuje da su fenolna jedinjenja odgovorna za antioksidativnu aktivnost (*Cevallos-Casals i sar., 2006*).

Cijanidin-3-*O*-glukozid, katehin i glikozidi kvercetina su najnestabilniji fenoli, a hlorogenska kiselina i neohlorogenska kiselina se razgrađuju manjoj meri.

### 2.7.3. *Malus domestica* – jabuka

Jabuka (*Malus domestica* Borkh., Slika 2.14.) je ukusno i hranjivo voće u i široko se konzumira u gotovo svim zemljama. Jabuke su odličan izvor nekoliko fenolnih jedinjenja, a takođe poseduju visok ukupan antioksidativni kapacitet (*Biedrzycka i Amarowicz, 2008; Lotito i Frei, 2004*).

Ovi antioksidativni fenoli igraju ulogu u smanjenju rizika od različitih bolesti koje su posledica oksidativnog stresa, naime, koronarne bolesti, oštećenja imunološkog sistema, astme i dijabetesa (*Boyer i Liu, 2004*). Dokazano je da rizik od srčanog udara smanjen za 49%, kada su jabuke uključeni u prehrani u dnevnoj količini od  $\geq 110$  g u odnosu na one od  $\leq 18$  g (*Hertog i sar., 1993*).



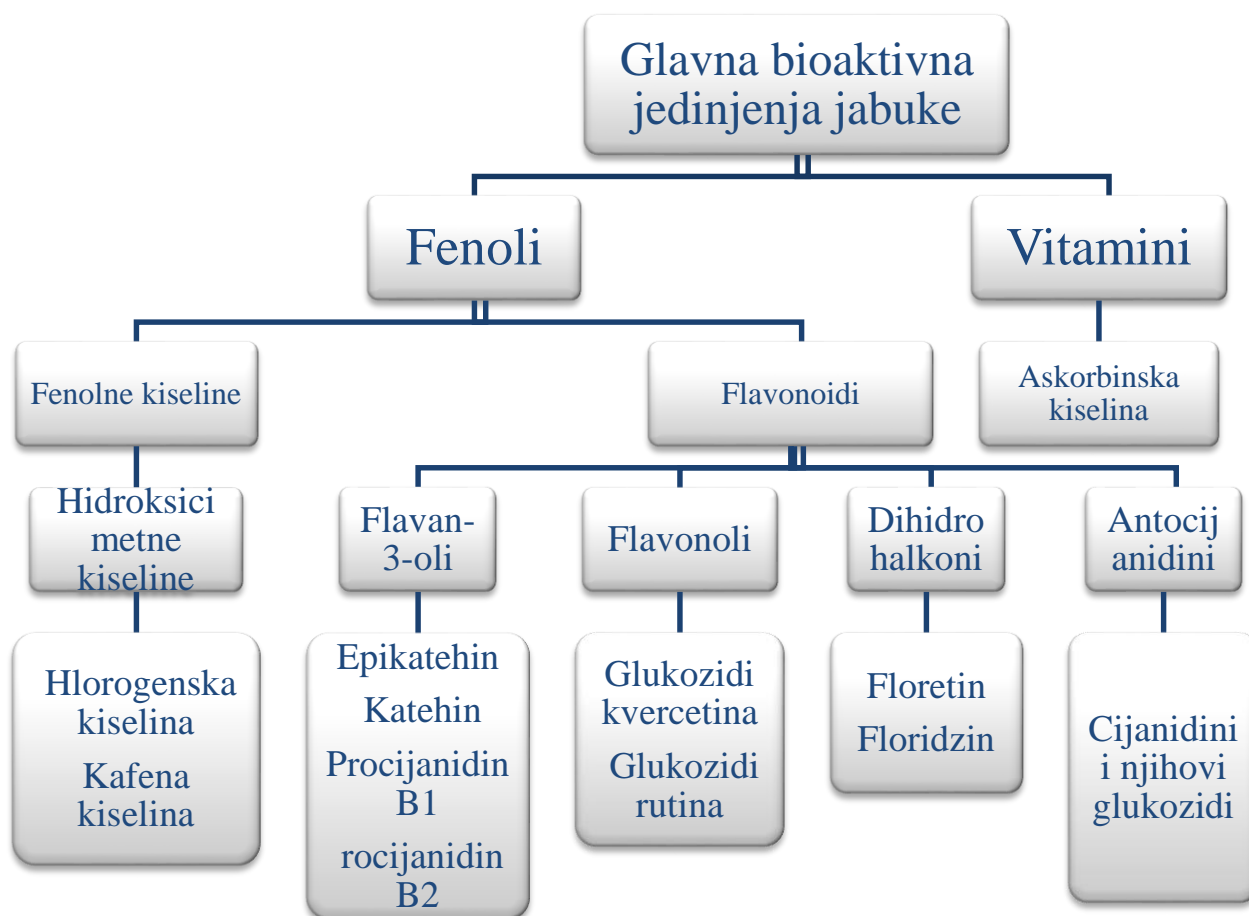
**Slika 2.14.** *Malus domestica* – jabuka

Profil i sadržaj postojećih polifenola u jabuci su značajni s obzirom na njihovu ulogu senzora kvaliteta svežeg voća i prerađevina od jabuke. Šta više, antioksidativna svojstva ovih fitohemikalija su veoma značajna zbog pozitivnog uticaja na zdravlje čoveka (Bushway, Hu i Shupp, 2002). Slika 2.15. pokazuje glavne fenola u jabukama i proizvodima od jabuka. Postoje mnoga zdravstvena poboljšanja od fitonutrijenata, uključujući i flavonoide i fenolne kiseline u kori jabuke (Boyer i Liu, 2004). U literaturi se može naći činjenica da sastojci kore jabuke inhibiraju ćelije ljudskog hepatocelularnog karcinoma jetre (HepG2) značajno više

nego cela jabuka (Wolfe, Wu i Liu, 2003). Mnogi autori navode da kora ima jedinstvene flavonoide, kao što su, glikozidi kvercetina, koji nisu pronađeni u pulpi jabuke, a takođe ima tri do šest puta više flavonoida od pulpe jabuka (Wolfe, Wu i Liu i sar. 2003; Wolfe i Liu 2003). Objavljeno je da jabuke obezbeđuju 20-25% od potrošnje voćnih polifenola po glavi stanovnika u Sjedinjenim Američkim državama (Vinson i sar., 2001).

Sun i sar., (2002) su otkrili da jabuke imaju najviše rastvorljivih fenola u odnosu na deset vrsta najčešće konzumiranog voća. Ovi autori navode da su derivati hidroksicimetne kiseline, flavan-3-oli (flavanoli; monomerni i oligomerni katehini), flavonoli i dihidrohalkoni glavni fenoli jabuka. Jabuke se sastoje od raznih antioksidativnih fenola: hlorogenske kiseline, epikatehina, procijanidina B2, floretina, floridzina, kvercetina kao i askorbinske kiseline (Biedrzycka i Amarowicz 2008; Guyot i sar., 2002; Khanizadeh i sar., 2007).

Jabuke su najzastupljenije u ukupnoj svetskoj proizvodnji i potrošnji voća, a takođe je u porastu proizvodnja i konzumiranje soka od jabuke (Fulker 2001).



Slika 2.15. Glavna bioaktivna jedinjenja jabuke

### Sadržaj ukupnih polifenola u jabuci

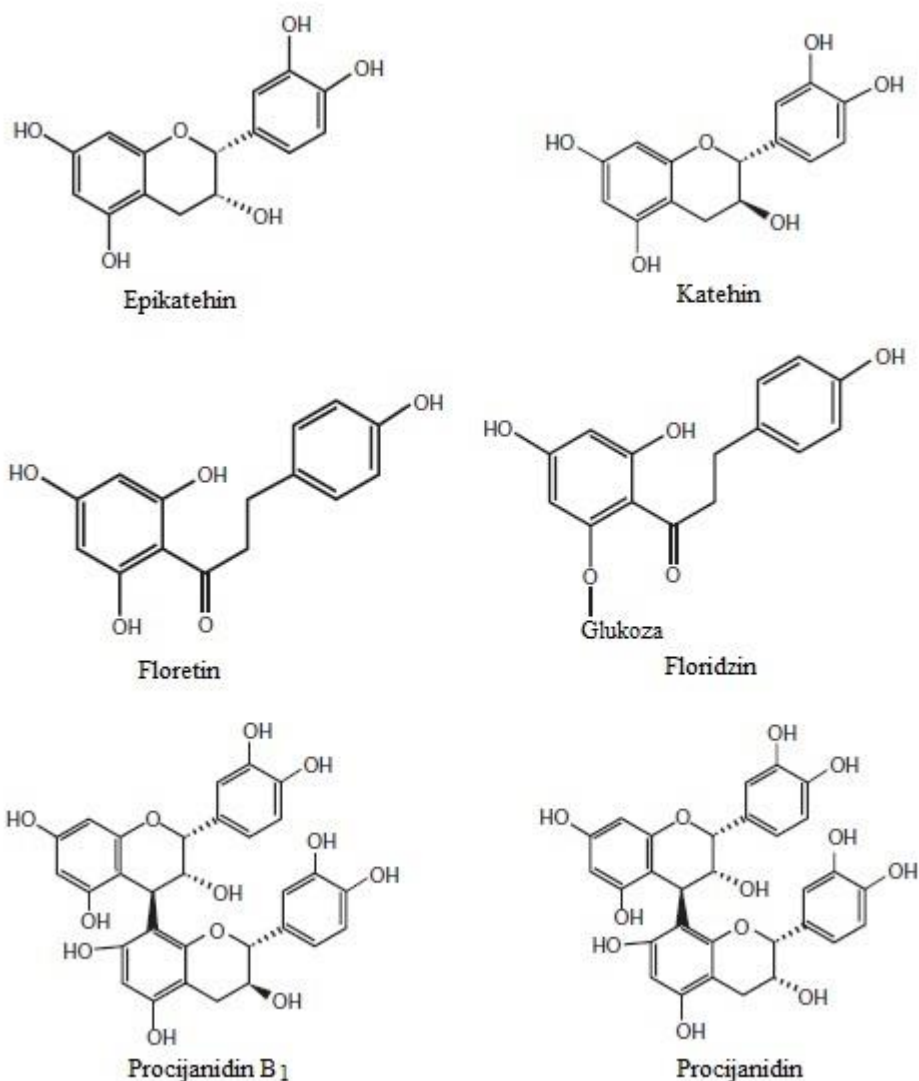
U literaturi se može naći da je prosečan sadržaj ukupnih polifenola u osam najčešće uzgajanih vrsta jabuke u zapadnoj Evropi od 66,2 do 211,9 mg/100 g sveže mase, u zavisnosti od sorte jabuka, a da su flavanoli (katehini i proantocijanidini) glavna klasa polifenola jabuka (71-90%), nakon čega slede hidroksicimetne kiseline (4-18%), flavonoli (1-11%), dihidrohalkoni (2-6%), i u crvenim jabukama, antocijanini (1-3%) (Vrhovsek i sar., 2004). Zabeleženo je da je ukupan sadržaj fenola u jabukama je iznad 500 mg/100 g sveže mase (Gorinstein i sar., 2001) i približno 95% fenola se akumulira u kori jabuke (Guyot i sar., 2002).

Lee i sar., (2003) su utvrdili da su prosečne koncentracije fenola među šest sorti jabuka: kvercetin glikozida 13,2 mg/100 g voća; procijanidina B 9,35 mg/100 g voća; hlorogenske kiseline 9,02 mg/100 g voća; epikatehina 8,65 mg/100 g voća i floretin glikozida 5,59 mg/100 g voća. Sadržaj polifenola se kreće u rasponu od 9 do 76 mg/100 g jabuke, a najzastupljenije su hidroksicimetne kiseline (5-60 mg/100 g), flavonoli (2-4 mg/100 g) i monomerni flavanoli (2-12 mg/100 g), uključujući katehine i proantocijanidine (Manach i Donovan 2004).

### Procijanidini, katehin, dihidrohalkoni i fenolne kiseline u jabuci

Jabuke su tipičan izvor proantocijanidina. Navedeno je da Delišeš sorta jabuke ima najveći sadržaj jedinjenja kao što su epikatehin, procijanidin B2, a floridzin (Chinnici i sar., 2004). Slika 2.16. pokazuje procijanidine, katehine i dihidrohalkone koji se nalaze u jabukama. Polifenolima bogate frakcije, koje su ekstrahovane iz nezrelih jabuka (*Rosaceae*, *Malus spp.*), sastoje se od procijanidina (polimernih katehina) za koje je dokazano da imaju antialergijsko dejstvo na pacijente sa raznim alergijskim bolestima.

Procijanidi se mogu naći u svim delovima jabuke i njihov sadržaj se postepeno povećava od 1232 mg/kg u semenkama do 4964 mg/kg u kori jabuka (Guyoti sar., 1998.). Sanoner i sar., (1999) su identifikovali više polimerizovanih procijanidina u pulpi određenih sorti jabuka. Reinders i sar., (2001) ukazuju da kafena kiselina, jedna od dominantnih fenolnih kiselina u sastavu jabuke, može imati inhibitorni uticaj na bakterije *Escherichia coli*. Sa povećanje stepena zrenja, sadržaj polifenola se smanjuje.



**Slika 2.16.** Katehini, dihidrohalkoni i procijanidini pronađeni u jabukama

*Karaman i sar.*, (2010) su saopštili da katehin, hlorogenska kiselina, epikatehin, kafena kiselina, i floridzin prisutni u pojedinim sortama jabuka koje se uzgajaju u Turskoj. Hidrohalkoni floridzin (florethin 2'- $\beta$ -D-glukozid) i floretin se distribuiraju u celom plodu i čine oko 66% ukupnih fenola u semenkama jabuke, a u kori i pulpi čine manje od 3% ukupnih fenola (*Guyot i sar.*, 1998).

*Antioksidativna aktivnost jabuke*

Sadržaj ukupnih polifenola i antioksidativna aktivnost voća zavisi od sorte, životne sredine, meteoroloških faktora, zrelosti ploda, izloženosti svetlu, skladištenja i obrade (*Alonso-Salces i sar 2004; Awad i sar., 2000; Van der Sluis i sar., 2001*). Utvrđeno je da je u odnosu na mnoge druge najčešće konzumirne plodove voća u SAD-u, jabuka je na drugom mestu po antioksidativnom delovanju i na drugom mestu (odmah iza brusnice) po ukupnoj koncentraciji fenolnih jedinjenja (*Boyer i Liu, 2004 ; Sun i sar., 2002*).

*Specifična fenolna jedinjenja i njihove karakteristike u jabukama*

Hidroksicimetne kiseline su prekursori isparljivih jedinjenja, koja doprinose aromi jabukovače (*Lea, 1995*). Nekoliko polifenola takođe igraju važnu ulogu u karakteristikama enzimskog tamnjenja proizvoda od jabuke. Dokazano je da je hlorogenska kiselina (CA), jedna od hidroksicimetnih kiselina, najvažniji supstrat polifenolne peroksidaze (PPO). CA jabuka prelazi u svoj o-hinon, koji nadalje reaguje sa drugim fenolnim jedinjenjima, što je rezultovalo formiranjem žutih i smeđih pigmenata pod uticajem kiseonika i PPO (*Oszmianski i Lee, 1990*).

U jabukama, procijanidini su takođe uključeni u enzimsko tamnjenje a njihov stupanj polimerizacije je odgovoran za boju sokova od jabuke i jabukovače (*Khanizadeh i sar., 2006*). Šta više, stupanj enzimskog tamnjenja jabuka zavisi od odnosa hidroksicimetne kiseline/procijanidi (*Amiot i sar., 1992*). Prema podacima dobijenih iz 31 sorte jabuka, gorke sorte imaju veći sadržaj flavan-3-ola i/ili dihidrohalkone nego slatke sorte (*Alonso-Salces i sar., 2004*).

### ***3. Eksperimentalni deo***



### 3.1. Materijal

#### 3.1.1. Voćni material

Zdravi plodovi dunje, sorte Leskovačka, sortnih bresaka (Radmilovčanka, Junsko zlato, Blejk, Hala, Vesna, Adria), nektarine sorte Fantazija, pet različitih tipova vinogradarskih bresaka i jabuka (Jonatan, Gloster, Melrose, Crveni Delišeš, Zlatni Delišeš, Greni Smit, Šarunka, Gala, Jonagold, Ajdared, Breburn, Mucu, Čadel, Kožara, Red Čif, Pink lejdi i Modi) su nabavljeni direktno od proizvođača sa područja Jugoistočne Srbije.

#### 3.1.2. Hemikalije i reagensi

U radu korišćeni reagensi: 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil radikal (DPPH), 2,2-azinobis (3-etilbenzotiazolin-6-sulfonska kiselina) (ABTS), kalijum-persulfat, metanol, etanol, aceton, etil acetat, acetonitril, mravlja i sirćetna kiselina kupljeni su kod J. T. Baker (Deventer, Holland). Troloks (6-hidroksi-2,5,7,8-tetrametilhroman-2-karboksilna kiselina) i 2,4,6-tris-2-piridil-1,3,5-triazin (TPTZ) su kupljeni od Acros Organics (Geel, Belgium). *Folin-Ciocalteu* reagens (FC), dimetilsulfoksid (DMSO), 2,9-dimetil-1,10-fenantrolin (neokuproin),  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ,  $\text{NaNO}_2$ , NaOH,  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , HCl,  $\text{CCl}_4$ ,  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ,  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ , NaCl,  $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ , trihlorsirćetna kiselina (TCA) i  $\text{AlCl}_3$  kupljeni su kod Merck (Darmstadt, Germany). Korišćeni su i sledeći sertifikovani standardi: galna kiselina, kupljena od Carl Roth (Karlsruhe, Germany), katehin, ferulna i kafena kiselina kupljeni kod Sigma-Aldrich (Steinheim, Germany), cijanidin-3-glukozid, kvercetin, kvercetin-rutinozid, kvercetin-glukozid, kemferol, kemferol-glukozid, epikatehin, p-kumarna kiselina, hlorogenska kiselina, kupljeni kod Merck (Darmstadt, Germany) i kvercetin-galaktozid kupljen od Extrasynthese (Genay, France).

Sve hemikalije i rastvarači koji su korišćeni bili su p.a. i HPLC čistoće.

Svi rastvori, koji se nisu mogli pripremiti kao primarni standardni rastvori, standardizovani su poznatim metodama u cilju određivanja tačne koncentracije. Sudovi koji su korišćeni prani su etanolnim rastvorom KOH, zatim rastvorom HCl (1:1), isprani česmenskom, destilovanom i dejonizovanom vodom. Rastvori su pripremani sa dejonizovanom vodom specifične provodljivosti  $0,05 \mu\text{Scm}^{-1}$ .

### 3.2. Aparati

Za ispitivanje mineralnog sastava, sadržaja fenolnih komponenti i antioksidativne aktivnosti izabranih vrsta voća, korišćena je sledeća oprema:

1. HPLC sistem Agilent Technologies 1200 Series (Agilent Technologies, USA) koji se sastoji od kvaternarne pumpe G1354A, automatskog injektora G1329A, termostatisanog kolonskog dela G1316A, UV/Vis detektora G1315D, fluorescentnog detektora G1321A kontrolisanog sa HP Chemstation softverom, za određivanje sadržaja fenolnih jedinjenja (Slika 3.1),



*Slika 3.1. Tečni hromatograf visokih performansi (HPLC) (laboratorija Katedre za analitičku i fizičku hemiju Prirodno-matematičkog fakulteta Univerziteta u Nišu).*

2. UV/Vis spektrofotometar Agilent 8453 (Agilent Technologies, USA) sa dužinom optičkog puta 1 cm za kvantitativnu analizu i ispitivanje antioksidativne aktivnosti (Slika 3.2),



*Slika 3.2. UV-VIS spektrofotometar (laboratorija Katedre za analitičku i fizičku hemiju*

*Prirodno-matematičkog fakulteta Univerziteta u Nišu).*

3. ICP-OES iCAP 6000 (Thermo Fisher Scientific Inc, Nemačka) za kvalitativno i kvantitativno određivanje metalnih jona (Slika 3.3),



*Slika 3.3. Optički emisioni spektrofotometar sa induktivno kuplovanom plazmom (laboratorija Katedre za analitičku i fizičku hemiju Prirodno-matematičkog fakulteta Univerziteta u Nišu).*

4. MicroMed high purity water system (Thermo Fisher Scientific Inc, Nemačka), TKA Wasseraufbereitungssystem GmbH za dobijanje demineralizovane vode,
5. Termostat Julabo MP 5A Open Bath Circulations (JULABO, USA) za termostatiranje rastvora,

6. Električna peć za žarenje (VIMS, Srbija)
7. Ultrazvučno kupatilo Bandelin SONOREX® Digital 10 P (Sigma, USA).
8. pH metar (Hanna Instruments, USA) za merenje pH vrednosti rastvora
9. Varijabilne automatske pipete Lab Mate<sup>+</sup> za pipetiranje rastvora
10. Električni blender za homogenizovanje uzoraka.

### **3.3. Metode**

#### **3.3.1. Priprema uzoraka**

Uzorci za analizu predhodno su pripremani postupkom ekstrakcije ili postupkom mineralizacije u zavisnosti da li se u njima određuje sadržaj fenolnih komponenti ili sadržaj metalnih jona. Voće je odvojeno na koru, pulpu i semenke, spakovano u plastične kese i čuvano u zamrzivaču do korišćenja.

##### *3.3.1.1. Postupak ekstrakcije uzoraka za HPLC i UV-Vis analizu*

Tačno odmerena, masa predhodno blenderom homogenizovanog svežeg voćnog materijala (oko 10,0 g), prenešena je u erlenmajerovu bocu u koju je dodato 20 cm<sup>3</sup> odgovarajućeg rastvarača. Nakon jednog časa stajanja u ultrazvučnom kupatilu (Bandelin SONOREX Digital 10 P, Sigma, USA) rastvarač je odekantovan, dodata je nova količina rastvarača od 20 cm<sup>3</sup> i postupak je ponovljen. Nakon ponovnog dekantovanja, dodato je 10 cm<sup>3</sup> rastvarača i sadržaj je ultrasonificiran jedan čas. Dobijeni filtrati su spojeni, filtrirani i u normalnom sudu dovedeni do ukupne zapremine od 50 cm<sup>3</sup>. Ekstrati su čuvani na tamnom i hladnom mestu (*Borowska i sar., 2009; Katalinić i sar., 2010*). Korišćeni su sledeći rastvarači: 60% i 80% rastvor metanola i 60% i 80% rastvor acetona za uzorke kore i pulpe dunja; aceton koji sadrži 0%, 0,1%, 1% i 2% HCl za uzorke kore i pulpe sortnih bresaka; metanol koji sadrži 0,1% HCl za uzorke ploda jabuke i vinogradarskih bresaka; metanol koji sadrži 0%, 0,1%, 1% i 2% HCl za uzorke kore jabuka.

##### *3.3.1.2. Postupak mineralizacije*

Uzorci tačno odmerene mase (oko 10 g), predhodno homogenizovanog svežeg voćnog materijala, prebačeni su u porculanski lončić i zagrevani u električnoj peći. Peć je

programirana da podiže temperaturu sa 50°C na 450°C u toku 8 sati a zatim da tu temperaturu održava konstantnom narednih 12 časova. Ohlađeni uzorak rastvoren je u 2,5 cm<sup>3</sup> HNO<sub>3</sub> (1:1, v/v), filtriran kroz filter papir (plava traka) i dopunjen dejonizovanom vodom do 50 cm<sup>3</sup> (Radojević i Bashkin, 1999).

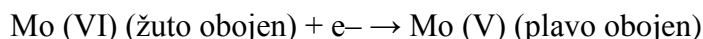
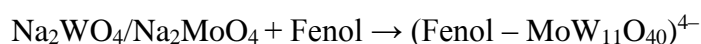
Zapremina od 5 cm<sup>3</sup> uzorka ekstrakata crvenih sorti jabuka je prenešena u erlenmajer od 50 cm<sup>3</sup> i dodati 10 cm<sup>3</sup> koncentrovane azotne kiseline i 4 cm<sup>3</sup> 30% vodonik peroksida (HNO<sub>3</sub>:H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> je 5:2). Tako pripremljen uzorak zagrevan je na 140±10°C oko 30 minuta. Kada se rastvor ohladi do sobne temperature procediti, preneti u normalni sud od 25 cm<sup>3</sup> i dopuniti do crte 0,5% HNO<sub>3</sub>.

### 3.3.2. Spektrofotometrijska analiza ekstrakata

#### 3.3.2.1. Određivanje ukupnih fenola u ekstraktima voća

##### Princip

Sadržaj ukupnih fenola u ekstraktima voća određen je metodom po *Folin-Ciocalteu* (Singelton i Rosi, 1965). Metoda po *Folin-Ciocalteu* je zasnovana na merenju redukujućeg kapaciteta polifenolnih jedinjenja, čijom disocijacijom nastaje proton i fenoksidni anjon. Nastali fenoksidni anjon redukuje *Folin-Ciocalteu* reagens do plavo obojenog jona (Fenol-MoW<sub>12</sub>O<sub>40</sub>)<sup>4-</sup>.



Reakcija na kojoj se zasniva merenje sadržaja ukupnih fenolnih komponenata nije specifična, jer na isti način sa *Folin-Ciocalteu* reagensom mogu da reaguju još neka jedinjenja.

##### Postupak

Reakciona smeša je pripremljena mešanjem ekstrakta voća (0,1cm<sup>3</sup>), 7,9 cm<sup>3</sup> destilovane vode, 0,5 cm<sup>3</sup> reagensa *Folin-Ciocalteu* i 1,5 cm<sup>3</sup> 20% Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>. Kao slepa proba koristi se smeša u koju je umesto 0,1 cm<sup>3</sup> uzorka dodato 0,1 cm<sup>3</sup> destilovane vode. Nakon

inkubacije od 2 h na sobnoj temperaturi, meri se apsorbanca ispitivane smeše na talasnoj dužini od 760 nm. Za svaki uzorak postupak je ponovljen tri puta.

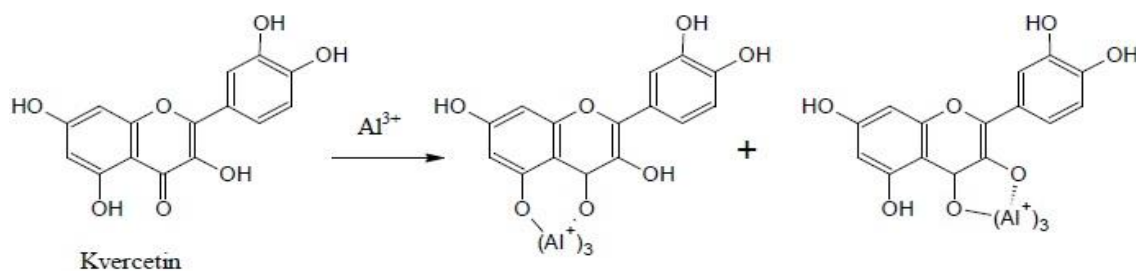
#### Proračun

Na osnovu izmerenih apsorbanca, sa kalibracione krive standardnog rastvora galne kiseline određuje se masena koncentracija ( $\mu\text{g}/\text{cm}^3$ ) polifenolnih jedinjenja korišćenjem jednačine prave ( $A = 0,0855 [\text{GA}] + 0.0065$ ,  $n = 5$ ,  $r^2 = 0,9998$ ), a ukupan sadržaj fenola u analiziranim uzorcima izražen je kao mg ekvivalenta galne kiseline na 100 g sveže mase voća  $\pm$  standardna devijacija (mg GAE/100 g s.m.  $\pm$  SD).

### 3.3.2.2. Određivanje ukupnih flavonoida u ekstraktima voća

#### Princip

Metoda se zasniva na osobini flavonoida da kompleksiraju metalne katjone (kao što je  $\text{Al}^{3+}$ ), pri čemu dolazi do građenja helata (Slika 4.3.), proširenja delokalizacije i pomeranja UV i Vis apsorpcionih traka za oko 50 nm ka višim talasnim dužinama (batohromni efekat), tj. boja rastvora prelazi iz žute u žuto-zelenu ili intenzivniju žutu (Veljković i sar., 2013).



Slika 3.4. Građenje helata flavonoida sa  $\text{Al}^{3+}$  jonom.

Reakcija nije univerzalna – za građenje stabilnih kompleksa potrebna je okso-grupa u položaju 4 i  $-\text{OH}$  grupa u položaju 3 ili 5. Moguće je i građenje kompleksa, labilnih pri nižim vrednostima pH, sa o-dihidroksi grupom prstena B ( $3',4'$ ).

Flavonoli sa 3-OH i 5-OH (kemferol i sl.), i eventualnim  $3',4'$ -OH (kvercetin, rutin, kvercitrin, miricetin), imaju apsorpcioni maksimum u intervalu 415–440 nm. Flavoni bez 3-OH, samo sa 5-OH (apigenin) imaju maksimum na  $<400$  nm, ali luteolin sa  $3',4'$ -OH

pokazuje jaku apsorpciju na 415 nm. Stoga, ukoliko se u uzorcima očekuje širok spektar flavonoidnih struktura, poželjno je koristiti kompromisnu  $\lambda$  od 415 nm. Na 415 nm, flavonoli daju najjači signal, flavoni znatno slabiji, flavanoni i izoflavoni vrlo slab.

Izgled apsorpcionog spektra i stabilnost nagrađenog kompleksa značajno zavisi od pH. Optimalna pH vrednost za građenje kompleksa je oko 6. U vrlo kiseljoj sredini, kompleks se ne gradi (udeo deprotonovanog oblika flavonoida je zanemarljiv); pri  $3 < \text{pH} < 6$ , gradi se ljubičasti kompleks; pri  $6 < \text{pH} < 8,5$  gradi se plavi kompleks, ali je rastvorljivost Al-soli mala zbog hidrolize; iznad pH 8,5, sistem nije stabilan.

Reakcija se odvija u pogodnom rastvaraču (vodeni rastvori metanola, etanola, acetona) koji obezbeđuje rastvorljivost svih komponenti, uz konstantnu pH i jonsku jačinu.

### *Postupak*

Reakciona smeša je pripremljena mešanjem određene zapremine uzorka,  $4 \text{ cm}^3$  dejonizovane vode i  $0,3 \text{ cm}^3$  5%  $\text{NaNO}_2$ . Nakon 5 min dodato je  $1,5 \text{ cm}^3$  2%  $\text{AlCl}_3$ , nakon 5 min još  $2 \text{ cm}^3$   $1 \text{ mol/dm}^3$   $\text{NaOH}$  i dejonizovana voda do  $10 \text{ cm}^3$ . Apsorbanca je merena na  $\lambda = 415 \text{ nm}$ , u odnosu na dejonizovanu vodu kao slepu probu.

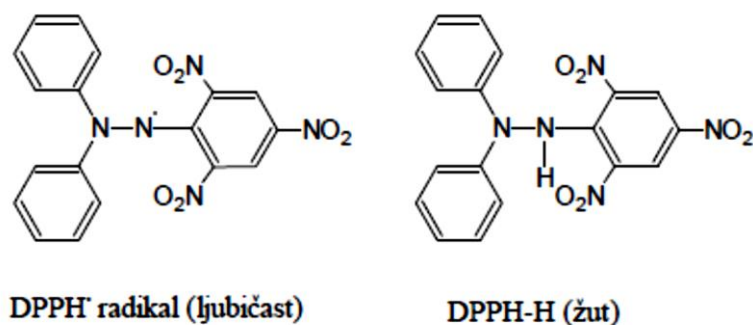
### *Proračun*

Na osnovu izmerenih apsorbanaci, sa kalibracione krive standardnog rastvora katehina određuje se masena koncentracija ( $\mu\text{g/cm}^3$ ) flavonoida korišćenjem jednačine prave ( $A = 0,0249 [C] + 0,005$ ,  $n=7$ ,  $r^2=0,9994$ ), a zatim se sadržaj ukupnih flavonoida u polaznom uzorku izražava kao mg ekvivalenta katehina na 100 g sveže mase voća  $\pm$  standardna devijacija (mg CE/100 g  $\pm$  SD).

### **3.3.2.3. Određivanje antioksidantne aktivnosti DPPH testom**

#### *Princip*

Određivanje sposobnosti neutralizacije  $\text{DPPH}^{\bullet}$  (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) radikala urađeno je primenom spektrofotometrijske metode (*Brand-Williams i sar., 1995*), zasnovana na praćenju promene boje ljubičasto obojenog rastvora stabilnog azot-centriranog  $\text{DPPH}^{\bullet}$  radikala u redukovanu, žuto obojenu formu,  $\text{DPPH-H}$ . Pojava žute boje objašnjava se sposobnošću pojedinih komponenata da deluju kao donori vodonika ili elektrona, pri čemu  $\text{DPPH}^{\bullet}$  prelazi u redukovani neutralni  $\text{DPPH-H}$  oblik (*Slika 3.5*).



*Slika 3.5. Radikalska i redukovana forma DPPH<sup>•</sup>*

Neutralizacija DPPH<sup>•</sup> fenolnim jedinjenjima odvija se pomoću dva simultana mehanizma. Najpre, fenolno jedinjenje deluje kao donor H-atoma pri čemu nastaje redukovani, neutralni DPPH-H oblik i ariloksi radikal koji je rezonantno stabilizovan, a zatim, nastali ariloksil radikal može da reaguje sa još jednim DPPH<sup>•</sup> radikalom pri čemu dolazi do njihove kondenzacije i prelaska u neutralan molekul (*Slika 3.6.*).

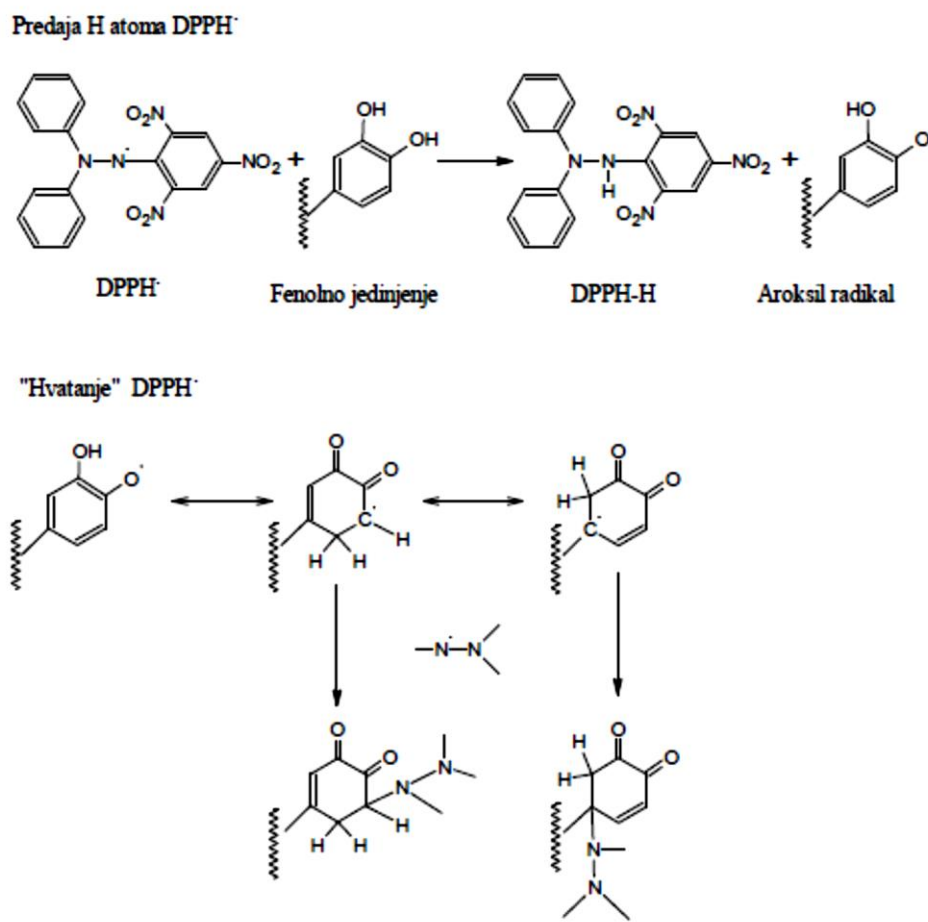
Sterni prilaz DPPH<sup>•</sup> određuje reakciju, jer mali molekuli lakše prilaze ovom radikalumu i imaju relativno veći antioksidativni kapacitet. Sa druge strane, veoma veliki antioksidansi, koji brzo reaguju sa peroksil radikalom, u ovom slučaju reaguju sporo ili ne reaguju.

Spektrofotometrijska merenja mogu biti pod uticajem jedinjenja, kao što su karotenoidi koji apsorbuju na talsnoj dužini određivanja, i pod uticajem zamućenosti uzoraka.

### *Postupak*

Određena zapremina uzorka dodata je u 2,5 cm<sup>3</sup> radnog rastvora DPPH<sup>•</sup> radikala, a zatim se je u normalni sud dodat metanol do 5 cm<sup>3</sup>. Dobijena smeša je dobro izmešana i nakon 30 minuta stajanja na 25°C merena je apsorbanca spektrofotometrijski na 515 nm, uz MeOH kao referentni rastvor. Sve probe su rađene u tri ponavljanja. Kontrolni rastvor je dobijen mešanjem 2,5 cm<sup>3</sup> radnog rastvora DPPH<sup>•</sup> radikala sa 2,5 cm<sup>3</sup> metanola (*Slika 3.6.*).





Slika 3.6. Mehanizam „hvatanja“ DPPH<sup>•</sup> pomoću fenolnih jedinjenja

### Proračun

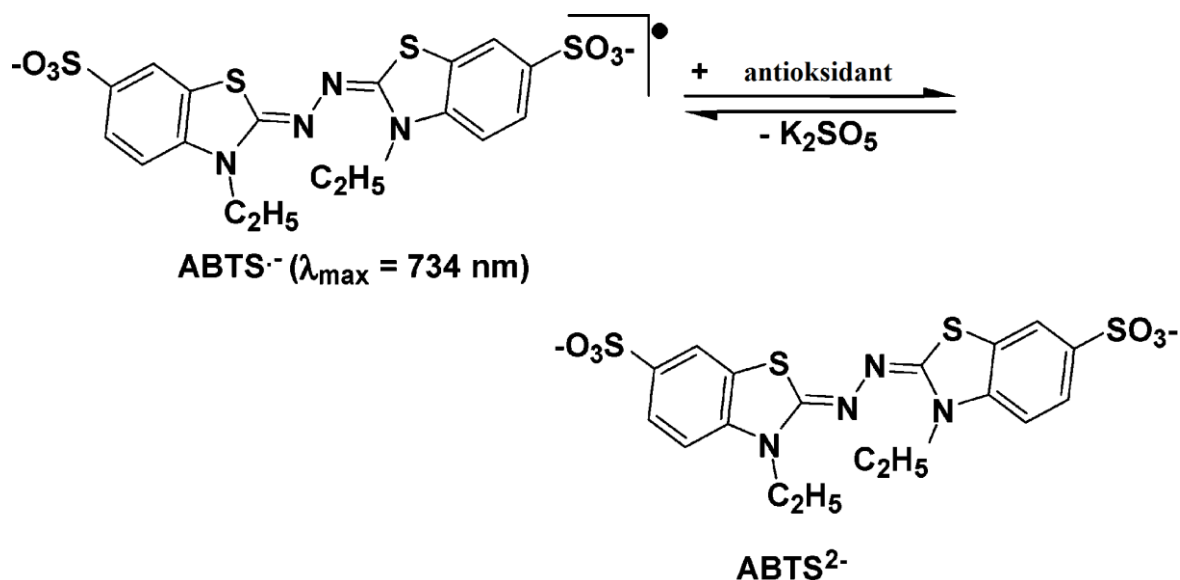
Na osnovu izmerenih razlika apsorbaneci  $\Delta A = A_{\text{slupe probe}} - A_{\text{uzorka}}$ , sa kalibracione krive standardnog rastvora troloksa određena je ukupna antioksidativna aktivnost u  $\mu\text{mol}/\text{cm}^3$  korišćenjem jednačine prave ( $\Delta A = -0,01 + 0,0313 [T]$ ;  $r^2 = 0,9998$  gde je  $[T]$  koncentracija troloksa u  $\mu\text{g}/\text{cm}^3$ ), a zatim je ukupna antioksidativna aktivnost u polaznom uzorku izražena kao mmol ekvivalenta troloksa po 100 grama sveže mase uzorka (mmol TE/100 g s.m.).

#### 3.3.2.4. Određivanje antioksidantne aktivnosti ABTS testom

##### Princip

ABTS (2,2'-azinobis (3-etilbenzotiazolin-6-sulfonska kiselina) radikalski katjon test je spektrofotometrijska metoda koja je široko u upotrebi prilikom određivanja antioksidativne aktivnosti velikog broja jedinjenja. Primenljiv je kako za lipofilna, tako i za hidrofila

jedinjenja. Ispitivanje antioksidativne aktivnosti  $ABTS^{+\cdot}$  radikal katjonskom metodom se zasniva na kolorimetrijskom merenju stepena obezbojavanja  $ABTS^{+\cdot}$  radikala u prisustvu antioksidanasa.  $ABTS^{+\cdot}$  radikalski katjon se dobija oksidacijom ABTS sa  $K_2S_2O_8$  (kalijum persulfat) pre dodavanja antioksidanasa. Relativno stabilan  $ABTS^{+\cdot}$  radikal je zelene boje i kvantifikuje se spektrofotometrijski na 734 nm (Slika 3.7.).



Slika 3.7. Reakcija ABTS radikala

### Postupak

ABTS test je urađen po metodi koju su prvobitno opisali *Ozgen i sar.*, (2006).  $ABTS^{+\cdot}$  je dobijen inkubacijom 7 mM vodenog rastvora ABTS (Sigma Aldrich, Nemačka) sa 2,45 mM  $K_2S_2O_8$ , tokom 16 sati u mraku, na sobnoj temperaturi. Uzorak zapremine 0,1 cm<sup>3</sup> je pomešan sa 3,9 cm<sup>3</sup> radnog rastvora  $ABTS^{+\cdot}$  radikala, smeša je dobro promešana i ostavljena da odstoji 6 minuta na tamnom mestu. Nakon toga, merena je apsorbanca na 734 nm. Kontrolni rastvor je dobijen mešanjem 3,9 cm<sup>3</sup> radnog rastvora  $ABTS^{+\cdot}$  radikala sa 0,1 cm<sup>3</sup> metanola da bi se dobio rastvor čija je apsorbanca  $0,70 \pm 0,02$ .

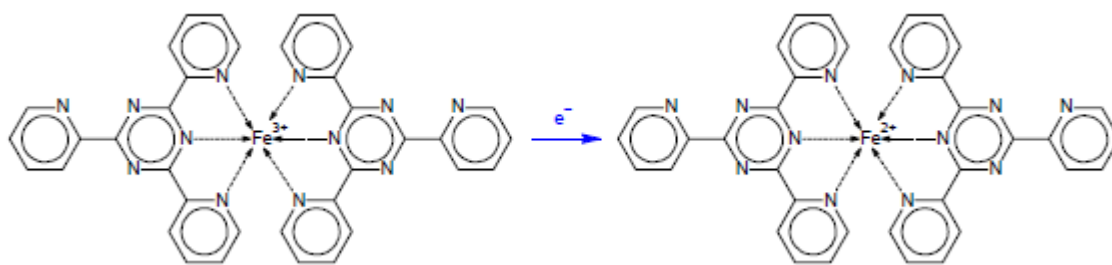
### Proračun

Rezultati su predstavljeni na sledeći način: TEAC (antioksidativni kapacitet ekvivalenta troloksa), izračunat iz standardne krive za troloks ( $\Delta A = -0,0065 + 0,022 [T]$ ;  $r^2 = 0,9975$  gde je  $[T]$  koncentracija troloksa u  $\mu\text{g}/\text{cm}^3$ ) i izražen kao mmol ekvivalenta troloksa po 100 grama sveže mase uzorka (mmol TE/100 g).

### 3.3.2.5. Određivanje antioksidantne aktivnosti FRAP testom

#### Princip

FRAP (eng. *ferric reducing ability of plasma*, alternativno *ferric ion reducing antioxidant power*) metoda originalno je razvijena za određivanje sadržaja redukujućih materija u krvnoj plazmi, ali je našla primenu i u ispitivanju antioksidantnog potencijala biljnih ekstrakata (Kranl i sar., 2005). Zasniva se na redukciji kompleksa gvožđa i 2,4,6-tris(2-piridil)-s-triazina,  $[\text{Fe}^{3+}\text{-TPTZ}]$  do intenzivno plavog (apsorpcioni maksimum 593 nm)  $[\text{Fe}^{2+}\text{-TPTZ}]$  kompleksa u kiseloj sredini (Slika 3.8.). Reakcija je nespecifična, i bilo koji sistem sa redoks potencijalom negativnijim od para  $\text{Fe}^{3+}\text{-TPTZ}/\text{Fe}^{2+}\text{-TPTZ}$  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  $\text{Fe}^{3+}\text{-TPTZ}$ .



**Slika 3.8.** Reakcija redukcije  $\text{Fe}^{3+}\text{-TPTZ}$  kompleksa.

#### Postupak

FRAP test je izveden po proceduri koju su opisali *Benzie i Strain* (1996). Određena zapremina ekstrakta pomešana je dejonizovanom vodom do  $0,1\text{cm}^3$ , a zatim je dodato  $3\text{cm}^3$  sveže pripremljenog FRAP reagensa ( $25\text{cm}^3$  acetatnog pufera,  $0,3\text{M}$ ,  $\text{pH } 3,6$  +  $2,5\text{cm}^3$   $10\text{mM}$  TPTZ u  $40\text{mM}$  HCl +  $2,5\text{cm}^3$   $20\text{mM}$   $\text{FeCl}_3$ ). Nakon inkubacije od 4 min na  $37^\circ\text{C}$  merena je apsorbanca na 593 nm. FRAP reagens je termostatiran na  $37^\circ\text{C}$  pre upotrebe.

#### Proračun

Koncentracija  $\text{Fe}^{2+}$  ( $\mu\text{M}$ ) ekvivalenta u svakom ekstraktu očitana je direktno sa kalibracione krive i preračunata pomoću jednačine prave ( $A = 0,02344 [\text{Fe}^{2+}] + 0,00702$ ,  $n = 6$ ,  $r^2=0,9999$ ) kao ekvivalent gvožđa(II) na  $100\text{g}$  sveže mase uzorka ( $\text{mmol Fe}/100\text{g s.m.}$ ).

Uzorci koji su izašli izvan opsega kalibracione krive ponovljeni su uz odgovarajuće podešavanje koncentracije.

### 3.3.2.6. Redukciona sposobnost (*Reducing Power, RP*)

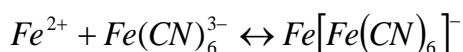
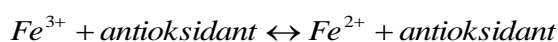
#### *Princip*

Redukciona sposobnost ekstrakata voća i galne kiseline, kao standardne antioksidativne komponente, određen je prema *Reducing power* metodi po *Oyaizu* (1986). Ova metoda se zasniva na praćenju redukcionne sposobnosti ispitivanog uzorka za transformaciju  $Fe^{3+} \rightarrow Fe^{2+}$ . Redukciona sposobnost ispitivanog uzorka najčešće se poredi sa redukcionom sposobnošću poznate antioksidativne komponente.

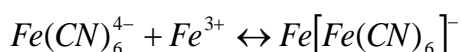
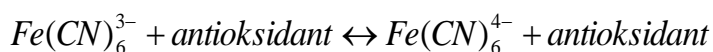
Za određivanje redukcionne sposobnosti korišćena je metoda po *Oyaizu* (1986), koja se zasniva na praćenju promene apsorbance u zavisnosti od koncentracije rastvora ekstrakata. Prisustvo redukujućih agenasa, odnosno antioksidanata, izaziva redukciju  $Fe^{3+}$  do  $Fe^{2+}$  jona. Redukciona sposobnost povezana je sa antioksidativnom aktivnošću i može da služi kao značajan indikator antioksidativne aktivnosti (*Lim i Quah, 2007*).

Ova metoda se zasniva na građenu obojenog produkta  $KFe[Fe(CN)_6]$  poznatog kao „prusko plavo”.

Ovaj produkt nastaje u reakciji  $Fe^{3+}$  ili  $Fe(CN)_6^{3-}$  jona sa antioksidantima:



ili



#### *Postupak*

U 1,25 cm<sup>3</sup> fosfatnog pufera i 1,5 cm<sup>3</sup> kalijum-heksacijanoferata(III) dodato je 0,5 cm<sup>3</sup> ekstrakta čija se moć redukcije ispituje. Smeša je inkubirana 20 minuta na 50°C. Nakon toga, dodato je 1,25 cm<sup>3</sup> trihlorsirćetne kiseline, razblaženo sa 4,25 cm<sup>3</sup> dejonizovane vode i

dodato 0,85 cm<sup>3</sup> rastvora gvožđe(III)-hlorida. Nakon 30 minuta merena je apsorbanca na 700 nm.

#### *Proračun*

Na osnovu izmerenih apsorbaneci uzoraka, sa kalibracione prave standardnog rastvora galne kiseline ( $A = 0,3114 [GA] + 0,0106$ ,  $n=6$ ,  $r^2=0,9991$ ) određena je sposobnost redukcije jona  $Fe^{3+}$  u  $Fe^{2+}$  a rezultat je izražen kao ekvivalent galne kiseline po 100 grama sveže mase (mg GAE/100 g).

### **3.3.3. HPLC analiza ekstrakata**

Tečna hromatografija sa UV/Vis i fluorescentnim detektorom visoke rezolucije (*High Performance Liquid Chromatography*, HPLC) primenjena je za razdvajanje i kvantifikaciju fenolnih jedinjenja u pripremljenim uzorcima. Izvršen je razvoj HPLC metode pri čemu su sledeći parametri pokazali najbolje rezultate. Hromatografsko razdvajanje izvršeno je na Eclipse XDB-C18 koloni (4,6mm x 150 mm) uz sistem rastvarača: A – (H<sub>2</sub>O+5%HCOOH) i B - (80%HCN+5%HCOOH+H<sub>2</sub>O). Razdvajanje komponenti je izvedeno primenom sledećeg linearnog gradijenta: 0-28 min, 0%B; 28-35 min, 25%B; 35-40 min, 50%B; 40-45 min, 80%B, i na kraju poslednjih 10 min ponovo 0%B. Protok mobilne faze je iznosio 0,8 cm<sup>3</sup>/min. Injektovano je 5 µl rastvora uzorka, automatski, korišćenjem autosempleta. Kolona je termostatirana na temperaturi od 30°C.

Fenolne komponente prisutne u uzorcima su identifikovane poređenjem njihovih retencionih vremena i spektara sa retencionim vremenom i spektrom standarda za svaku komponentu. Korišćeni su standardi: cijanidin-3-glukozida, hlorogenske kiseline, p-kumarne, kafene i ferulne kiseline, katehina, epikatehina, kvercetin i kamferola. Kvantitativno određivanje komponenata je izvršena metodom spoljašnjeg standarda. Za svaki pojedinačni standard je pripremljen osnovni rastvor standarda masene koncentracije 1,0 mg/cm<sup>3</sup>, rastvaranjem u 10% rastvoru metanola. Konstruisana je kalibraciona kriva, za svaki standard, na osnovu dobijenih površina u zavisnosti od masene koncentracije standarda. Iz dobijene jednačine linearne zavisnosti izračunate su masene koncentracije komponenti u uzorcima. Za komponente u uzorcima za koje nije bio dostupan standard, kvantifikacija je izvršena na osnovu kalibracione krive, po strukturi odgovarajućeg standarda.

Sve analize su izvršene u tri ponavljanja.

### 3.3.4. ICP-OES metoda

ICP-OES metoda je korišćena za kvalitativnu i kvantitativnu analizu uzoraka voća na sadržaj metalnih jona.

*Rastvori i reagensi:*

1. multi standard – Ultra scientific analytical solution USA,
2. HCl (1:1),
3. argon 5.0 (99,999% čistoće).

*Parametri metode:*

- snaga RF generator – 1150 W,
- brzina pumpe – 50 rpm,
- protok gasa za hlađenje – 12 L/min,
- protok raspršivača gasa – 0,7 L/min,
- pravac posmatranja plazme – aksijalni,
- vreme ispiranja – 30 s,
- tri probe za svaki uzorak,
- prikaz rezultata u ppm sa četiri značajne cifre.

Za svaki element čiji sadržaj je bilo potrebno odrediti, formirana je metoda tako što je izvršen izbor odgovarajućih parametara metode i odabirom više talasnih dužina. U cilju konstruisanja kalibracione prave koja daje zavisnost relativnog intenziteta signala na odgovarajućoj talasnoj dužini u funkciji od koncentracije analita, snimana je slepa proba (dejonizovana voda) i dva rastvora standarda različitih koncentracija dobijenih razblaživanjem osnovnog, referentnog standarda. Za svako merenje rađene su po tri probe.

Izbor najbolje, pa samim tim i radne talasne dužine vršen je na osnovu relativnog intenziteta signala kao mere osetljivosti metode, grešaka na odzivu standarda kao i na osnovu veličine interferiranja prisutnih elemenata u ovakvom realnom uzorku.

## ***4. Rezultati i diskusija***

#### **4.1. SADRŽAJ UKUPNIH FENOLA I FLAVONOIDA U EKSTRAKTIMA VOĆA**

U cilju ekstrakcije fenolnih jedinjenja i drugih antioksidanasa iz voća, najčešće se koristi aceton, metanol i etanol. Količina fenolnih jedinjenja u ekstraktu, kao i sastav ekstrakta u velikoj meri zavisi od tipa i polarnosti rastvarača (*Alothman i sar., 2009*). Takođe se pokazalo da je ekstrakcija rastvaračima koji sadrže vodu efikasnija od ekstrakcije apsolutnim rastvaračima. Jedinjenja iz klase biljnih fenola se veoma razlikuju po svojoj kiselosti i polarnosti.  $pK_a$  vrednosti ovih jedinjenja variraju od 8 do 12, pa je veoma često neophodno obezbediti i odgovarajuću pH vrednost sistema za ekstrakciju.

U ovom radu ekstrakcija je vršena metanolom i acetonom različitih koncentracija, sa i bez prisustva hlorovodonične kiseline različitih koncentracija. Za određivanje ukupnih fenola i ukupnih flavonoida korišćene su spektrofotometrijske metode.

*Folin-Ciocolteau* metoda za određivanje sadržaja ukupnih rastvorljivih fenola zasnovana je na redukcionoj sposobnosti fenolnih hidrosilnih grupa. Nedostatak metode je njena nedovoljna specifičnost, jer se fenoli detektuju sa različitom osetljivošću. U ovom radu, sadržaj ukupnih rastvorljivih fenola u ispitivanim ekstraktima je izražen kao ekvivalent galne kiseline (GAE).

Imajući u vidu veliku raznovrsnost jedinjenja koja spadaju u klasu flavonoida, kao i činjenicu da se većina nalazi vezana u obliku glikozida, teško je pronaći idealnu metodu za određivanje njihovog ukupnog sadržaja. U ovom radu, za određivanje sadržaja ukupnih flavonoida korišćena je metoda po *Markhamu*. Kao i u slučaju metode za određivanje ukupnih fenola i ova metoda pokazuje nejednaku selektivnost prema jedinjenjima ove klase, jer pozitivnu reakciju daju samo ona jedinjenja koja imaju dostupne o-dihidroksifenolne, 3-hidroksihromonske, 5-hidroksihromonske i o-hidroksikarbonilne funkcionalne grupe (*Mišan A., 2009*).

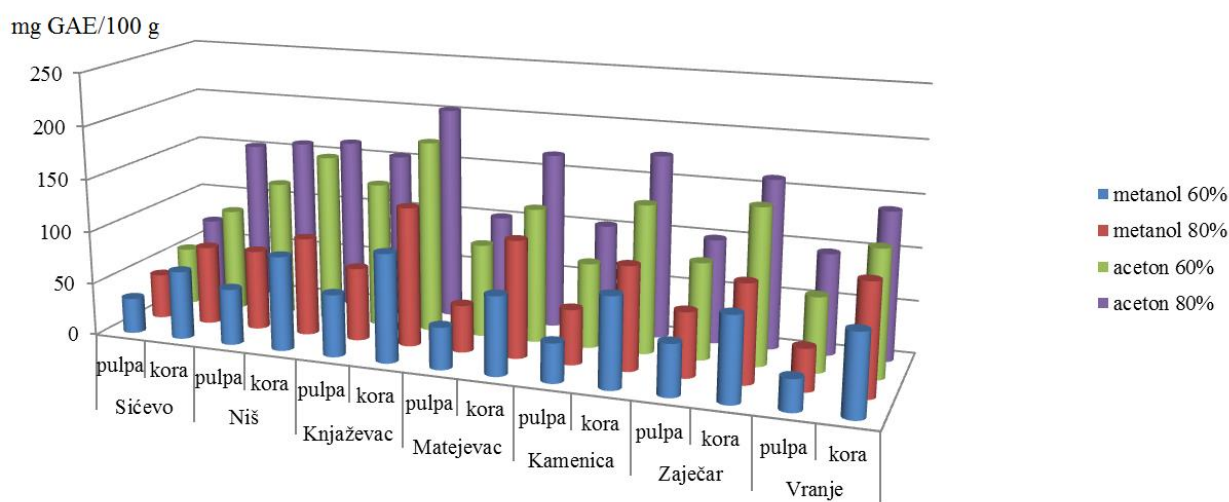


#### 4.1.1. Sadržaj ukupnih fenola i flavonoida u ekstraktima dunja

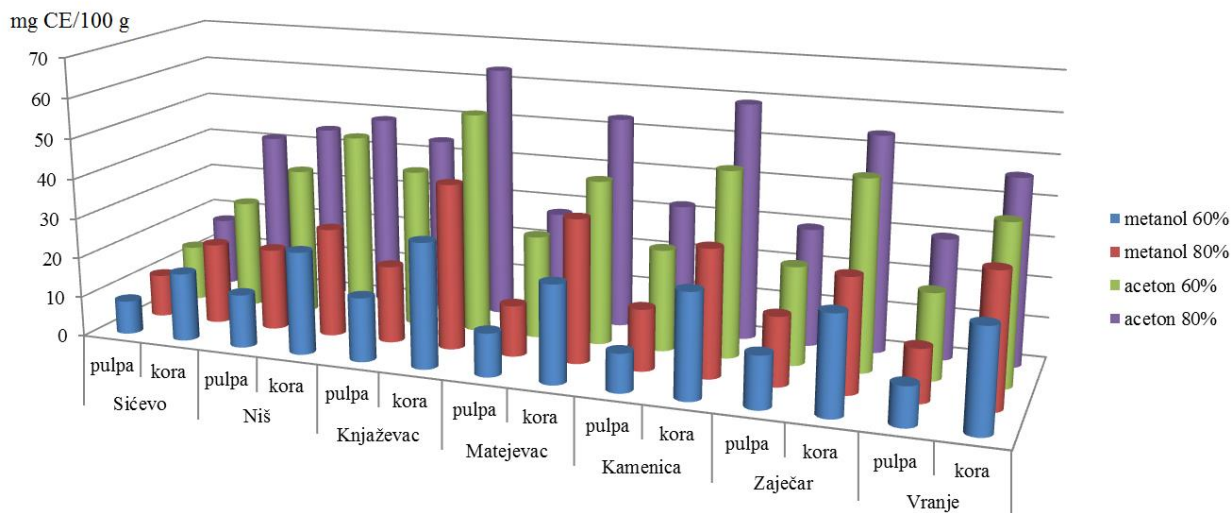
U cilju ispitivanja najpogodnijeg rastvarača kao i njegove koncentracije za ekstrakciju ukupnih fenola i flavonoida iz kore i pulpe dunja, ekstrakcija je vršena prema procedure opisanoj u poglavlju 3.3.1.1. u različitim rastvaračima: metanol 60%, metanol 80%, aceton 60% i aceton 80%. Uzorci dunja sorte Leskovačka uzimani su sa sedam različitih lokaliteta.

Na Slikama 4.1 i 4.2. prikazani su rezultati spektrofotometrijskog određivanja fenola i flavonoida u metanolnim i acetonskim ekstraktima kore i pulpe dunja sa sedam različitih lokaliteta.

Rezultati pokazuju da je aceton efikasniji rastvarač od metanola za ekstrakciju ukupnih fenola i flavonoida. Pri tome su najmanji sadržaji ukupnih fenola i flavonoida određeni u ekstraktima metanola 60%, a najveći u ekstraktima acetona 80%. Razlika u pogledu ukupnog sadržaja fenolnih jedinjenja u zavisnosti od ekstrakcionog sredstva je posledica različite polarnosti korišćenih rastvarača koji selektivno ekstrahuju pojedina fenolna jedinjenja.



**Slika 4.1.** Efekat rastvarača i njegove koncentracije na sadržaj ukupnih fenola (mg GAE/100 g s.m.) u metanolnim i acetonskim ekstraktima kore i pulpe dunja



**Slika 4.2.** Efekat rastvarača i njegove koncentracije na sadržaj ukupnih flavonoida (mg CE/100 g s.m.) u metanolnim i acetonskim ekstraktima kore i pulpe dunja

Mnoga istraživanja pokazuju da je aceton bolji rastvarač za ekstrakciju proantocijanidina, flavonoida i tanina, a metanol za fenolne kiseline i katehin (Chirinos *et al.*, 2007; Mane *et al.*, 2007; Spigno *et al.*, 2007; Tabart *et al.*, 2007). Ovi rezultati su u skladu sa polarnošću rastvarača (polarnost acetona je 0,355 a metanola 0,762). Vodeni rastvor acetona je dobar rastvarač za ekstrakciju polarnih antioksidanasa, a naročito je efikasan za ekstrakciju polifenola iz proteinskih matriksa, jer izgleda da razgrađuje polifenol-protein komplekse. Sa druge strane, metanol je efikasniji za ekstrakciju polifenola iz polarnih, vlaknastih matriksa (Chirinos *et al.*, 2007; Al Farsi i Lee, 2008). Takođe, Tan *i sar.*, (2013), Hismath *i sar.*, (2011), Uma *i sar.*, (2010), Fatiha *i sar.*, (2012), Matrines (2012), Alothman *i sar.*, (2009), su dokazali da je aceton bolji rastvarač od metanola za ekstrakciju ukupnih fenola i flavonoida iz uzoraka biljnog porekla (kako biljaka koje se primenjuju u medicini, tako i u uzorcima odabranih sorti tropskog voća), što je suprotno rezultatima Chirinos *i sar.*, (2007), koji su pokazali da je metanol bolji ekstragens od acetona za ukupne fenole a aceton za flavonoide iz uzoraka odabrane sorte pečuraka, dok su Mohdaly *i sar.*, (2010), dokazali da je metanol bolji ekstragens od acetona i za ukupne fenole i za flavonoide iz kore paradajza. Ovakve rezultate u pogledu izbora optimalnog rastvarača za ekstrakciju fenolnih jedinjenja iz različitih matriksa je potvrdio zaključak do kojeg se i u ovom radu došlo, a to je da vrsta voća i njihov fenolni sastav imaju bitan uticaj na efikasnost ekstrakcije.

Efikasnost ekstrakcije zavisi i od koncentracije rastvarača. U literaturi se mogu naći različite koncentracije acetona, pri kojima se postiže najefikasnija ekstrakcija biljnog

materijala. *Martines* (2012), navodi da je sa 90% (v/v) acetonom najefikasnija ekstrakcija za određivanje sadržaja TP i TF; *Chirinos i sar.*, (2007), navode istu koncentraciju kao optimalnu za određivanje sadržaja TF, dok 90% (v/v) metanol favorizuju za određivanje sadržaja TP; *Alothman i sar.*, 2009, takođe navode 90% aceton kao najefikasniji za određivanje sadržaja TP, a za određivanje TF 70% i 90% (v/v) aceton, u zavisnosti od vrste ispitivanih biljnih uzoraka. *Brahmi i sar.*, (2012), ističu 75% aceton (v/v) za određivanje sadržaja TP i TF; mnogi autori navode 60% (v/v) aceton kao najefikasniji ekstragens (*Hismath i sar.*, 2011; *Uma i sar.*, 2010). Nižu koncentraciju acetona 40% (v/v) kao optimalnu za određivanje TP publikovali su *Tan i sar.*, (2013). Svi predhodno navedeni autori ističu veću efikasnost binarnog ekstragensa aceton-voda, u odnosu na čist aceton. Jedan od mogućih razloga (osim povećanja polarnosti) za povećanje efikasnosti u prisustvu vode je bubrenje biljnog materijala, što povećava kontaktnu površinu između biljnog matriksa i rastvarača (*Hemwimon i sar.*, 2007).

Rezultati spektrofotometrijskog određivanja sadržaja ukupnih fenola i flavonoida u acetonском ekstraktu (80%), koji se pokazao kao najefikasniji ekstragens, kore i pulpe dunje prikazani su u Tabeli 4.1., dok su svi podaci dati u Tabeli 8.1. (Prilog). U Tabeli 4.2. dat je literaturni pregled sadržaja ukupnih fenola dunja sa različitog područja od strane različitih istraživača u cilju diskusije i poređenja rezultata dobijenih u ovom radu.

Sadržaj ukupnih fenola u pulpi dunja se kreće od 71,03 mg GAE/100g sveže mase voća (s.m.) u dunji sa područja Sićeva do 158,89 mg GAE/100g s.m. u dunji sa područja Niša. U ispitivanim uzorcima može se videti da postoji izvesna varijacija u njihovim sadržajima u zavisnosti od lokaliteta uzoraka. Poznato je da na sadržaj polifenolnih jedinjenja utiče vrsta voća, zrelost voća ali i uslovi gajenja. Spoljašnji faktori poput svetlosti, temperature, prisustva hranljivih materija u zemljištu imaju bitan uticaj na sastav i količinu fenolnih jedinjenja. Dobijene vrednosti sadržaja ukupnih fenola u pulpi dunja su uporedive sa literaturnim podacima koje su objavili *Silva i sar.*, (2004), znatno veći od vrednosti koje su dobili isti autori (2002), odnosno *Fattouch i sar.*, (2007), ali su i isto vreme manji od rezultata drugih autora (*Hamazu i sar.*, 2005; *Magalhaes i sar.*, 2009) (Tabela 4.2.).

**Tabela 4.1.** Sadržaj ukupnih fenola (TP) i flavonoida (TF) acetonskih ekstrakata (80%, v/v) pulpe i kore dunja i njihov odnos (TP/TF)

Lokacija	Deo voća	TP <sup>1</sup> , mg GAE/100g s.m.	TF <sup>2</sup> , mg CE/100g s.m.	TF/TP
Sićevo	Kora	152,56±1,12 <sup>3</sup>	41,23±0,17 <sup>3</sup>	0,27
	Pulpa	71,03±0,74	17,28±0,14	0,24
Niš (Vinik)	Kora	163,43±1,09	48,39±0,18	0,29
	Pulpa	158,89±1,11	44,65±0,18	0,28
Knjaževac	Kora	202,92±1,18	63,41±0,22	0,31
	Pulpa	153,69±1,06	43,91±0,17	0,28
Matejevac	Kora	166,80±1,02	53,12±0,19	0,31
	Pulpa	101,79±0,99	27,50±0,12	0,27
Kamenica	Kora	174,26±1,06	59,08±0,18	0,33
	Pulpa	102,92±0,95	32,27±0,15	0,31
Zaječar	Kora	160,47±1,09	53,76±0,17	0,33
	Pulpa	99,36±0,86	29,38±0,14	0,29
Vranje	Kora	140,12±1,04	46,19±0,18	0,32
	Pulpa	95,98±0,88	29,99±0,14	0,31

<sup>1</sup>mg ekvivalenta galne kiseline/100 g sveže mase; <sup>2</sup>mg katehin ekvivalenta/100 g sveže mase; <sup>3</sup>srednja vrednost±SD (n=3)

Sadržaj ukupnih fenola u kori dunje se kreće od 140,12 mg GAE/100 g s.m. do 202,92 mg GAE/100 g s.m. Sadržaj fenolnih komponenti u kori dunje sa područja Knjaževca je 1,44 puta veći od uzoraka sa područja Vranja, a kod dunja sa područja Sićevo je čak 2,15 puta veći u odnosu na pulpu. Povećani sadržaj polifenola u kori se može povezati sa nizom hemijskih i enzimskih promena tokom sazrevanja voća (*Orazem i sar., 2011*).

Dobijene vrednosti sadržaja ukupnih fenola u kori dunja su uporedive sa vrednostima tunižanskih dunja (*Fattouch i sar., 2007*), ali su manje od rezultata koje su objavili *Magalhaes i sar., (2009)*, *Karadeniz i sar., (2005)* kao i *Silva i sar., (2004)*. Dosta niži sadržaj u ekstraktima ploda dunje od 11,9 mg GAE/100 g s.m. odredili su *Tzanakis i sar., (2006)*.

**Tabela 4.2.** Literaturni pregled određivanja sadržaja ukupnih fenola (TP) u uzorcima dunja izražen u mg GAE/100 g svežeg voća

Zemlja	Ekstragens	deo dunje	TP	Literatura
Japan	80% aceton	plod	302,7	<i>Hamazu i sar., 2005</i>
Portugal	30% metanol	pulpa	150,34	<i>Silva i sar., 2004</i>
		kora	708,71	
Tunis	75% aceton	pulpa	37-47	<i>Fattouch i sar., 2007</i>
		kora	105-157	
Portugal	metanol	pulpa	250	<i>Magalhaes i sar., 2009</i>
		kora	630	
Grčka	metanol	plod	11,9-24,9	<i>Tzanakis i sar., 2006</i>
Turska	70% metanol	plod	282,3-430,6	<i>Karadeniz i sar., 2005</i>

Rezultati spektrofotometričkog određivanja sadržaja ukupnih flavonoida u acetonskim (80 % v/v) ekstraktima pulpe i kore dunja kreće se od 17,28 do 44,65 odnosno od 41,23 do 63,41 mg CE/100 g s.m. Ovo su niži rezultati od onih koji su objavili *Karadeniz i sar., 2005* (119,8-211,5 mg CE/100g s.m.). Iz Tabele 4.1. se može videti da znatan udeo flavonoida (TF/TP) u ukupnom sadržaju polifenola u pulpi i kori dunja, i da taj udeo varira u dosta uskom interval od 24% do 33%. *Teng i sar., (2010)* su odredili sadržaj TF od 23% od sadržaja TF.

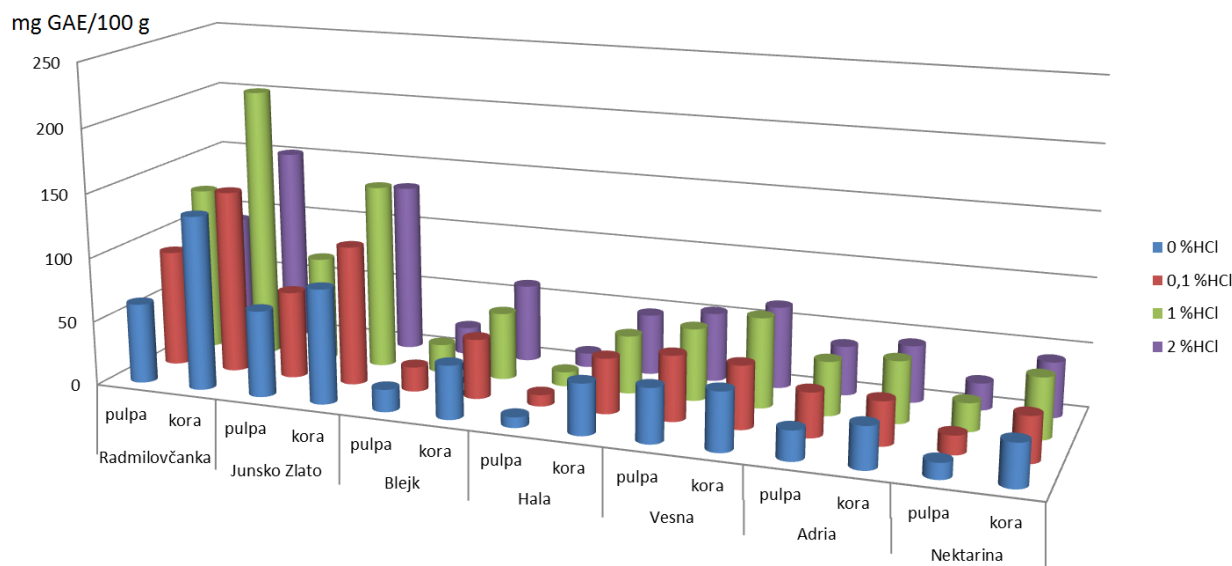
Flavonoidi su najzastupljenija fenolna jedinjenja i u prirodi se nalaze uglavnom u obliku glikozida, tj. povezani su sa različitim molekulima šećera. U prirodi se najčešće nalaze monoglikozidi flavonoida, dok su diglikozidi i triglikozidi znatno ređi. Mnogi od njih povoljno utiču na različite funkcije u organizmu i unapređuju zdravlje. Flavonoidi takođe igraju važnu ulogu u ljudskoj ishrani, pre svega zbog njihovog jakog antioksidativnog kapaciteta.

#### **4.1.2. Sadržaj ukupnih fenola i flavonoida u ekstraktima bresaka**

U cilju ispitivanja uticaja kiselosti ekstragensa na sadržaj fenolnih jedinjenja u kori i pulpi bresaka, ekstrakcija je vršena acetonom (80%, v/v) sa različitim koncentracijama hlorovodonične kiseline: 0%, 0,1%, 1,0% i 2,0%. Za ekstrakciju je uzeto šest sorti bresaka (Radmilovčanka, Junsko zlato, Blejk, Hala, Vesna i Adria) i jedna sorta nektarina (Fantazija). Ovakav izbor uzoraka je imao za cilj da se vidi da li postoji razlika u sadržaju fenolnih jedinjenja zavisno od sorte voća. Takođe, uzeti su i uzorci različitih tipova vinogradarskih bresaka sa istog lokaliteta (Nišavski region), u cilju provere razlike između sortnih i vinogradarskih bresaka. U ovom slučaju uzeti su metanolni ekstrakti ploda vinogradarskih bresaka. Naša predhodna ispitivanja su pokazala da je apsolutni metanol najbolji ekstragens za vinogradarske breskve, razlog tome je njihov specifičan sastav, što su potvrdili i naši rezultati prezentovani u delu 4.2.2.

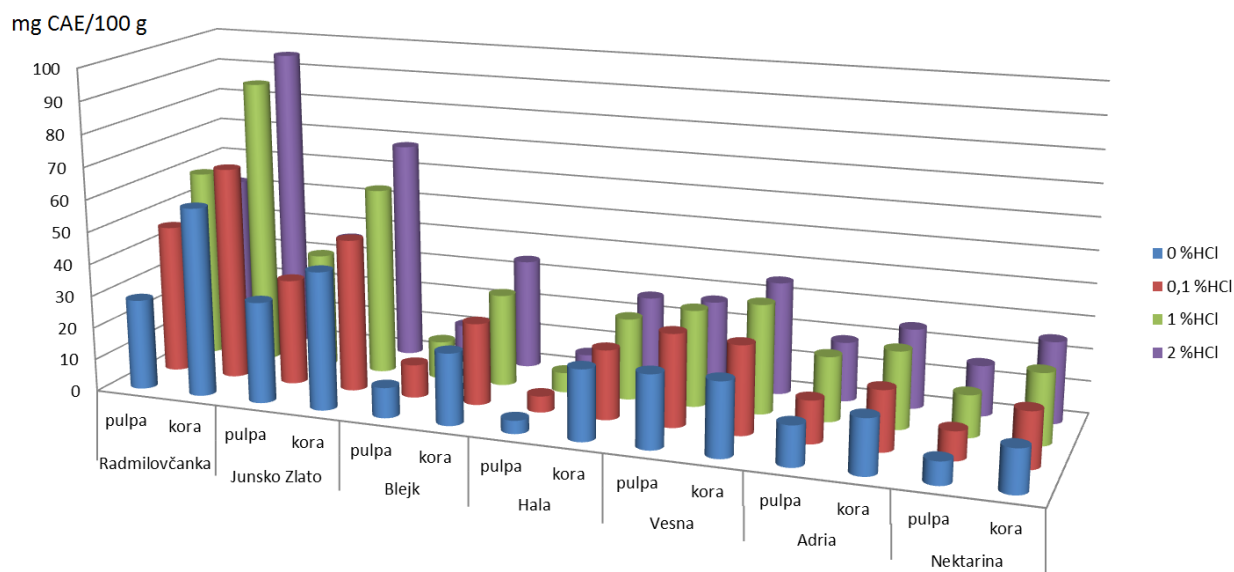
Na Slici 4.3. prikazani su rezultati spektrofotometrijskog određivanja fenola u acetonskim ekstraktima sa različitim sadržajem HCl pulpe i kore šest sorti bresaka i jedne sorte nektarine.

Sadržaj ukupnih fenola u velikoj meri zavisi od kiselosti rastvarača koji se koristi za ekstrakciju. Dobijeni rezultati pokazuju da se fenolna jedinjenja iz pulpe najbolje ekstrakuju 80% acetonom sa 1% HCl (za Blejk, Hala i Nektarinu ne postoje signifikantne razlike u pogledu sadržaja ukupnih fenola u ekstraktima sa 1% i 2% HCl). Za ekstrakciju fenolnih jedinjenja iz kore je bolje koristiti 80% aceton sa 1% ili 2% HCl u odnosu na aceton sa 0% i 0,1% HCl. Razlika u pogledu najoptimalnije kiselosti rastvarača za ekstrakciju je posledica različitog sastava kore i pulpe voća, što je potvrđeno HPLC analizom ispitivanih ekstrakata kore i pulpe bresaka (deo 4.2.2).



**Slika 4.3.** *Efekat koncentracije kiseline HCl na sadržaj ukupnih fenola (mg GAE/100 g s.m.) u acetonskim ekstraktima kore i pulpe bresaka*

Rezultati spektrofotometrijskog određivanja sadržaja ukupnih flavonoida u acetonskim ekstraktima (80%, v/v) sa različitom koncentracijom HCl, pripremljenih kao što je opisano u poglavlju 3.3.1.1. prikazani su na Slici 4.4. Dobijeni rezultati preračunati su na masu polaznog uzorka. Rezultati ukazuju na to da se svi ispitivani ekstrakti značajno razlikuju u pogledu sadržaja flavonoida, kada se u rastvaraču za ekstrakciju menja sadržaj kiseline HCl kao i na to da je ekstrakciju flavonoida iz pulpe potrebno vršiti u prisustvu 1% HCl a iz kore u prisustvu 2% HCl, kada dolazi do značajnog povećanja njihovog sadržaja u odnosu na ostale slučajeve ekstrakcije, kod većine uzoraka.



**Slika 4.4.** Efekat koncentracije kiseline HCl na sadržaj flavonoida (mg CE/100 g s.m.) u acetonskim ekstraktima kore i pulpe bresaka.

U Tabeli 4.3. su prikazani rezultati određivanja ukupnih fenola i flavonoida u 80% acetonском ekstraktu sa 1 % HCl za pulpu i 2 % HCl za koru ispitivanih sorti bresaka, koji su se pokazali kao najefikasniji estragensi, dok su svi podaci dati u Tabeli 8.2. (Prilog). U Tabeli 4.4. je dat literaturni pregled sadržaja ukupnih fenola bresaka sa različitog područja od strane različitih istraživača u cilju diskusije i poređenja rezultata dobijenih u ovom radu.



**Tabela 4.3.** Sadržaj ukupnih fenola (TP) i flavonoida (TF) acetonskih ekstrakata kore i pulpe bresaka i njihov odnos (TP/TF)

Sorta	Deo voća	TP <sup>1</sup> mg GAE/100g s.m.	TF <sup>2</sup> mg CE/100g s.m.	TP/TF
<b>Radmilovčanka</b>	Kora <sup>a</sup>	211,43±1,11 <sup>3</sup>	94,95±1,03 <sup>3</sup>	0,44
	Pulpa <sup>b</sup>	128,49±1,32	58,88±0,97	0,45
<b>Junsko Zlato</b>	Kora <sup>a</sup>	131,69±1,21	68,12±0,74	0,51
	Pulpa <sup>b</sup>	81,41±1,01	35,64±0,32	0,43
<b>Blejk</b>	Kora <sup>a</sup>	60,69±0,75	34,20±0,43	0,56
	Pulpa <sup>b</sup>	21,33±0,17	11,13±0,28	0,52
<b>Hala</b>	Kora <sup>a</sup>	47,21±0,35	26,32±0,37	0,55
	Pulpa <sup>b</sup>	11,08±0,28	4,99±0,19	0,42
<b>Vesna</b>	Kora <sup>a</sup>	69,74±0,72	35,04±0,29	0,50
	Pulpa <sup>b</sup>	55,94±0,61	29,93±0,65	0,53
<b>Adria</b>	Kora <sup>a</sup>	44,18±0,81	23,87±0,19	0,54
	Pulpa <sup>b</sup>	41,71±0,82	19,98±0,14	0,45
<b>Nektarina</b>	Kora <sup>a</sup>	42,67±0,54	21,89±0,21	0,51
	Pulpa <sup>b</sup>	20,91±0,62	12,59±0,12	0,60

<sup>1</sup>mg ekvivalenta galne kiseline/100 g sveže mase; <sup>2</sup>mg katehin ekvivalenta/100 g sveže mase; <sup>3</sup>srednja vrednost±SD (n=3); <sup>a</sup>acetonski ekstrakti sa 2% HCl; <sup>b</sup>acetonski ekstrakti sa 1% HCl

Određena količina ukupnih fenola u navedenim sortama bresaka i nektarine kreće se u opsegu od 11,08 do 128,49 mg GAE/100 g s.m. za ekstrakte pulpe, i od 42,67 do 211,43 mg GAE/100 g s.m. za ekstrakte kore. Od svih ispitivanih sorti bresaka, Radmilovčanka pokazuje najviši fenolni sadržaj, kako pulpe, tako i kore (128,49 i 211,43 mg GAE/100 g s.m.), dok je najmanji sadržaj pokazala Hala (11,08 i 47,21 mg GAE/100 g s.m.). Sadržaj ukupnih fenola u ispitivanim uzorcima je veći od onog u sorti *Redhaven* (5,1-10,69 mg GAE/100 g s.m. u pulpi i 14,9-30,4 mg GAE/100 g s.m. u kori) (*Orazem i sar., 2011*), kao i u sortama koje su ispitivali *Thomas-Barberan i sar., (2001)*; *Scordino i sar., (2012)*, dok su *Chang i sar., (2000)* odredili sadržaj ukupnih fenola u opsegu od 41,5-76,5 mg GAE/100 g s.m. za ekstrakte pulpe i 87,7-189,6 mg GAE/100 g s.m. za ekstrakte kore. *Cantin i sar., (2009)*, *Abidi i sar., (2011)* i *Infante i sar., (2011)* su objavili rezultate koji su u skladu sa našim (Tabela 4.4.).

Povećan sadržaj fenola u pulpi može biti povezan sa serijom enzimskih alternacija pojedinih fenola tokom sazrevanja (*Remorini i sar., 2008*). Značajne razlike u sadržaju fenola kod oba dela ploda su konstantovane među ispitivanim sortama. Varijacija sadržaja fenolnih

jedinjenja voća su posledica delovanja velikog broja faktora, koji pored genetskih uključuje i područje kultivacije kao i mnogobrojne faktore životne sredine.

**Tabela 4.4.** Literaturni pregled određivanja sadržaja ukupnih fenola (TP) u uzorcima bresaka izražen u mg/100 g svežeg voća

Zemlja	Sorta breskve	Ekstragens	Deo breskve	TP	Literatura
Slovenija	Redhaven	metanol	pulpa	5,1-10,69	<i>Orazem i sar., 2011</i>
			kora	14,9-30,4	
SAD	Corona, Kakamas, Ross	80% metanol	pulpa	41,5-76,5	<i>Chang i sar., 2000</i>
			kora	87,7-189,6	
Španija	Big Top, Calante...	80% metanol	pulpa	12,7-71,3	<i>Cantin i sar., 2009</i>
Španija	Venus, Big Top	80% metanol	pulpa	22,5-49,2	<i>Abidi i sar., 2011</i>
Čile	Elegant Lady, Carson	80% metanol	pulpa	25,62-41,03	<i>Infante i sar., 2011</i>
SAD	Atric Star, Red Jim	80% metanol	pulpa	6,5-46,0	<i>Thomas-Barberan i sar. 2001</i>
			kora	48,3-72,7	
Italija	Riesi, Maniace, Leonforte	50% metanol	pulpa	2-5	<i>Scordino i sar, 2012</i>
			kora	11-28	

Ekstrakti se takođe veoma razlikuju i u sadržaju flavonoida, i u ovom slučaju Radmilovčanka je sorta breskve čija pulpa i kora sadrže najveću količinu flavonoida u odnosu na ostale ispitivane sorte bresaka (58,88 mg CE/100 g s.m. za pulpu i 94,95 mg CE/100 g s.m. za kora). Najmanji sadržaj TF određen je u sorti Hala u ekstraktima pulpe (4,99 mg CE/100 g s.m.), dok je najmanji sadržaj TF u ekstraktima kore nađen kod nektarine Fantazia (21,89 mg CE/100 g s.m.). *Cantin i sar.* (2009) takođe objavljuju širok opseg sadržaja flavonoida u pulpi bresaka (1,8-30,9 mg CE/100 g s.m.), kao i *Abidi i sar.* (2011) (5,9-33,8 mg CE/100 g s.m.). Kao kod sadržaja TP, sadržaj TF je veći u kori nego u pulpi. *Cevallos-Casals i sar.*, (2006) ističu da sadržaj fenolnih komponenti varira među različitim

delovima istog voća i da su fenoli u najvećoj meri skoncentrisani u epidermalnom i sub-epidermalnom sloju voća. Veće koncentracije fenolnih komponenata u kori breskve u odnosu na pulpu su odredili i drugi autori (*Thomas-Barberan i sar., 2001; Scordino i sar., 2012*). S druge strane, veliki broj istraživača ukazuje da uslovi gajenja i kasnijeg tretanja voća u značajnoj meri utiču na sadržaj flavonoida. Ipak, u prvom redu je sadržaj i sastav flavonoida genetski uslovljen.

Populacija vinogradarske breskve u Srbiji pokazuje veliku genetsku variabilnost tipova različite upotrebne vrednosti. Plodovi se koriste u svežem stanju ili kao sirovina za preradu. Plodovi vinogradarske breskve odlikuju se specifičnim ukusom i mirisom, što ih čini jedinstvenim u okviru vrste.

U ovom radu ispitano je pet različitih tipova vinogradarskih bresaka. Pripadnost određenom tipu određena je na osnovu oblika ploda, maljavosti pokožice (kore), osnovne boje pokožice i dopunske boje pokožice (*Nikolić i sar., 2005; Bellini i sar., 1984*) (Tabela 4.5.).

**Tabela 4.5. Morfološke karakteristike vinogradarskih bresaka**

Uzorak	Tip	Lokacija	Oblik ploda <sup>1</sup>	Maljavost pokožice <sup>2</sup>	Osnovna boja pokožice <sup>3</sup>	Dopunska boja pokožice <sup>4</sup>
1	I / 8	Sićevo	4	7	5	4
2	I / 1	Trgovište	3	5	4	0
3	I / 5	Brestovac	3	7	4	0
4	I / 14	Kamenica	5	7	5	4
5	II / 8	Rastovnica	3	7	5	5

<sup>1</sup>Oblik ploda: 3-okrugao, 4-jajast, 5-ovalan; <sup>2</sup>Maljavost pokožice: 5-srednja, 7-visoka; <sup>3</sup>Osnovna boja pokožice: 4-krem-žuta, 5-žuta; <sup>4</sup>Dopunska boja pokožice: 0-odsutna, 4-crvene šare, 5-delimično prisustvo crvenila

Količina ukupnih fenola u metanolnim ekstraktima ploda (pulpa+kora) vinogradarskih bresaka (Tabela 4.6.) je od 89,10 do 355,00 mg ekvivalenta galne kiseline u 100 g svežeg voća, čini ovu vrstu voća veoma bogatim izvorom prirodnih fenola. Sadržaj ukupnih fenola u uzorku 1 se značajno razlikuje od ostalih ( $p < 0,05$ ). Količine ukupnih fenola u uzorcima 3, 4 i 5 su signifikantno veće u odnosu na preostale dve vrste vinogradarskih bresaka i među njima nema značajne razlike. Sadržaj ukupnih fenola u uzorku 4 je 3,98 puta veći u odnosu na sadržaj fenola u uzorku 1.

**Tabela 4.6.** Sadržaj ukupnih fenola (TP) i flavonoida (TF) u metanolnim ekstraktima vinogradarskih bresaka i njihov odnos (TP/TF)

Uzorak	Tip	Ukupni fenoli <sup>1</sup> mg GAE/100g s.m.	Ukupni flavonoidi <sup>2</sup> mg CE/100g s.m.	TF/TP
1	I / 8	89,10 ± 3,84 <sup>c,3</sup>	45,07 ± 3,82 <sup>e</sup>	0,51
2	I / 1	197,10 ± 11,62 <sup>b</sup>	105,07 ± 2,58 <sup>d</sup>	0,53
3	I / 5	339,40 ± 19,18 <sup>a</sup>	260,80 ± 10,03 <sup>b</sup>	0,76
4	I / 14	355,00 ± 21,12 <sup>a</sup>	281,70 ± 3,67 <sup>a</sup>	0,79
5	II / 8	331,20 ± 18,53 <sup>a</sup>	205,97 ± 4,81 <sup>c</sup>	0,62

<sup>1</sup>mg ekvivalenta galne kiseline/100 g sveže mase; <sup>2</sup>mg katehin ekvivalenta/100 g sveže mase; <sup>3</sup>srednja vrednost±SD (n=3); <sup>3</sup>brojevi označeni različitim slovima u koloni se signifikantno razlikuju kada se koristi Duncan-ov test višestrukih interval (p<0,05)

Sadržaj flavonoida je takođe prikazan u Tabeli 4.6. Uzorak 4 (tip I/14) pokazuje najveći sadržaj flavonoida od 281,70 mg CE/100g s.m. a uzorak 1 (I/8) najmanji od 45,07 mg CE/100g s.m. Korišćenjem *Duncan*-ovog testa višestrukih intervala jasno se uočavaju razlike u sadržaju flavonoida između svih uzoraka (p<0,05). I u ovom slučaju, sadržaj ukupnih flavonoida u uzorku 4 je 5,70 puta veći u odnosu na sadržaj flavonoida u uzorku 1. Vinogradarske breskve se odlikuju i značajnim udelom flavonoida u ukupnom sadržaju polifenola u njima.

#### 4.1.3. Sadržaj ukupnih fenola i flavonoida u ekstraktima jabuka

U cilju ispitivanja uticaja sorte jabuka na sadržaj ukupnih fenola i flavonoida uzet je plod (pulpa+kora) petnaest sorti jabuka. Ekstrakcija blenderom homogenizovanog voća je vršena prema proceduri datoj u delu 3.3.1.1. metanolom sa 0,1% HCl (v/v). Izbor rastvarača za ekstrakciju fenola iz jabuka, metanola je prvenstveno izvršen na osnovu predpostavljene efikasnosti i literaturnih podataka (*Tsao i sar., 2003., Valavandis i sar., 2009*). Takođe, u cilju ispitivanja uticaja sadržaja HCl u metanolnim ekstraktima na sadržaj ukupnih fenola i flavonoida, uzeti su uzorci kore pet crvenih sorta jabuka i ekstrahovani metanolom sa 0%, 0,1%, 1,0% i 2,0% HCl.

Najpre su određeni ukupni fenoli i flavonoidi u ekstraktima ploda jabuka, a rezultati spektrofotometrijskog određivanja prikazani u Tabeli 4.7.

Rezultati pokazuju da je najveći sadržaj fenolnih jedinjenja u Kožari (217,37 mg GAE/100 g), zatim sledi Čadel i Ajdared. Najmanji sadržaj uočen je u Breburnu (72,80 mg GAE/100 g). Korišćenjem Duncan-ovog testa višestrukih intervala jasno se uočavaju razlike u sadržaju ukupnih fenola u ispitivanim sortama jabuka ( $p < 0,05$ ). Dosta autora je objavilo rezultate koji su u skladu sa našim (*Valvanidis i sar., 2009*; *Li i sar., 2013*; *Wolfe i sar., 2003*; *Drogoudi i sar., 2008*). Nešto niži sadržaj TP saopštili su *Ayub Ali i sar., (2010)*, *Oszmianski i Wojdylo (2008)*, dok su *Imeh i Khochar (2002)* i *Rop i sar., (2011)* odredili nešto viši sadržaj (Tabela 4.8.).

Najveći sadržaj TF je određen u plodu sorte Greni Smit od 111,82 mg CE/100 g s.m., dok je najmanji određen kod sorte Breburn od 37,2 mg CE/100 g s.m. Naši rezultati su u skladu sa rezultatima koje su objavili *Karadeniz i sar., (2005)* (28,2-82,3 mg CE/100 g s.m.).

Na osnovu rezultata ovog rada kao i literaturnim pregledom radova (Tabela 4.8) u kojima je određivan sadržaj ukupnih fenola može se zapaziti da u sadržajima fenolnih jedinjenja postoji dosta varijacije i da ne postoji pravilnost u promeni sadržaja. Takve varijacije u pogledu sadržaja fenolnih jedinjenja u uzorcima različitih sorti jabuka, su samo potvrdile rezultate i zaključke do kojih se i u ovom radu došlo, a to je da sorta voća i geografsko poreklo imaju važan uticaj na njegov konačan fenolni sastav.

**Tabela 4.7.** Sadržaj ukupnih fenola (TP) i flavonoida (TF) u ekstraktima ploda jabuka i njihov odnos (TP/TF)

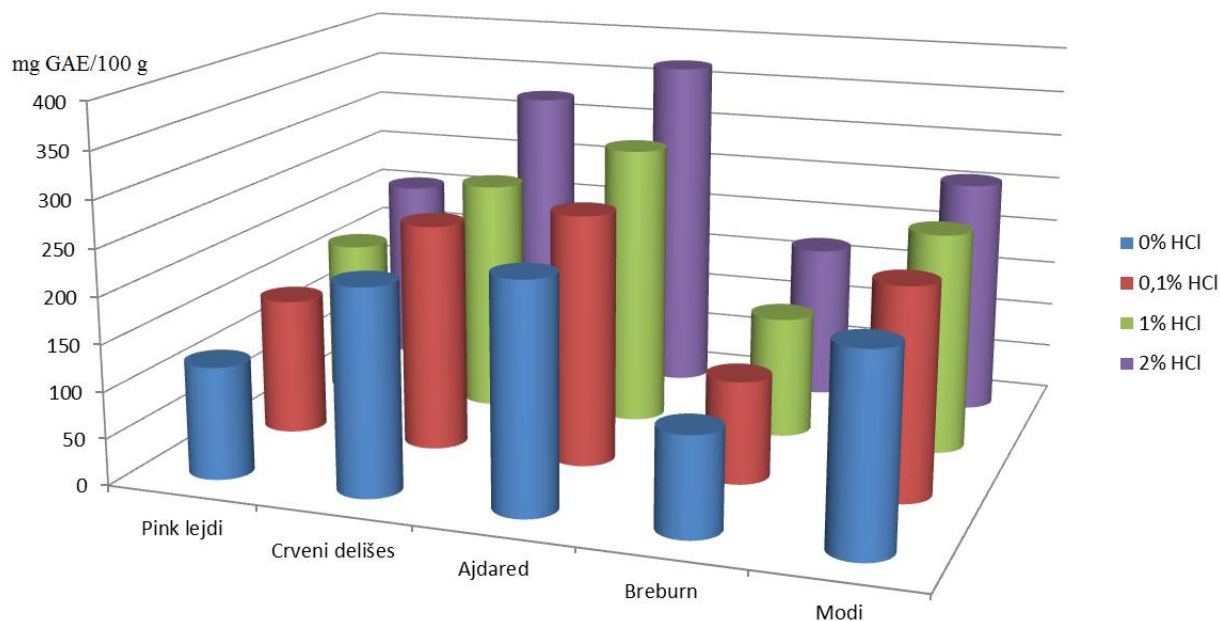
Sorta jabuke	TP <sup>1</sup> mg GAE/100 g s.m.	TF <sup>2</sup> mg CE/100 g s.m.	TF/TP
Jonatan	134,45 ± 1,31 <sup>h3</sup>	74,73 ± 0,89 <sup>d</sup>	0,55
Gloster	86,43 ± 1,15 <sup>j</sup>	53,10 ± 0,85 <sup>g</sup>	0,61
Melroz	84,99 ± 1,51 <sup>j</sup>	60,83 ± 1,28 <sup>f</sup>	0,72
Crveni Delišes	86,90 ± 1,17 <sup>j</sup>	55,82 ± 0,87 <sup>gf</sup>	0,64
Zlatni Delišes	179,88 ± 0,97 <sup>f</sup>	106,99 ± 1,76 <sup>a</sup>	0,59
Greni Smit	196,65 ± 0,93 <sup>e</sup>	111,82 ± 2,44 <sup>a</sup>	0,57
Šarunka	160,87 ± 1,11 <sup>g</sup>	69,63 ± 4,22 <sup>de</sup>	0,43
Gala	93,50 ± 1,08 <sup>i</sup>	41,97 ± 0,44 <sup>h</sup>	0,49
Jonagold	129,29 ± 0,98 <sup>h</sup>	59,50 ± 0,68 <sup>gf</sup>	0,46
Ajdared	202,28 ± 1,11 <sup>c</sup>	67,05 ± 0,77 <sup>ef</sup>	0,33
Breburn	72,80 ± 1,56 <sup>k</sup>	37,20 ± 0,35 <sup>h</sup>	0,51
Mucu	133,50 ± 1,32 <sup>h</sup>	54,48 ± 1,39 <sup>gf</sup>	0,41
Čadel	212,10 ± 1,14 <sup>b</sup>	82,57 ± 0,08 <sup>c</sup>	0,39
Kožara	217,37 ± 1,11 <sup>a</sup>	95,88 ± 3,02 <sup>b</sup>	0,44
Red Čif	199,82 ± 1,62 <sup>d</sup>	76,46 ± 1,66 <sup>dec</sup>	0,38

<sup>1</sup>mg ekvivalenta galne kiseline/100 g sveže mase; <sup>2</sup>mg katehin ekvivalenta/100 g sveže mase; <sup>3</sup>srednja vrednost±SD (n=3); <sup>3</sup>brojevi označeni različitim slovima u koloni se značajno razlikuju kada se koristi Duncan-ov test višestrukih interval (p<0,05)

**Tabela 4.8.** Literaturni pregled određivanja sadržaja ukupnih fenola (TP) u uzorcima jabuka izražen u mg/100 g svežeg voća

Zemlja	Sorta	Ekstragens	Deo jabuke	TP	Literatura
<b>Velika Britanija</b>	Breburn, Fudži	50% metanol	plod	300-535	<i>Imeh i Khokhar, 2002</i>
<b>Češka</b>	10 sorti	80% metanol	plod	146-329	<i>Rop i sar., 2011</i>
<b>Grčka</b>	Crveni i Zlatni Delišes, Jonagold...	90% metanol	plod	80-196	<i>Valvanidis i sar., 2009</i>
			kora	165-400	
<b>Kina</b>	Fudži i Zlatni Delišes	voda	plod	140,40-163,18	<i>Li i sar., 2013</i>
<b>Poljska</b>	53 sorte	50% metanol	kora	77,78-184,2	<i>Lata i sar., 2005</i>
<b>SAD</b>	Rome Beauty, Cortlad...	80% aceton	kora	309,1-589,9	<i>Wolfe i sar., 2003</i>
			plod	119,0-159,0	
<b>Grčka</b>	Greni Smit, Starkimson	80% metanol	plod	70,5-163,8	<i>Drogoudi i sar., 2008</i>
			kora	285,7-630,0	
<b>India</b>	/	50% etanol	plod	21,53	<i>Ayub Ali i sar., 2010</i>
<b>SAD</b>	10 sorti	12% etanol	kora	30,2-62,3	<i>Barbosa i sar., 2012</i>
			pulpa	4,7-14,3	
<b>Rumunija</b>	19 sorti	80% metanol	kora	159,1-547,6	<i>Delian i sar., 2011</i>
<b>Italija</b>	Limoncella	metanol	kora	76,0	<i>D'Abrosca i sar., 2007</i>
<b>Brazil</b>	Zlatni Delišes	80% aceton	kora	107,4	<i>Vieira i sar., 2011</i>
			pulpa	61,7	
<b>Španija</b>	Reineta i Zlatni Delišes	80% metanol	kora	237,9-334,6	<i>Escarpa i Gonzales</i>
<b>Poljska</b>	Zlatni Delišes	90% etanol	kora	107,4	<i>Leontowicz i sar., 2003</i>
			pulpa	61,7	
<b>Poljska</b>	Šampion i Ajdared	80% metanol	plod	34,54-50,32	<i>Oszmianski i Wojdylo, 2008</i>
<b>Turska</b>	Gloster, Greni Smit...	70% metanol	plod	54,1-133,3	<i>Karadeniz i sar., 2005</i>

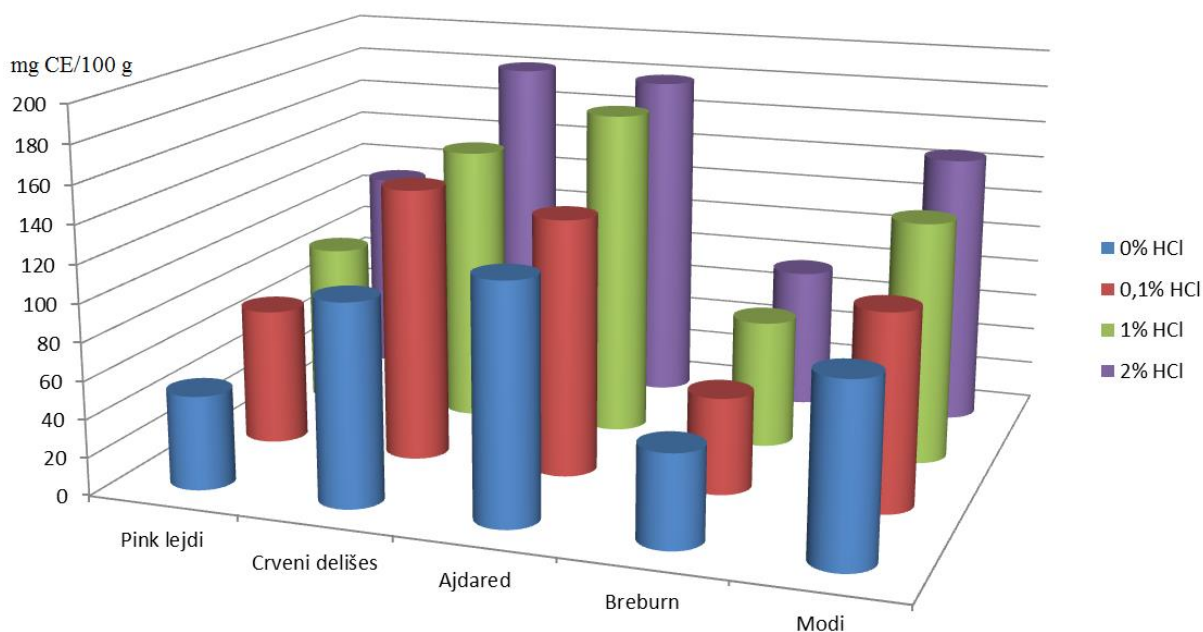
U daljem radu ispitan je efekat koncentracije kiseline HCl na ekstrakciju fenolnih jedinjenja iz kore crvenih sorti jabuka (Pink lejdi, Crveni Delišes, Ajdared, Breburn i Modi). Ekstrakcija je vršena metanolom sa različitim koncentracijama kiseline HCl (0; 0,1; 1,0 i 2,0%).



**Slika 4.5.** *Efekat koncentracije kiseline HCl na sadržaj ukupnih fenola (mg GAE/100g s.m.) u metanolom ekstraktima kore jabuka*

Rezultati pokazuju da se svi ispitivani ekstrakti značajno razlikuju u pogledu sadržaja ukupnih fenola i flavonoida kada se za ekstrakciju koristi metanol sa različitim procentom kiseline. Takođe, može se videti da se najbolji rezultati dobijaju kada se ekstrakcija vrši metanolom sa 2 % HCl.





**Slika 4.6.** Efekat koncentracije kiseline HCl na sadržaj flavonoida (mg CE/100g s.m.)

*u metanolom ekstraktima kore jabuka*

Sadržaj ukupnih fenola i flavonoida u metanolnim ekstraktima sa 2% HCl kore crvenih sorti jabuka dat je u Tabeli 4.9, koji se pokazao kao najefikasniji estragens, dok su svi rezultati dati u Tabeli 8.3. (Prilog).

**Tabela 4.9.** Sadržaj ukupnih fenola (TP) i flavonoida (TF) metanolnih ekstrakata kore jabuka i njihov odnos (TP/TF)

Vrsta jabuke	TP <sup>1</sup> mg GAE/100g s.m.	TF <sup>2</sup> mg CE/100g s.m	TP/TF
<b>Pink lejdi</b>	205,26±1,13 <sup>3</sup>	110,82±1,89	0,53
<b>Crveni delišes</b>	324,21±2,33	181,32±2,07	0,55
<b>Ajdared</b>	370,46±3,03	178,58±1,68	0,48
<b>Breburn</b>	169,29±1,26	75,44±0,65	0,44
<b>Modi</b>	258,02±2,01	145,82±1,51	0,56

<sup>1</sup>mg ekvivalenta galne kiseline/100 g sveže mase; <sup>2</sup>mg katehin ekvivalenta/100 g sveže mase; <sup>3</sup>srednja vrednost±SD (n=3)

Analizom dobijenih rezultata može se uočiti da se sadržaj ukupnih fenola u analiziran uzorcima kore jabuka, u zavisnosti od sorte kreće od 169,29 do 370,46 mg GAE/100 g s.m. Naši rezultati su uporedivi sa literalnim podacima (Tabela 4.8.) koje su objavili *Wolfe i sar.*, (2003), kao i sa podacima *Escarpa i Gonzalez.*, (2001). *Delian i sar.*, (2011) su odredili niži sadržaj TP u kori jabuke, *Leontowicz i sar.*, (2003) kao i *D'Abrosca i sar.*, (2007). Veći sadržaj TP su objavili *Vieira i sar.* (2009) kao i *Drogoudi i sar.*, (2008). Znatno niži sadržaj TP u kori jabuke, objavili su *Gorinstein i sar.* (2001), kao i *Barbosa i sar.*, (2011).

Ukupni flavonoidi u analiziran uzorcima kore jabuka se kreću od 75,44 do 181,32 mg CE/100 g s.m. sa procentom zastupljenosti od 44% do 56% u odnosu na sadržaj ukupnih fenola. *D'Abrosca i sar.*, (2007) odredili su niži sadržaj TF od 47,8 mg CE/100 g s.m., kao i *Leontowicz i sar.*, (2003) od 45,0 mg CE/100 g s.m., dok su *Wolfe i sar.*, (2003), odredili nešto veći sadržaj TF (167,4-306,1 mg CE/100 g s.m.). Naši rezultati su uporedivi sa rezultatima *Vieira i sar.*, (2011) (32,42-147,75 mg CE/100 g s.m.).

## 4.2. HPLC ANALIZA EKSTRAKATA VOĆA

Kvantitativno određivanje fenolnih jedinjenja samo po sebi predstavlja analitički izazov s obzirom da je procenjeno da postoji preko milion ovih jedinjenja, koja se u biljkama nalaze u obliku glikozida sa velikom raznovršnošću u broju, vrsti i načinu vezivanja šećernih ostataka (*Mišan, 2009*).

Objavljen je veliki broj HPLC metoda za određivanje fenolnih jedinjenja u voću. U osnovi, one su prilagođene određivanju sadržaja najzasupljenijih fenola u jednoj vrsti voća ili određenog broja jedinjenja određene klase u raznovrsnim matriksima. U literaturi je, takođe zastupljen veliki broj radova koji se odnose na ispitivanje sastava fenolnih jedinjenja u dunjama, breskvama i jabukama (*Scordio i sar.*, 2012; *Silva i sar.*, 2005; *Wojdylo i sar.*, 2013, *Tsao i sar.*, 2003). Međutim, malo je podataka u literaturi o fenolnom profilu dunja, bresaka i jabuka gajenih na području Jugoistočne Srbije. Imajući u vidu ovu činjenicu, kao i radove gore navedenih autora, sadržaj pojedinačnih fenolnih jedinjenja u ekstraktima

ispitivanih vrsta voća određen je tehnikom tečne hromatografije visoke rezolucije (*High Performance Liquid Chromatography*, HPLC).

Fenolna jedinjenja apsorbuju u vidljivom i ultraljubičastom delu spektra, pa se i detekcija ovih jedinjenja u analizi HPLC-om temelji na merenju apsorbanca ultraljubičastog i vidljivog zračenja, pomoću UV-Vis detektora. Dokazivanje ovih grupa jedinjenja nije moguće samo pri jednoj talasnoj dužini, jer svaka grupa jedinjenja ima apsorpcione maksimume pri različitim talasnim dužinama. Antocijani imaju tipičnu apsorpcionu traku na  $\lambda=520$  nm, flavonoli na 360 nm, hidroksicimetine kiseline na 320 nm a flavan-3-oli na 280 nm, na talasnoj dužini pri kojoj apsorbuju i ostala fenolna jedinjenja. Međutim, ova jedinjenja, za razliku od ostalih fenolnih jedinjenja pokazuju fluorescentne osobine. Iz tog razloga fluorescentni detektor je korišćen za selektivno određivanje koncentracije flavan-3-ola.

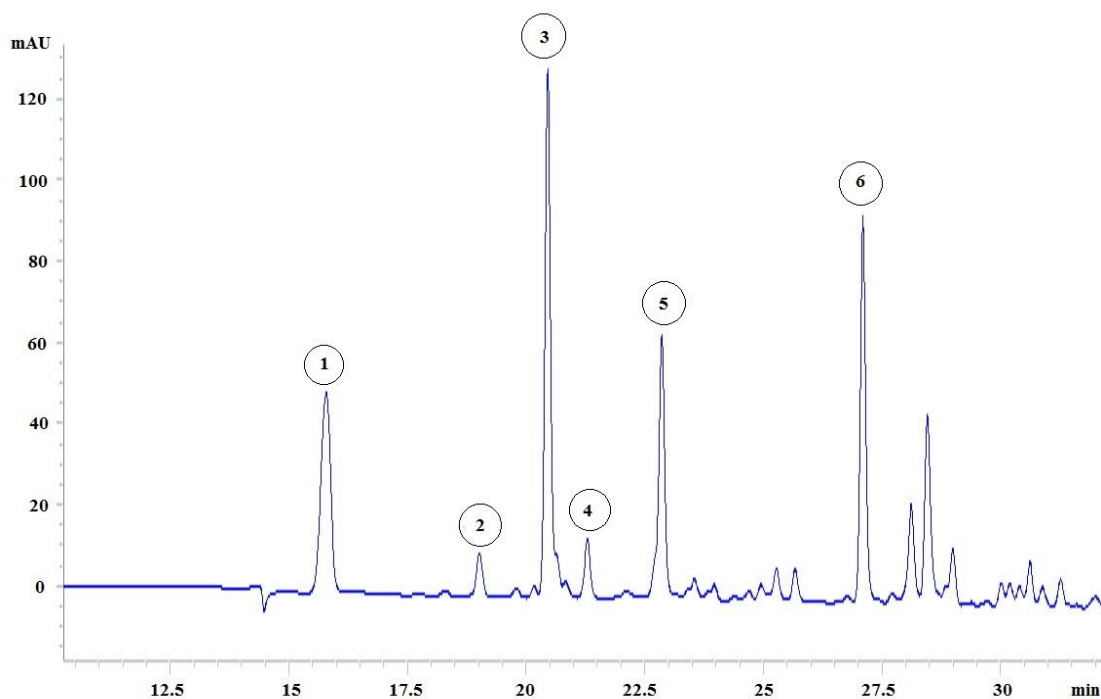
Identifikacija fenolnih jedinjenja u ekstraktima voća vršena je na osnovu poređenja retencionih vremena i spektara sa odgovarajućim vrednostima dobijenih za standarde. Kvantifikacija je vršena metodom eksternog standarda, pri čemu je za svako dostupno jedinjenje konstruisana kalibraciona kriva u četiri tačke. Postupak konstruisanja kalibracionih krivih za svaki standard pojedinačno je ponovljen nakon svaka četiri meseca rada na instrumentu sa istom kolonom. Stepennost linearosti konstruisanih krivih je bio izuzetno velik ( $r^2 > 0,992$ ).

#### **4.2.1. HPLC analiza ekstrakata pulpe i kore dunja**

##### **Identifikacija hidroksicimernih kiselina u kori i pulpi dunja**

U metanolnim i acetonskim ekstraktima pulpe i kore dunja sorte Leskovačka utvrđeno je (Slika 4.7) i kvantifikovano prisustvo šest hidroksicimernih kiselina: (1) *3-O-kafeoilhinska kiselina* (3-CQA, neohlorogenska), (2) *4-O-p-kumaroilhinske kiselina* (HC1, identifikovana prema literalnim podacima i UV-Vis spektrima, Clifford i sar., 2003., Wojdylo i sar., 2013), (3) *4-O-kafeoilhinska kiselina* (4-CQA, kriptohlorogenska), (4) *5-O-kafeoilhinska kiselina* (5-CQA, hlorogenska), (5) *derivate p-kumariolhinske kiseline* (HC2, identifikovana prema literaturnim podacima i UV-Vis spektrima, Clifford i sar., 2003., Wojdylo i sar., 2013) i (6) *3,5-dikafeoilhinska kiselina* (3,5-diCQA). Wojdylo i sar., (2013) su odredili fenolni profil 13

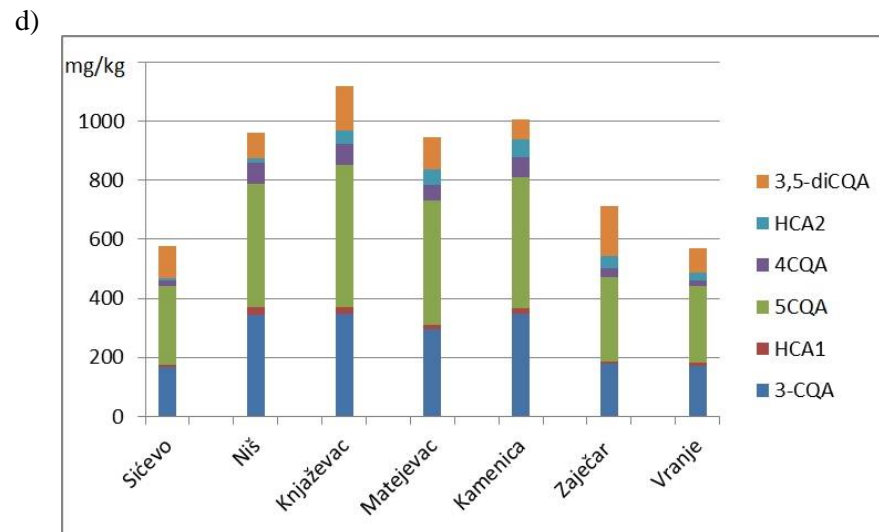
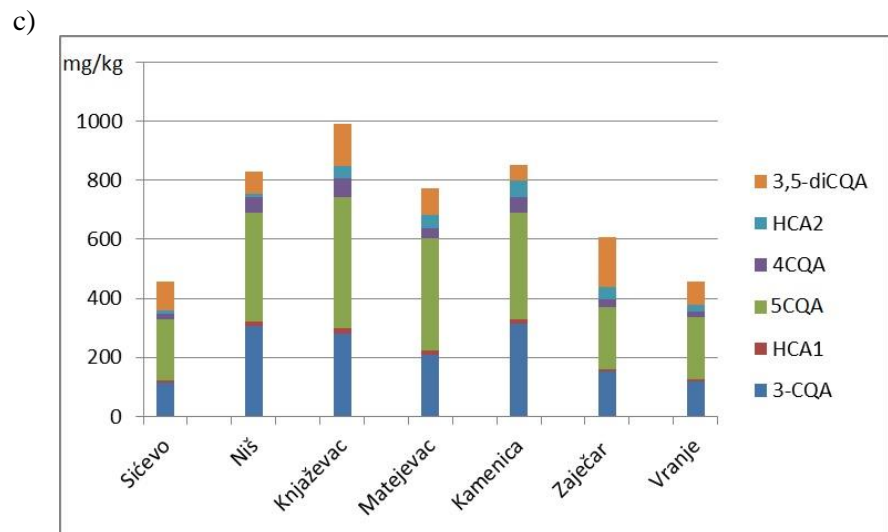
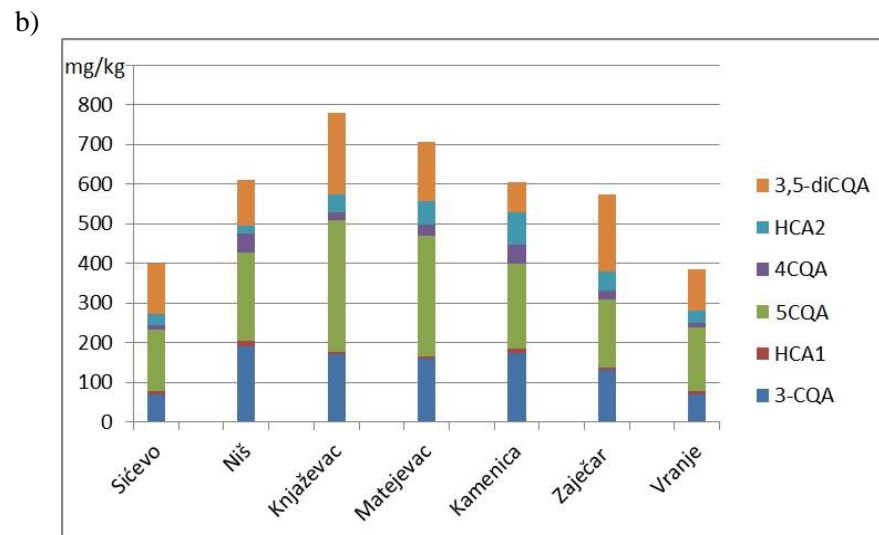
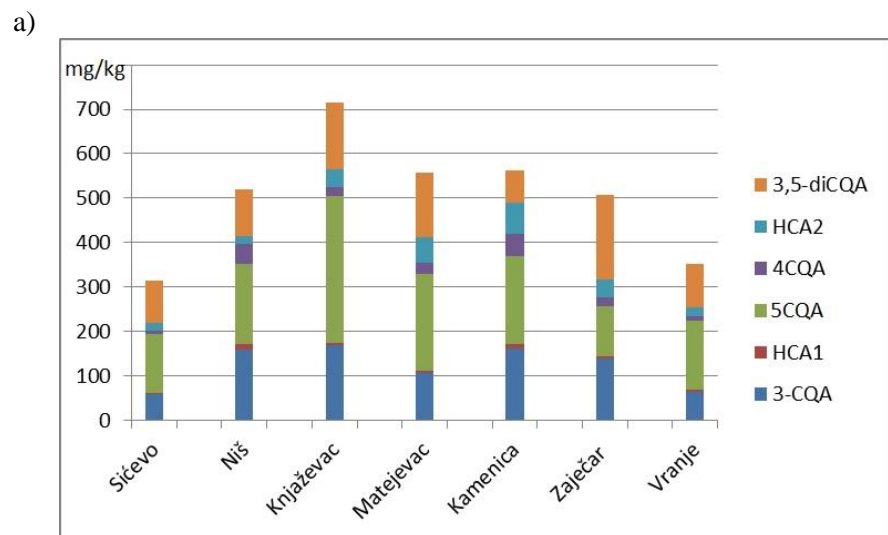
sorti dunja, među kojima je i sorta *Leskovačka*, i pri tome identifikovali hidroksicimetne kiseline u skladu sa našim rezultatima.



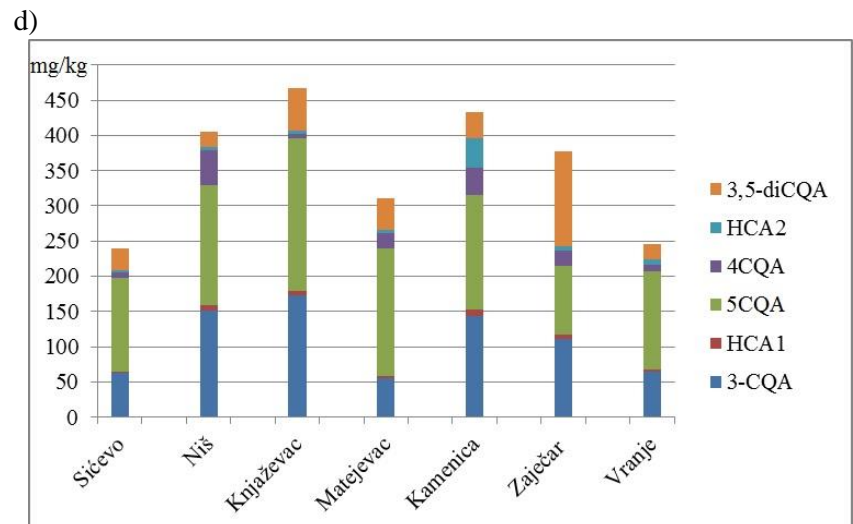
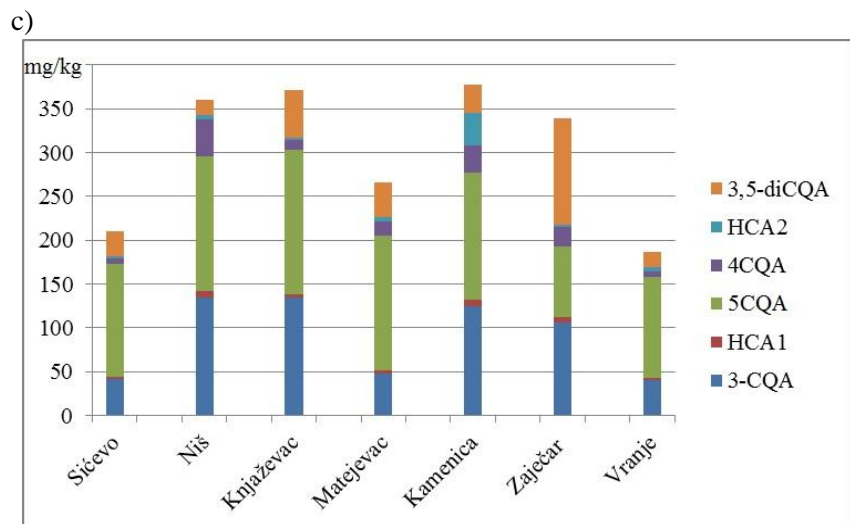
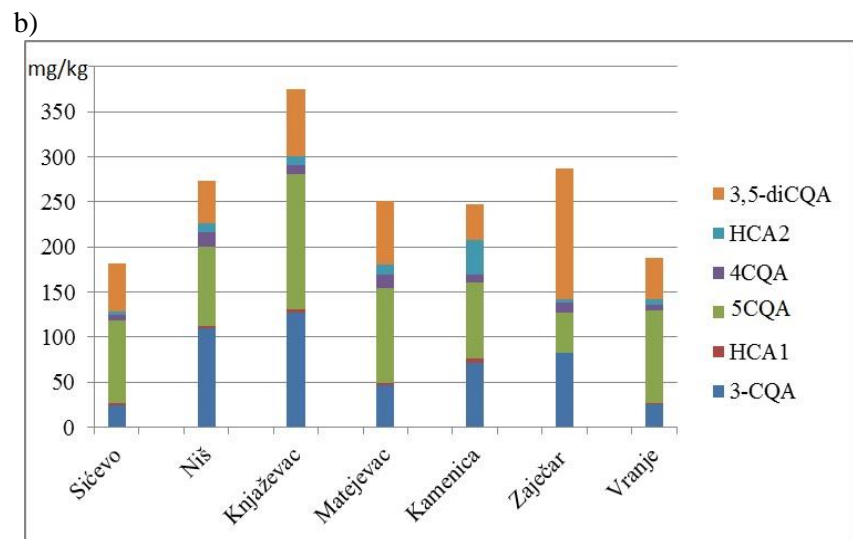
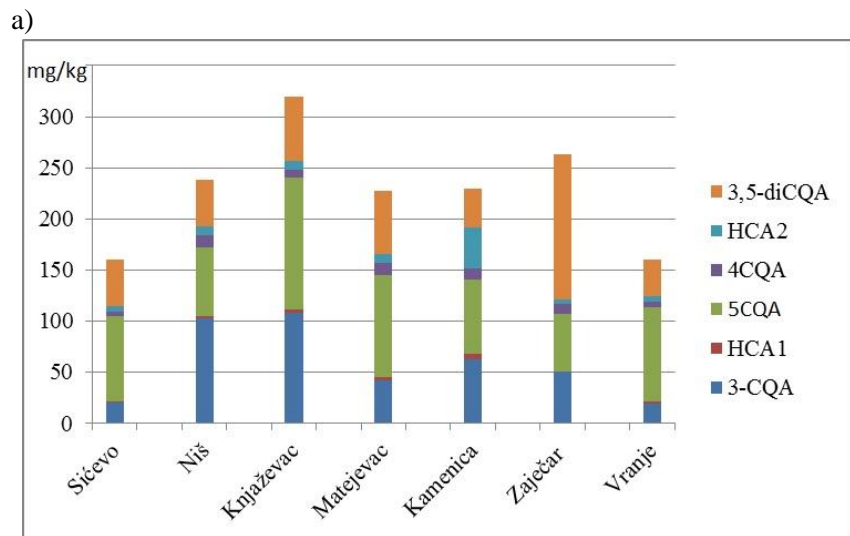
**Slika 4.7.** HPLC hromatogram acetonskog ekstrakta kore dunje sorte *Leskovačka* snimljen na 320 nm: (1) 3-O-kafeoilhinska kiselina (3-CQA), (2) 4- p-kumaroilhinska kiselina (HC1), (3) 4-O-kafeoilhinska kiselina (4-CQA), (4) 5-O-kafeoilhinska kiselina (5-CQA), (5) derivat p-kumaroilhinske kiseline (HC2), (6) 3,5-dikafeoilhinska kiselina (3,5-diCQA)

#### ***Izbor rastvarača za ekstrakciju***

Slike 4.8 i 4.9 prikazuju rezultate HPLC određivanja sadržaja hidroksicimetnih kiselina u kori i pulpi dunja sa sedam raličitih lokaliteta. Ekstrakcija je vršena raličitim rastvaračima: metanol 60%, metanol 80%, aceton 60% i aceton 80%.



**Slika 4.8.** Sadržaj hidroksicimetnih kiselina (mg/kg s.m.) u ekstraktima kore dunja: a) 60% metanol; b) 80% metanol; c) 60% aceton; d) 80% aceton

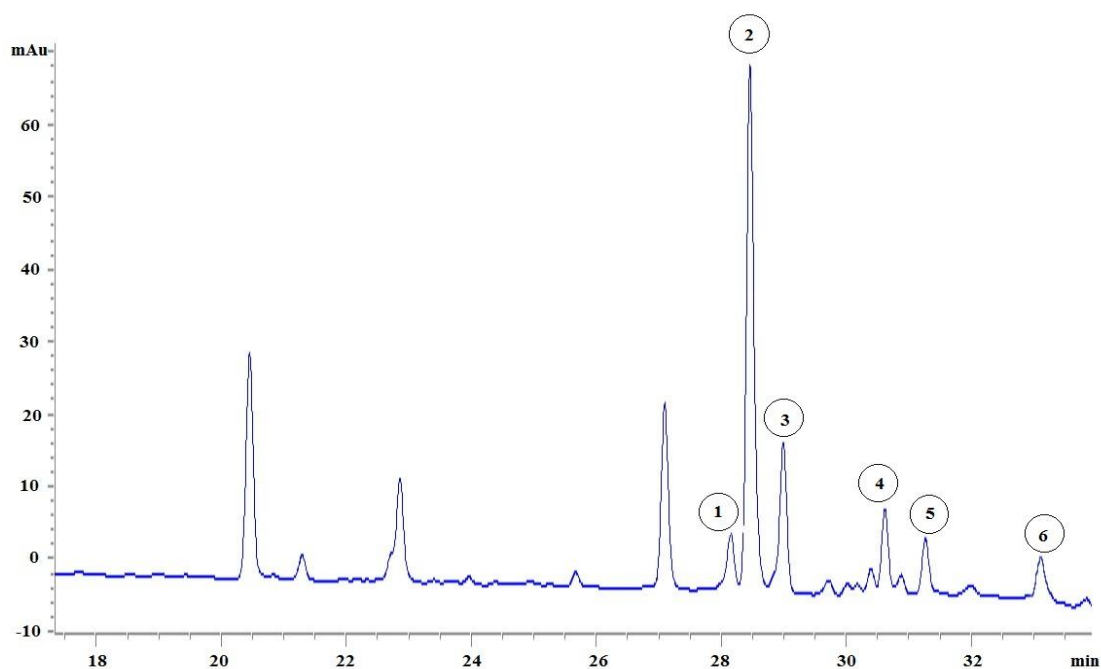


Slika 4.9. Sadržaj hidroksicimetnih kiselina (mg/kg s.m.) u ekstraktima pulpe dunja: a) 60% metanol; b) 80% metanol; c) 60% aceton; d) 80% aceton

Promenom sa metanola na aceton kao rastvarača, kao i pri povećanju procentne zastupljenosti rastvarača dolazi do porasta u sadržaju neohlorogenske, HC1 i hlorogenske kiseline, dok se za HC2 i 3,5-diCQA najbolji rezultati dobijaju u 80% metanolu. Slike 4.8 i 4.9. pokazuju da najzastupljenija hidrosicimetna kiselina u svim ispitivanim ekstraktima je hlorogenska kiselina.

### Identifikacija flavonola u kori i pulpi dunja

U metanolnim i acetonskim ekstraktima kore dunja utvrđeno je i kvantifikovano prisustvo šest flavonola: (1) *kvercetin-3-galaktozid* (Q-Ga), (2) *kvercetin-3-rutinozid* (Q-Ru), (3) *kvercetin-3-glukozid* (Q-Glu), (4) *kemferol-3-rutinozid* (K-Ru), (5) *kemferol-3-glukozid* (K-Glu) i (6) derivat kvercetina koji nastaje reakcijom kvercetin-glikozida i *p*-kumarne kiseline (Q-Glu-*p*-CouA, identifikovan prema literaturnim podacima i UV-Vis spektara) (Wojdylo *i sar.*, 2013), (Slika 4.10).



**Slika 4.10.** HPLC hromatogram acetonskog ekstrakta kore dunje sorte Leskovačka snimljen na 360 nm: (1) *kvercetin-3-galaktozid*, (2) *kvercetin-3-rutinozid*, (3) *kvercetin-3-glukozid*, (4) *kemferol-3-rutinozid*, (5) *kemferol-3-glukozid* i (6) derivat kvercetina koji nastaje reakcijom *kvercetin-glikozida* i *p*-kumarne kiseline.

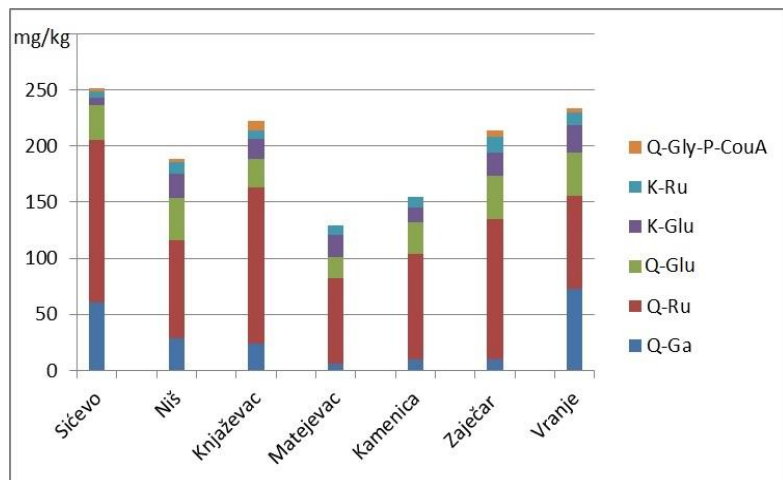
Flavonoli predstavljaju najrasprostranjenije flavonoide u hrani. To su pigmenti žute boje. Glavni predstavnici ove grupe jedinjenja su kvercetin i kemferol, ali su poznati i morin, rutin, miricetin, izoramnetin i fisetin. Prisutni su uglavnom u malim koncentracijama, 15-30 mg/kg sveže mase. Flavonoli su prisutni u glikozidnoj formi, povezani sa šećerom, obično glukozom i ramnozom, ali mogu biti prisutni i drugi šećeri (kao galaktoza, arabinoza, ksiloza). Flavonoli se akumuliraju u spoljašnjem sloju tkiva (pokožici), s obzirom da svetlost stimuliše njihovu biosintezu. Značajne razlike u njihovim koncentracijama postoje između plodova voća iste biljke, ili čak između različitih strana istog ploda, zavisno od stepena izloženosti sunčevoj svetlosti (*Macheix i sar., 1990*).

### ***Izbor rastvarača za ekstrakciju***

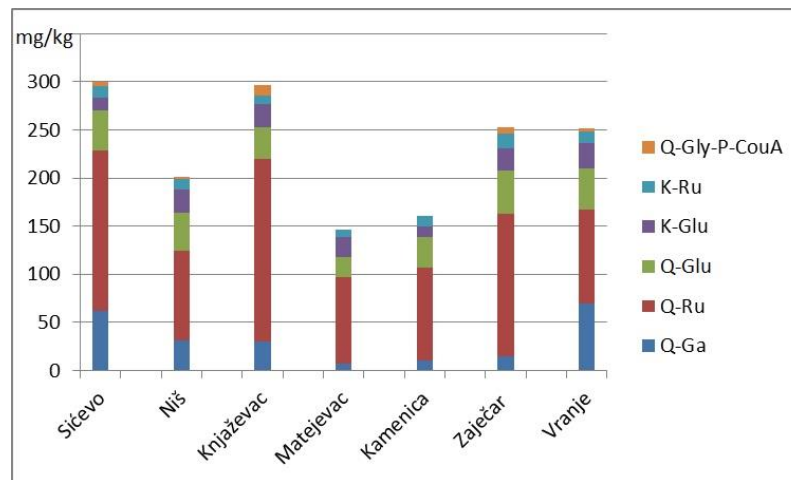
Slika 4.11. prikazuje rezultate HPLC određivanja sadržaja flavonola u kori dunja sa sedam različitih lokaliteta u različitim rastvaračima: metanol 60%, metanol 80%, aceton 60% i aceton 80%. Pri tome su najmanji sadržaji flavonola određeni u ekstraktima metanola 60%, a najveći u ekstraktima acetona 80%. U poređenju sa ostalim kvantifikovanim flavonolima, svojim sadržajem se ističe *kvercetin-3-rutinozid* u svim ispitivanim ekstraktima.



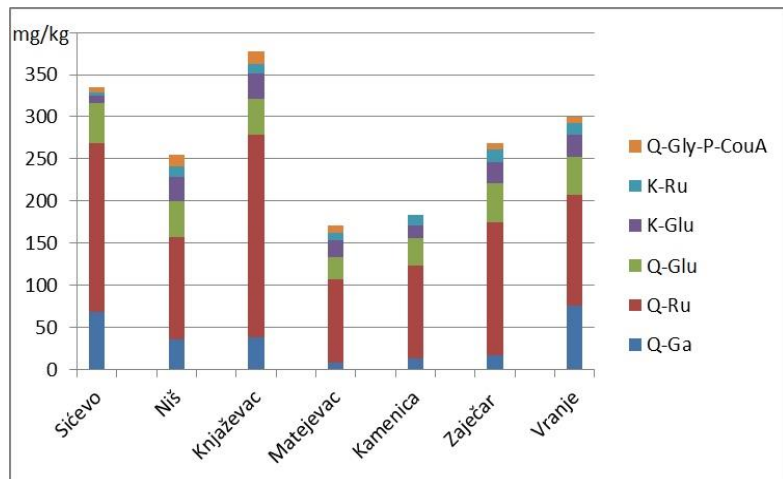
a)



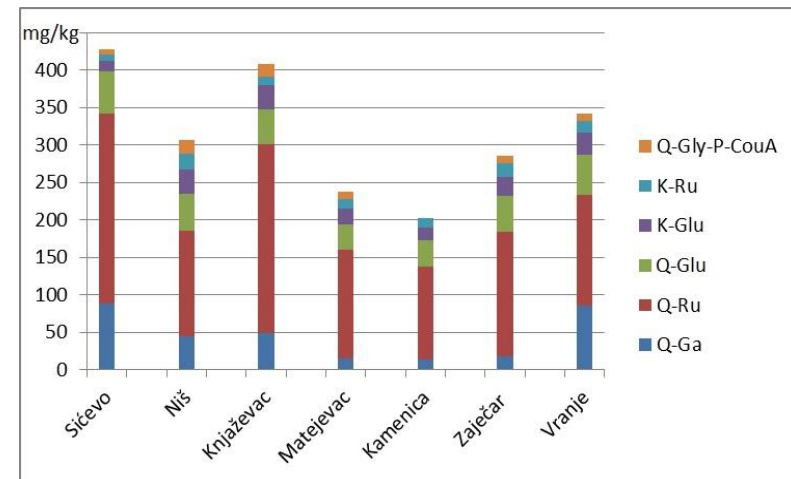
b)



c)

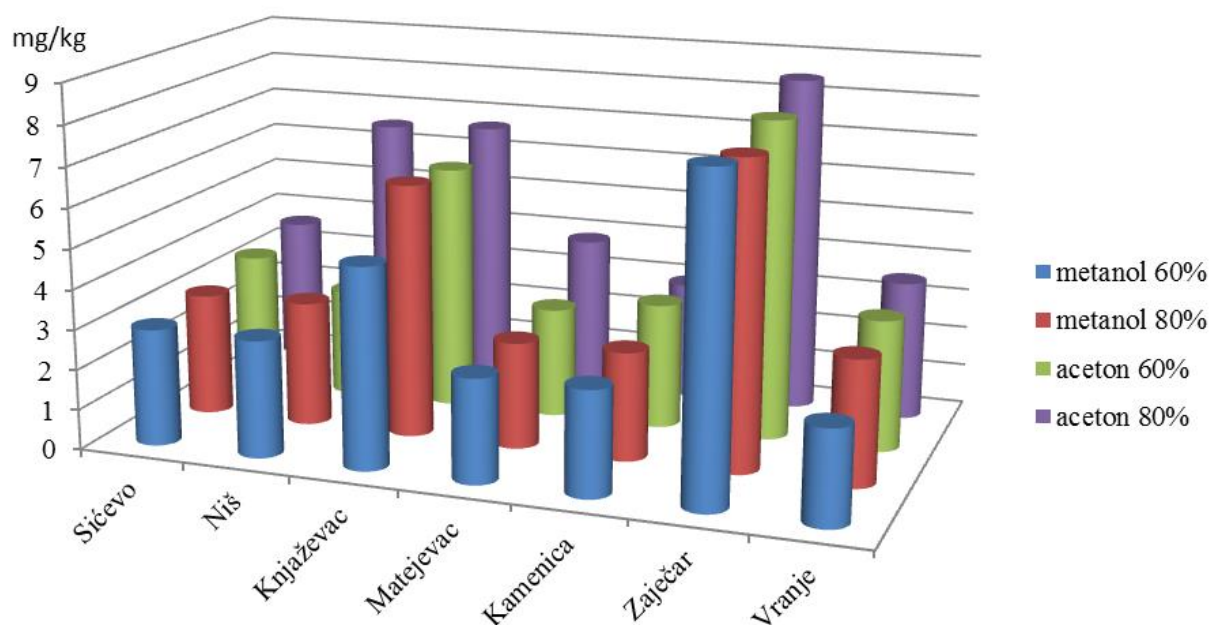


d)



**Slika 4.11.** Sadržaj flavonola (mg/kg s.m.) u ekstraktima kore dunja: a) 60% metanol; b) 80% metanol; c) 60% aceton; d) 80% aceton.

Flavonoli se uglavnom, kao što smo istakli nalaze u kori dunja. Međutim, naši rezultati pokazuju da se u pulpi dunja može naći jedan flavonol i to *kvercetin-3-rutinozid* u količini znatno manjoj u odnosu na koru dunja. Do sličnih rezultata došli su i drugi autori (*Silva i sar., 2005; Silva i sar., 2002*). Najbolji ekstragens za ekstrakciju *kvercetin-3-rutinozida* iz pulpe dunja je 80% aceton, što se može videti na Slici 4.12.



**Slika 4.12.** Sadržaj kvercetin-3-rutinozida (mg/kg s.m.) u ekstraktima pulpe dunja: a) 60% metanol; b) 80% metanol; c) 60% aceton; d) 80% aceton

### **Kvantifikacija fenolnih jedinjenja u kori i pulpi dunja**

Rezultati HPLC određivanja sadržaja hidroksicimetnih kiselina i flavonola u acetonskom ekstraktu (80%) (osim za HC2 i 3,5-diCQA u 80% metanolu za koru), koji se pokazao kao najefikasniji estragens, kore i pulpe dunja prikazani su u Tabeli 4.11, dok su svi podaci dati u Tabeli 8.4. i 8.5. (Prilog). U Tabeli 4.12. dat je literaturni pregled sadržaja hidroksicimetnih kiselina i flavonola dunja sa različitog područja od strane različitih istraživača u cilju diskusije i poređenja rezultata dobijenih u ovom radu.

**Tabela 4.11.** Sadržaj hidroksicimetnih kiselina i flavonola acetonskih ekstrakata kore i pulpe dunja izražen u mg/kg g sveže mase voća

Jedinjenje	Deo voća	Sićevo	Niš	Knjaževac	Matejevac	Kamenica	Zaječar	Vranje
<b>3-CQA</b> <sup>2</sup>	kora	168,14 <sup>1</sup>	344,59	348,89	293,66	347,76	176,85	172,30
	pulpa	62,35	151,93	173,27	55,51	143,36	110,44	65,17
<b>HCA1</b> <sup>3</sup>	kora	2,22	23,80	20,87	16,96	16,96	7,77	9,00
	pulpa	2,18	6,88	5,16	3,49	9,99	6,95	2,30
<b>5-CQA</b>	kora	264,33	420,54	481,84	418,64	443,69	285,32	259,12
	pulpa	132,51	170,74	217,36	180,82	161,62	97,37	140,05
<b>4-CQA</b> <sup>2</sup>	kora	19,09	68,80	71,57	55,76	70,79	31,39	19,95
	pulpa	7,94	49,20	12,07	21,37	39,27	22,29	8,02
<b>HCA2</b> <sup>3</sup>	kora	28,62	19,54	43,94	57,79	80,51	49,19	30,18
	pulpa	3,90	10,09	10,57	11,39	37,88	4,25	6,75
<b>3,5-diCQA</b>	kora	127,94	117,36	206,34	149,45	77,38	193,36	105,30
	pulpa	52,83	47,44	73,87	70,6	39,70	144,31	45,81
<b>Q-Ga</b>	kora	87,95	43,84	48,16	15,47	13,56	17,66	85,35
	pulpa	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
<b>Q-Ru</b>	kora	254,16	141,58	253,23	144,14	123,50	165,99	148,52
	pulpa	3,65	6,54	6,67	3,86	2,94	8,45	3,50
<b>Q-Glu</b>	kora	56,35	48,81	45,36	34,47	36,09	48,16	52,37
	pulpa	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
<b>K-Glu</b>	kora	13,33	33,39	33,19	21,29	16,16	25,95	30,10
	pulpa	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
<b>K-Ru</b> <sup>4</sup>	kora	9,15	20,82	10,72	11,87	12,88	18,09	15,83
	pulpa	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
<b>Q-Gly-p-CouA</b> <sup>5</sup>	kora	6,08	17,72	16,83	9,51	nd	8,81	9,73
	pulpa	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd

<sup>1</sup>srednja vrednost izražena u mg/kg sveže mase voća. Skraćenice: 3-CQA, 3-O-kafeoilhinska kiselina; HCA1, 4-p-kumaroilhinska kiselina; 5-CQA, 5-O-kafeoilhinska kiselina; 4-CQA, 4-O-kafeoilhinska kiselina; HCA2, p-kumaroilhinska kiselina; 3,5-diCQA, 3,5-dikafeoilhinska kiselina; Q-Ga, kvercetin-3-galaktosid, Q-Ru, kvercetin-3-rutinosid; Q-Glu, kvercetin-3-glukozid; K-Ru, kemferol-3-rutinosid; K-Glu, kemferol-3-glukozid; Q-Gly-p-CouA derivat kvercetin-glikozida i p-kumarne kiseline;<sup>2</sup>ekvivalent 5-CQA;<sup>3</sup>ekvivalent p-CouA;<sup>4</sup>ekvivalent K-Glu;<sup>5</sup>ekvivalent Q-Glu.

**Tabela 4.12.** Literaturni pregled određivanja sadržaja hidrokscimetnih kiselina i flavonola u uzorcima dunja izražen u mg/kg sveže mase voća

Poreklo	Deo voća	Ekstragens	3-CQA	4-CQA	5-CQA	3,5-diCQA	Q-Ga	Q-Ru	Q-Glu	K-Ru	K-Glu	Q-Gly-p-CouA	Literatura
Poljska	plod	80% metanol	52,34-134	42-167	1712-3196	/	208-628	26-85	/	/	32-352		Wojdylo i sar., 2013.
Portugal	kora	1% metanol	0,3-117,2	0,3-20,4	5,9-432	2,1-38,3	tr-252	172,3-872,5	/	13,1-140,2	5,2-92,9	/	Silva i sar., 2002.
	pulpa		0,9-56,3	0,6-7,3	5,6-185,6	tr-10,8	nd-4,2	1,7-8,6	/		nd	/	
Japan	plod	80% aceton	141	15	123	/	/	/	/	/	/	/	Hamazu i sar., 2005.
Tunis	kora	75% aceton	39,4	5,1	128,5	/	124,0	472,1	92,3	39,6	106,5	59,2	Fattouch i sar., 2007.
	pulpa		56,8	44,9	155,7	/	nd	90,5	nd	nd	nd	nd	

Skraćenice: 3-CQA, 3-O-kafeoilhinska kiselina; 5-CQA, 5-O-kafeoilhinska kiselina; 4-CQA, 4-O-kafeoilhinska kiselina; 3,5-diCQA, 3,5-dikafeoilhinska kiselina; Q-Ga, kvercetin-3-galaktosid, Q-Ru, kvercetin-3-rutinosid; Q-Glu, kvercetin-3-glukosid; K-Ru, kemferol-3-rutinosid; K-Glu, kemferol-3-glukosid; Q-Gly-p-CouA derivat kvercetin-glikozida i p-kumarne kiseline.

Iz Tabele 4.11. može se videti da je sadržaj hidroksicimetnih kiselina veći u kori nego pulpi kod svih uzoraka. Najzastupljenija hidroksicimetna kiselina kako u kori, tako i pulpi svih uzoraka je 5-CQA (hlorogenska kiselina), sa 259,12-481,4 mg/kg za koru i 97,33-217,36 mg/kg za pulpu. Iz Tabele 4.12. se može videti sa su svi autori odredili hlorogensku kiselinu kao najzastupljeniju u svim delovima dunje (*Wojdylo i sar., 2013; Silva i sar., 2012; Hamauzu i sar., 2005; Fattouch i sar., 2007*). *Fattouch i sar., (2007)* su za razliku od naših rezultata i rezultata prethodno navedenih autora odredili veći sadržaj hlorogenske kiseline u pulpi nego u kori. Što se tiče sadržaja 5-CQA naši rezultati su u skladu sa rezultatima koje su objavili *Hamauzu i sar. (2005)* i *Fattouch i sar., (2007)*, niži od rezultata *Wojdylo i sar., (2013)*, a viši od onih koji su objavili *Silva i sar., (2012)*. Sadržaj ostalih kiselina opada u nizu: 3-CQA > 3,5-diCQA > HC2 > 4-CQA > HC1. Sadržaj ovih kiselina je u skladu sa rezultatima prethodno navedenih autora, osim sa rezultatim koj e su objavili *Silva i sar., (2012)*.

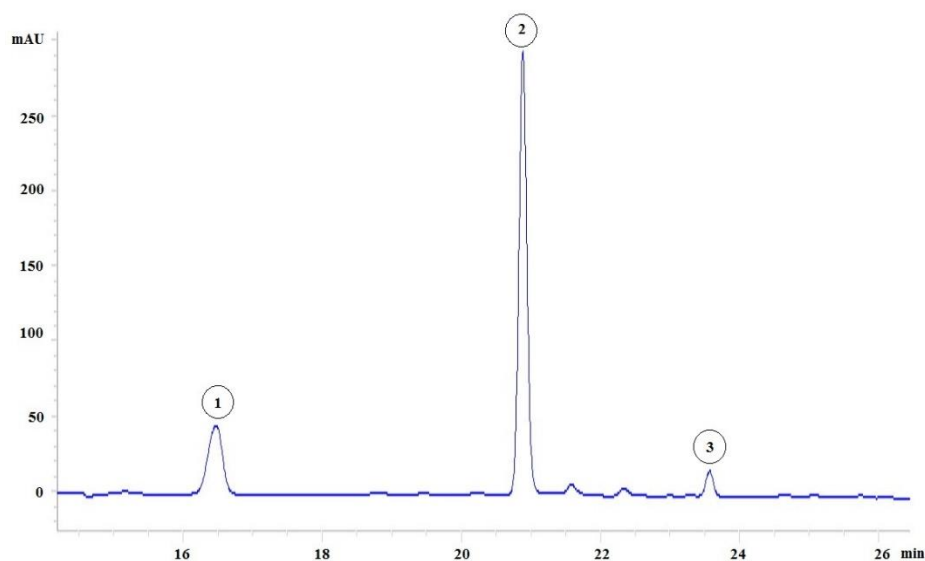
Iz Tabele 4.11. se takođe može videti da je Q-Ru najzastupljeniji flavonol (123,50-254,16 mg/kg za koru), kao i da je to jedini flavonol identifikovan u pulpi dunja, što je u skladu sa literaturnim podacima (*Silva i sar., 2012; Fattouch i sar., 2007, Tabela 4.12.*) Sadržaj određenih flavonola je uglavnom u skladu sa literaturnim podacima datim u Tabeli 4.12.

#### 4.2.2. HPLC analiza ekstrakata sortnih i vinogradarskih bresaka

HPLC analiza je omogućila da odredimo i fenolni profil kore i pulpe šest sorti bresaka i jedne sorte nektarina u acetonskim ekstraktima (80%, v/v) sa različitim koncentracijama hlorovodonične kiseline: 0%, 0,1%, 1,0% i 2,0%, kao i fenolni profil pet tipova vinogradarskih bresaka u metanolnim ekstraktima.

##### *Identifikacija fenolnih jedinjenja u kori i pulpi sortnih bresaka*

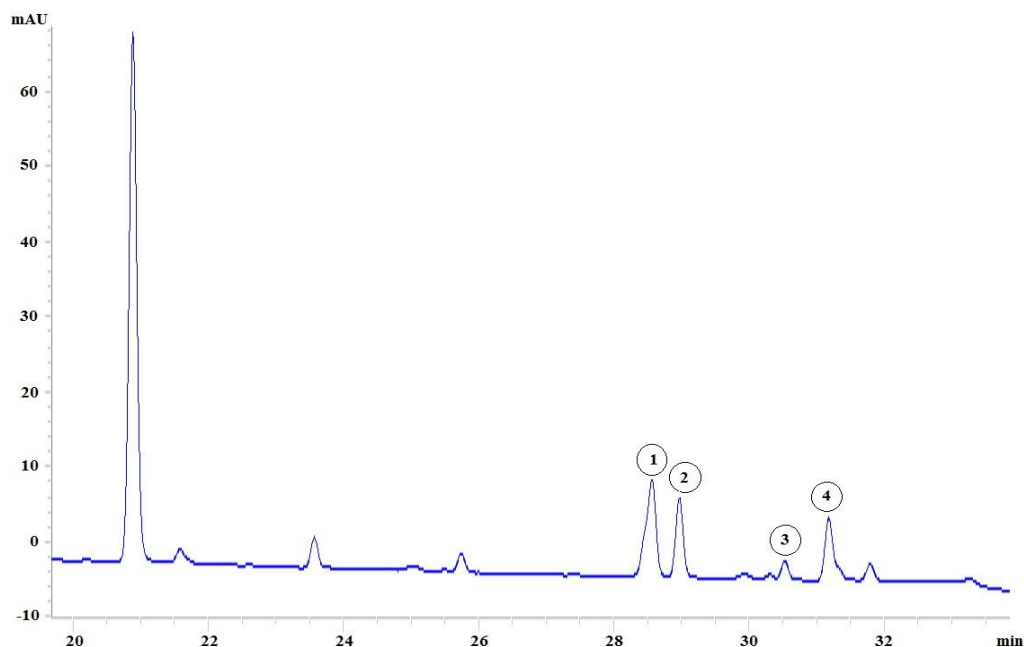
U acetonskim ekstraktima kore i pulpe bresaka identifikovane su i kvantifikovane sledeće hidroksicimetne kiseline: neohlorogenska, hlorogensa i p-kumarna kiselina (Slika 4.13), dok su u acetonskim ekstraktima kore identifikovani i kvantifikovani sledeći flavanoli: *kvercetin-3-rutinozid* (Q-Ru), *kvercetin-3-glukozid* (Q-Glu), *kvercetin-3-ramnozid* (Q-Rham), *kemferol-3-glukozid* (K-Glu), (Silka 4.14), što je u skladu sa literaturnim podacima.



**Slika 4.13.** HPLC hromatogram acetonskog ekstrakta kore breskve sorte Radmilovčanka, snimljen na 320 nm: (1) neohlorogenska kiselina, (2) hlorogenska kiselina i (3) p-kumarna kiselina.

Orazem i sar., (2011), su u ekstraktima kore i pulpe bresaka identifikovali neohlorogensku (3-CQA), hlorogensku (5-CQA) a p-kumarnu kiselinu samo u ekstraktima

pulpe, dok su *Tomas-Barberan i sar.*, (2001), *Chang i sar.*, (2000) i *Scordino i sar.*, (2012) identifikovali samo neohlorogensku i hlorogensku kiselinu.



**Slika 4.14.** HPLC hromatogram acetonskog ekstrakta kore brekve sorte Radmilovčanka, snimljen na 360 nm: (1) kvercetin-3-rutinozid, (2) kvercetin-3-glukoizid, (3) kvercetin-3-ramnoizid, (4) kemferol-3-rutinozid.

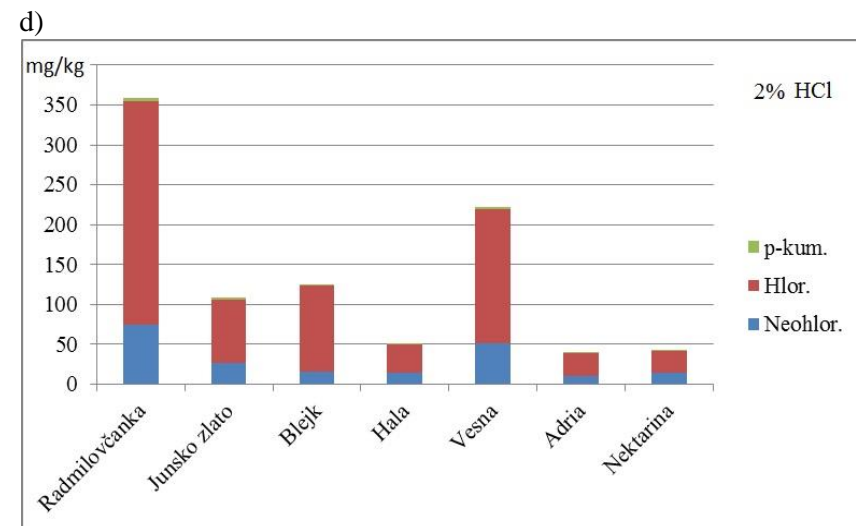
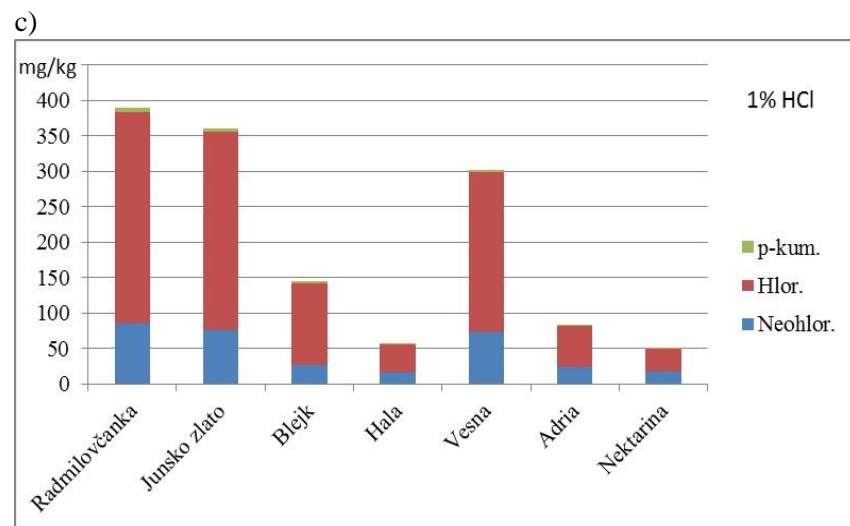
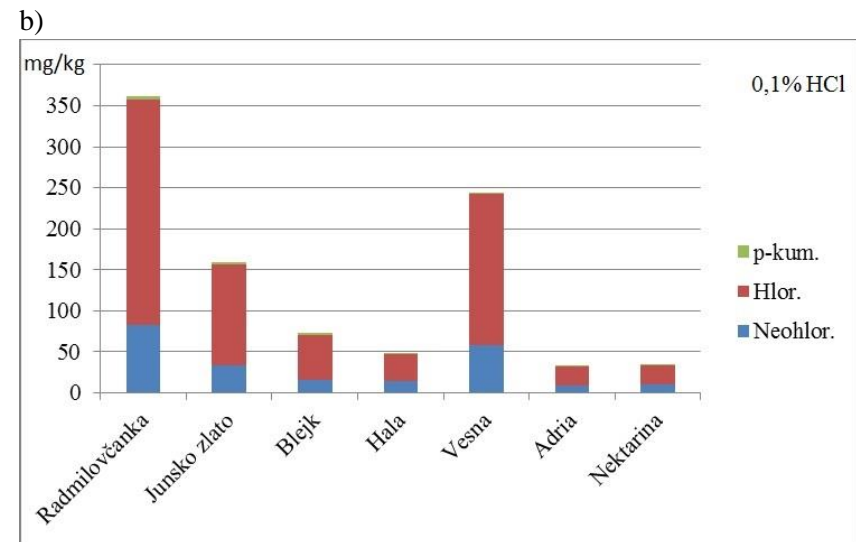
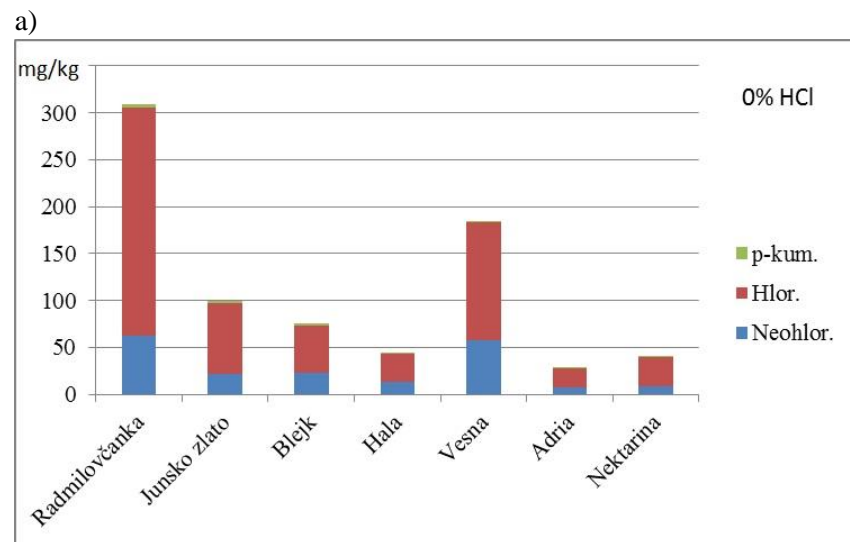
*Orazem i sar.*, (2011), su u ekstraktima kore bresaka identifikovali samo derivate kvercetina i to: *kvercetin-3-galaktiozid*, *kvercetin-3-rutinozid*, *kvercetin-3-glukoizid* i *kvercetin-3-ramnoizid*. *Cantin i sar.*, (2011) su takođe u kori bresaka odredili samo derivate kvercetina. Derivati kemferola i izoramnetina se prvi put navode u radu *Scordino i sar.*, (2012), koji su zaključili da prisustvo ovih flavonola u kori bresaka je karakteristika sicilijanskih bresaka. Naša ispitivanja su pokazala da se u kori bresaka gajenih na području Jugoistočne Srbije može naći pored glikozida kvercetina i *kemferol-3-rutinozid*. U skladu sa literaturnim podacima (*Chang i sar.*, 2000, *Cantin i sar.*, 2011) u pulpi flavonoli nisu identifikovani.

***Izbor rastvarača za ekstrakciju***

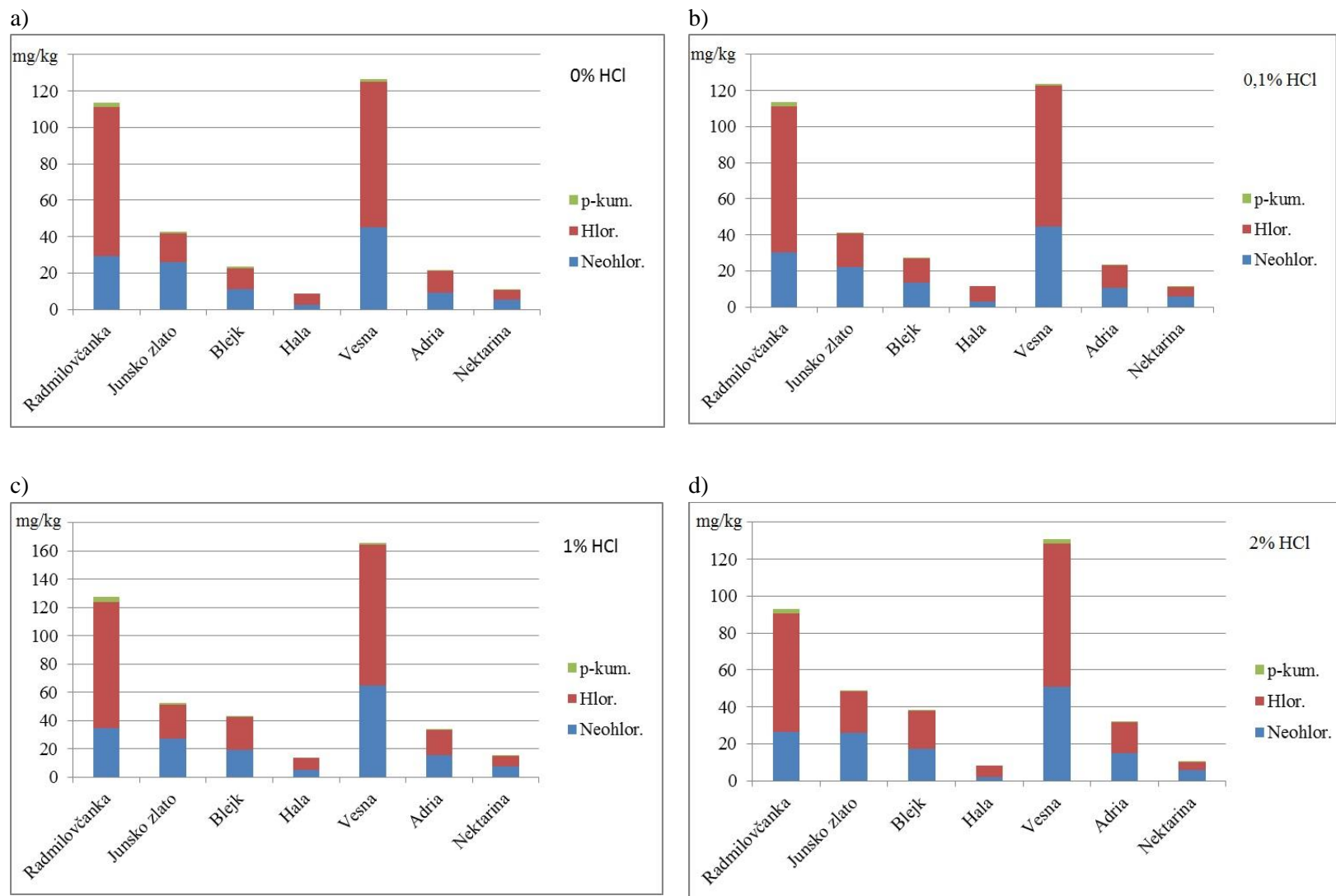
Slike 4.15. i 4.16. prikazuju rezultate HPLC određivanja sadržaja hidrokicimetnih kiselina u kori i pulpi bresaka u acetonskim ekstraktima sa 0%, 0,1%, 1,0% i 2,0% HCl. Na osnovu dobijenih rezultata možemo zaključiti da za ekstrakciju hidroksicimetnih kiselina odgovara ekstragens sa 1% HCl.

Slika 4.17. prikazuje rezultate HPLC određivanja sadržaja flavonola u kori bresaka u acetonskim ekstraktima sa 0%, 0,1%, 1,0% i 2,0% HCl. Za ekstrakciju flavonola iz kore bresaka odgovara ekstragens sa 2% HCl.



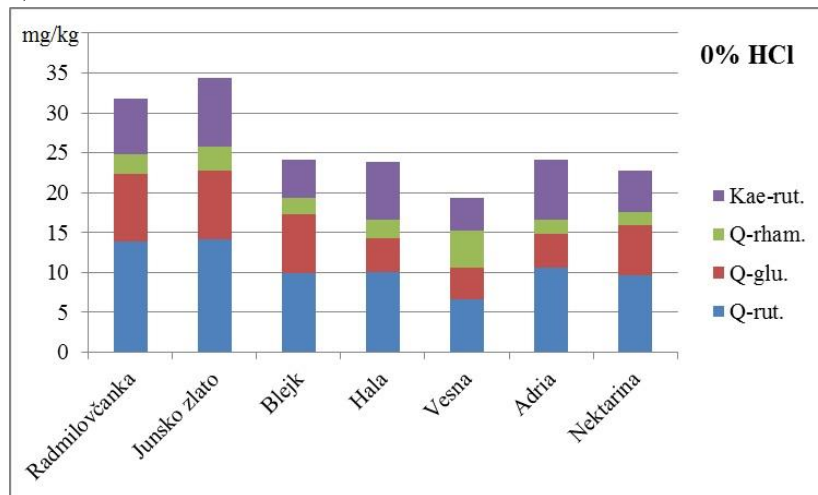


Slika 4.15. Sadržaj hidroksicimetnih kiselina (mg/kg s.m.) u ekstraktima kore bresaka: a) 0% HCl; b) 0,1% HCl; c) 1,0% HCl; d) 2,0% HCl

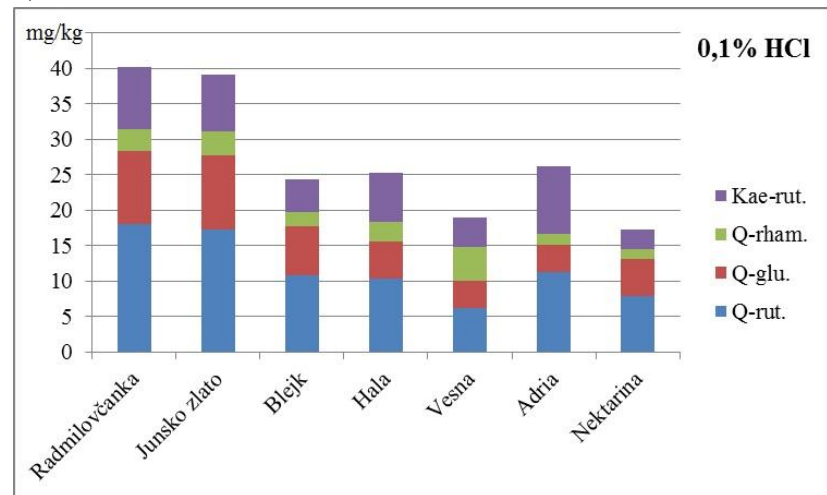


*Slika 4.16. Sadržaj hidroksicimetnih kiselina (mg/kg s.m.) u ekstraktima pulpe bresaka: a) 0% HCl; b) 0,1% HCl; c) 1,0% HCl; d) 2,0% HCl*

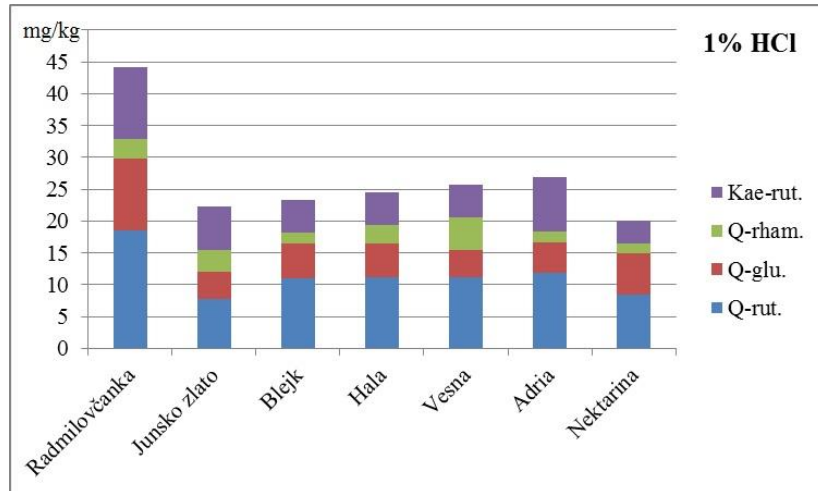
a)



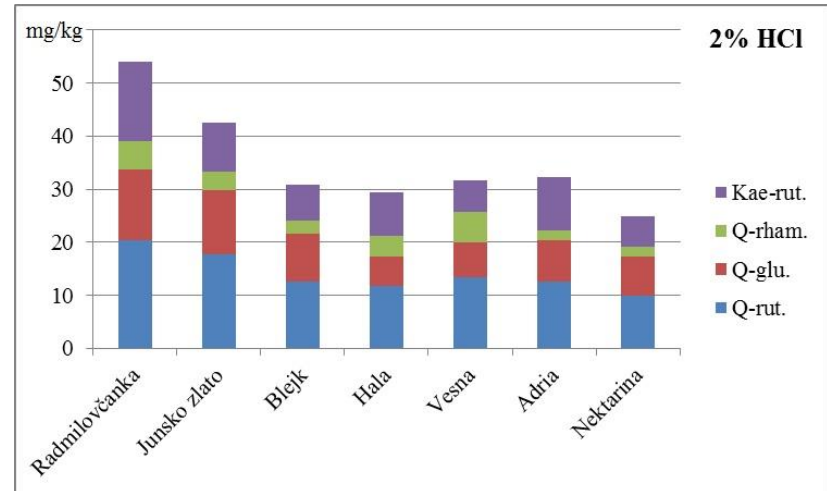
b)



c)



d)



*Slika 4.17. Sadržaj flavonola (mg/kg s.m.) u ekstraktima kore bresaka: a) 0% HCl; b) 0,1% HCl; c) 1,0% HCl; d) 2,0% HCl*

**Kvantifikacija fenolnih jedinjenja u kori i pulpi sortnih bresaka**

Rezultati HPLC određivanja sadržaja hidroksicimetnih kiselina u acetonskom ekstraktu sa 1% HCl, i flavonola u acetonskom ekstraktu sa 2% HCl, koji su se pokazali kao najefikasniji estragensi prikazani su u Tabeli 4.13, dok su svi podaci dati u Tabeli 8.5. (Prilog). U Tabeli 4.14. prikazan je literaturni pregled sadržaja hidroksicimetnih kiselina i flavonola u kori i pulpi bresaka sa različitog područja od strane različitih istraživača u cilju diskusije i poređenja rezultata dobijenih u ovom radu.

**Tabela 4.13.** Sadržaj hidroksicimetnih kiselina i flavonola acetonskih ekstrakata kore i pulpe bresaka izražen u mg/kg g svežeg voća

Jedinjenje	Deo voća	Radmilo včanka	Junsko Zlato	Blejk	Hala	Vesna	Adria	Nektarina
<b>3-CQA</b> <sup>2</sup>	kora	84,53	75,18	27,04	16,14	73,05	23,07	16,93
	pulpa	34,85	27,05	19,19	4,82	65,10	15,69	7,32
<b>5-CQA</b>	kora	299,61	280,45	115,29	39,76	226,31	58,28	32,96
	pulpa	89,18	24,39	23,51	9,08	99,70	17,49	7,41
<b>p-CouA</b>	kora	5,08	4,45	3,39	1,67	2,32	0,99	1,03
	pulpa	3,29	0,96	0,54	/	1,05	0,65	0,44
<b>Q-Ru</b>	kora	20,30	17,66	12,52	11,67	13,30	12,49	10,01
<b>Q-Glu</b>	kora	13,45	12,14	9,08	5,67	6,66	7,91	7,33
<b>Q-Rha</b> <sup>3</sup>	kora	5,21	3,43	2,50	3,89	5,71	1,90	1,73
<b>K-Ru</b> <sup>4</sup>	kora	15,01	9,39	6,72	8,15	5,92	9,91	5,92

<sup>1</sup>srednja vrednost izražena u mg/kg sveže mase voća. Skraćenice: 3-CQA, 3-O-kafeoilhinska kiselina; 5-CQA, 5-O-kafeoilhinska kiselina; p-CouA, p-kumarna kiselina; Q-Ru, kvercetin-3-rutinozid; Q-Glu, kvercetin-3-glukozid; Q-Rha, kvercetin-3-ramnozid; K-Ru, kemferol-3-rutinozid; <sup>2</sup>ekvivalent 5-CQA; <sup>3</sup>ekvivalent Q-Glu; <sup>4</sup>ekvivalent K-Glu.

**Tabela 4.14.** Literaturni pregled određivanih sadržaja hidroksicimetnih kiselina i flavonola u uzorcima bresaka izražen u mg/kg g svežeg voća

Poreklo	Deo voća	Ekstragens	3-CQA	p-CouA	5-CQA	Q-Ga	Q-Ru	Q-Glu	K-Ru	Literatura
Portugal	plod	80% metanol	25,0	/	29,3	/	10,2	/	/	<i>Oliveira i sar., 2012</i>
Slovenija	kora	96% metanol	10,01-26,16	/	23,87-152,27	6,02-12,2	14,58-26,08	17,01-37,88	/	<i>Orazem i sar., 2011</i>
	pulpa		3,26-11,29	0,07-0,28	2,83-14,21	nd	nd	nd	/	
SAD	plod	80% metanol	18,3-61,6	/	34,9-86,1	/	nd-5,6	nd-6,3	/	<i>Chang i sar., 2000</i>
	kora		22,5-80,9	/	164,4-325,1	/	7,1-81,3	38,0-96,9	/	
	pulpa		11,5-78,3	/	23,9-109,4	/	nd	nd	/	
SAD	kora	80% metanol	14,8-146,3	/	62,9-580,7	/	5,4-114,2	2,1-26,1	/	<i>Tomas-Barberan i sar., 2001</i>
	pulpa		14,9-183,0	/	23,1-277,1	/	nd	nd	/	
Italija	kora	50% aceton	2,6-96,9	/	3,4-26,4	9,6-30,9	4,9-9,9	8,1-50,5	3,7-12,7	<i>Scordino i sar., 2012</i>
	pulpa		0,3-31,3	/	nd-12,4	nd	nd	nd	nd	

Skraćenice: 3-CQA, 3-O-kafeoilhinska kiselina; 5-CQA, 5-O-kafeoilhinska kiselina; p-CouA, p-kumarna kiselina; Q-Ru, kvercetin-3-rutinozid; Q-Glu, kvercetin-3-glukozid; Q-Ga, kvercetin-3-galaktozid; K-Ru, kemferol-3-rutinozid.

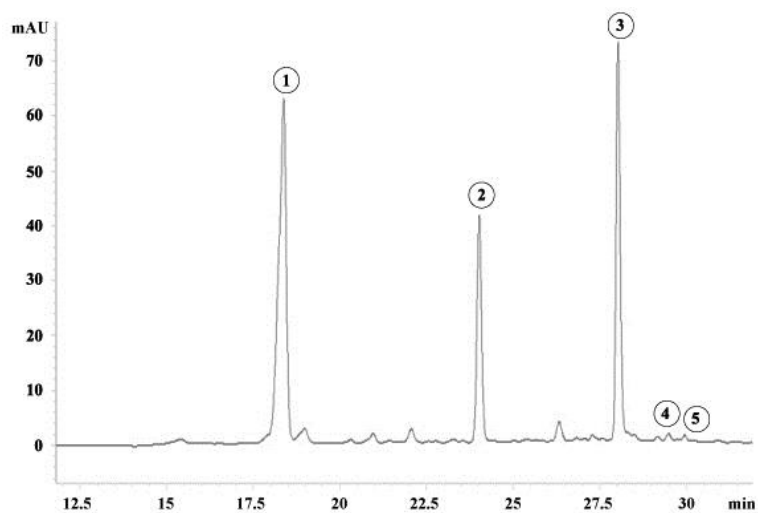
Hlorogenska kiselina je najzastupljenija hidroksicimetna kiselina u svim uzorcima bresaka, i kreće se u opsegu 32,96-299,61 mg/kg za koru, i 7,41-99,70 mg/kg za pulpu bresaka. Sledeća kiselina po zastupljenosti je neohlorogenska (16,93-84,53 mg/kg za koru, i 4,82-34,85 mg/kg), dok je sadržaj p-kumarne kiseline znatno niži (1,03-5,08 mg/kg za koru i 0,44-3,29 mg/kg za pulpu). Ako se naši rezultati uporede sa literaturnim koji su prikazani u Tabeli 4.14. može se uočiti da su u skladu sa navedenim, osim što su nešto viši od rezultata koje su objavili *Scordino i sar.*, (2012). Sorta Radmilovčanka je najbogatija hidroksicimetnim kiselinama, dok je najmanji sadržaj prisutan kod nektarine.

Kao kod hidroksicimetnih kiselina, sorta Radmilovčanka je najbogatija flavonolima, dok je najmanji sadržaj prisutan kod nektarine. Sadržaj flavonola je u skladu sa literaturnim (Tabela 4.14.).

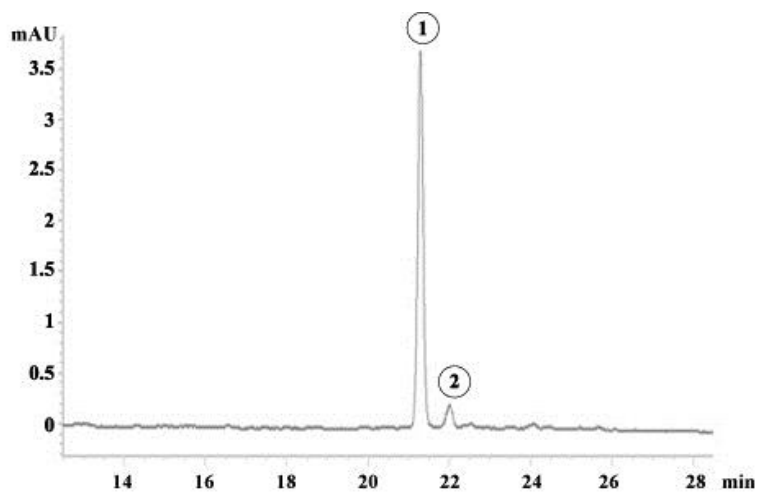
### ***Identifikacija i kvantifikacija fenolnih jedinjenja u plodu vinogradarskih bresaka***

Izvršena je identifikacija i glavnih fenolnih konponenta u metanolnim ekstraktima pet odabranih tipova vinogradarskih bresaka. Glavne grupe detektovanih fenolnih konponenta su hidroksicimetne kiseline, flavonoli i antocijanini.

HPLC hromatogram tri kiseline: kafene, p-kumarne i ferulne kiseline, snimljen na 320 nm prikazan je na Slici 4.18. Na istoj slici prikazana su i dva glikozida kvercetina. Kvantifikacija hidroksicimetnih kiselina data je u Tabeli 4.15. Sadržaj kafene kiseline se nalazi u opsegu od 1,10 do 14,75 mg/kg s.m., p-kumarne kiseline u opsegu od 0,17 do 3,12 mg/kg s.m. i ferulne kiseline od 0,83 do 8,96 mg/kg s.m. Kafena kiselina je najzastupljenija u svim ispitivanim tipovima vinogradarskih bresaka, i dostiže 54,69% od ukupnog sadržaja hidroksicimetnih kiselina, što je u skladu sa rezultatima *Mattila i sar.*, (2006), dok je p-kumarna kiselina sa 9,70% znatno manje zastupljena. Ako se razlike razmatraju na nivou uzoraka sortnih i vinogradarskih bresaka, uzimajući u obzir sastav hidroksicimetnih kiselina, vinogradarske breskve osim p-kumarne sadrže i kafenu i ferulnu kiselinu, dok su u sortnim breskvama osim p-kumarne prisutne neohlorogenska i hlorogenska kiselina. Prisustvo p-kumarne, ferulne i kafene kiseline odredili su *Gorinstein i sar.*, (2002) u španskim breskvama.



*Slika 4.18. HPLC hromatogram metanolnog ekstrakata vinogradarske breskve tipa I/14 detektovan na 320 nm. Jedinjenja: (1) kafena kiselina, (2) p-kumarna kiselina, (3) ferulna kiselina, (4) kvercetin-3-rutinozid, (5) kvercetin-3-glukozid.*



*Slika 19. HPLC hromatogram metanolnog ekstrakata vinogradarske breskve tipa I/14 detektovan na 520 nm. Jedinjenja: (1) cijanidin-3-glukozid, (2) cijanidin-3-rutinozid.*

HPLC hromatogram dva antocijana metanolnih ekstrakata vinogradarskih bresaka, snimljen na 520 nm, prikazan je na Slici 4.19. Vinogradarske breskve sadrže *cijanidin-3-glukozid* (2,03 mg/kg s.m., 91,12%) i *cijanidin-3-rutinozid* (0,18 mg/kg s.m., 8,88%), što je u saglasnosti sa literaturnim podacima (*Tomas-Barberan i sar., 2001*) u pogledu zastupljenosti identifikovanih cijanida. Međutim, prema literaturnim podacima sorte breskve sadrže znatno veće količine antocijana (*Orazem i sar., 2011*).

**Tabela 4.15.** Sadržaj hidroksicimetnih kiselina, flavonola i antocijana metanolnih ekstrakata ploda vinogradarskih bresaka

Jedinjenje	Uzorak 1	Uzorak 2	Uzorak 3	Uzorak 4	Uzorak 5
<b>CafA</b>	1,10 ± 0,05 <sup>1</sup>	5,77 ± 0,07	12,28 ± 0,09	14,75 ± 0,12	12,23 ± 0,11
<b>p-CouA</b>	0,17 ± 0,02	0,73 ± 0,05	2,08 ± 0,04	3,12 ± 0,07	2,80 ± 0,05
<b>FerA</b>	0,83 ± 0,02	3,29 ± 0,07	7,67 ± 0,08	8,96 ± 0,01	8,52 ± 0,15
<b>Σhidroksicimetnih</b>	2,10	9,79	22,02	26,83	23,55
<b>Cy-Glu</b>	1,42 ± 0,04	ND	ND	3,89 ± 0,05	0,79 ± 0,04
<b>Cy-Ru</b>	0,12 ± 0,01	ND	ND	0,32 ± 0,01	0,10 ± 0,01
<b>Σ antocijana</b>	1,54	/	/	4,21	0,89
<b>Q-Ru<sup>2</sup></b>	3,88 ± 0,11	8,29 ± 0,23	4,88 ± 0,16	2,01 ± 0,09	2,80 ± 0,10
<b>Q-Glu</b>	3,06 ± 0,15	6,38 ± 0,20	3,65 ± 0,12	1,92 ± 0,08	2,01 ± 0,06
<b>Σ flavonola</b>	6,94	14,67	8,53	3,93	4,81

<sup>1</sup>srednja vrednost ± SD, izražena u mg/kg sveže mase voća. Skraćenice: CafA, *kafena kiselina*; p-CouA, *p-kumarna kiselina*; FerA, *ferulna kiselina*; Cy-Glu, *cijanidin-3-glukozid*; Cy-Ru, *cijanidin-3-rutinozid*; Q-Ru, *kvercetin-3-rutinozid*; Q-Glu, *kvercetin-3-glukozid*; <sup>2</sup>ekvivalent Cy-Glu.

Od flavonola, vinogradarske breskve sadrže *kvercetin-3-rutinozid* i *kvercetin-3-glukozid* u količinama od 2,80 do 8,29 mg/kg s.m. i od 1,92 do 6,38 mg/kg s.m. Sadržaj ukupnih flavonola u uzorku 2 se znatno razlikuje od ostalih. Kako su za analizu uzeti plodovi



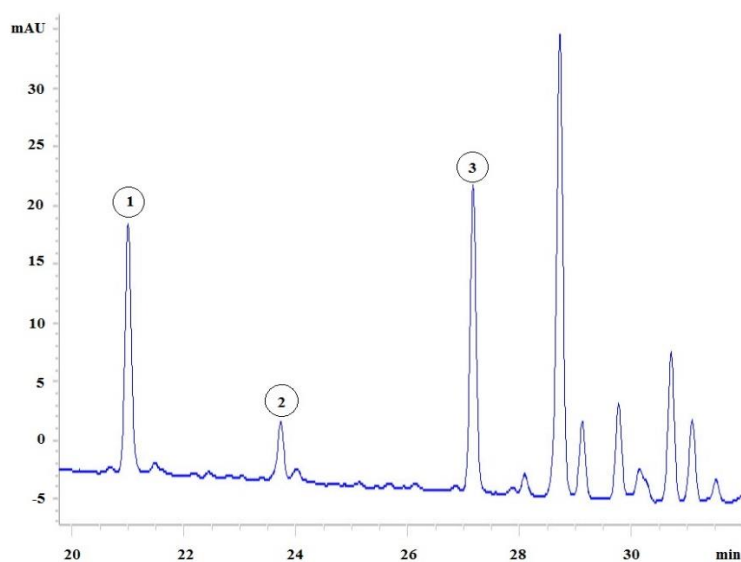
vinogradarskih bresaka, dobijene vrednosti za sadržaj ukupnih flavonola su uporedive sa litetaturnim podacima (Chang i sar., 2000).

### 4.2.3. HPLC analiza ekstrakata kore crvenih sorti jabuka

#### Identifikacija fenolnih jedinjenja u kori crvenih sorti jabuka

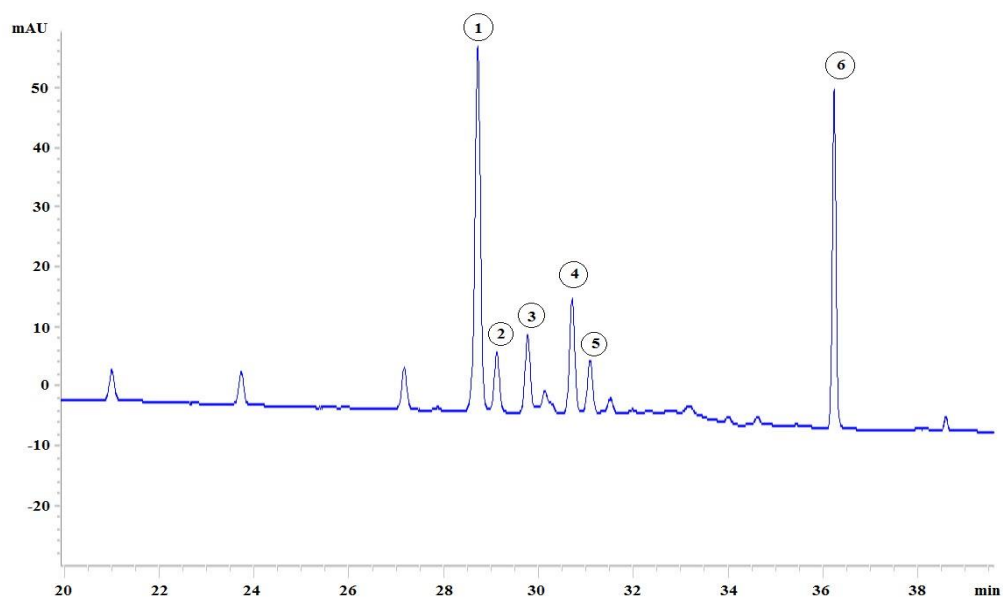
U cilju ispitivanja uticaja količine HCl u metanolnim ekstraktima na sadržaj pojedinačnih fenolnih jedinjenja, uzeti su uzorci kore pet crvenih sorta jabuka i ekstrahovani metanolom sa 0%, 0,1%, 1,0% i 2,0% HCl. Izvršena je identifikacija i kvantifikacija antocijana, flavan-3-ola, hidroksicimetnih kiselina i flavonola u svim metanolnim ekstraktima.

U metanolnim ekstraktima kore crvenih sorti jabuka kvantitativno su određena sledeća jedinjenja: hlorogenska, *p*-kumaroilhinska kiselina, ferulna kiselina (Slika 4.20), kvercetin-3-galaktozid, kvercetin-3-glukozid, kvercein-3-ksilozid, kvercetin-arabinozid, kvercetin-3-ramnozid, kvercetin (Slika 4.21), cijanidin-3-galaktozid (Slika 4.22), katehin procijanidin B2 i epikatehin (Slika 4.23).



**Slika 4.20.** HPLC hromatogram metanolnog ekstrakata kore jabuka sorte Modi detektovan na 320 nm. Jedinjenja: (1) hlorogenska kiselina, (2) *p*-kumaroil-hinska kiselina, (3) ferulna kiselina.

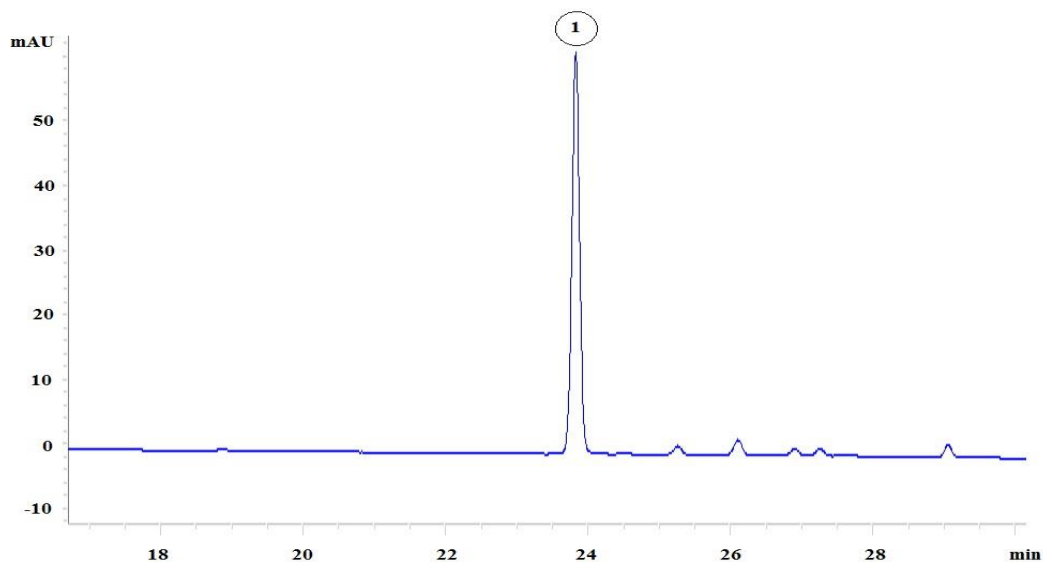
U pogledu sastava hidroksicimetnih kiselina u jabukama u literaturi se mogu naći različiti podaci. *Valavandis i sar.*, (2009) su detektovali samo hlorogensku kiselinu, *Hamazu i sar.*, (2006) hlorogensku, kafenu i ferulnu kiselinu, *Hamazu i sar.*, (2005) hlorogensku i kafenu, *Tsao i sar.*, (2003) hlorogensku i p-kumaroilhinsku kiselinu, *Gorinstein i sar.*, (2002) ferulnu, p-kumarnu i kafenu, dok su *Sun i sar.*, (2014) identifikovali i kvantifikovali hlorogensku, p-kumarnu, kafenu i ferulnu. Pri tome su analizirali različite sorte jabuka. Međutim, ako se razlike u literturnim podacima razmatraju na nivou iste sorte jabuka (Žuti delišes, *Tsao i sar.*, 2003 i *Sun i sar.*, 2014) mogu se zapaziti značajne razlike u pogledu sastava hidroksicimetnih kiselina, pa se izvodi zaključak da ne samo sorta već i geografsko poreklo ima veliki uticaj na sastav hidroksicimetnih kiselina u jabukama.



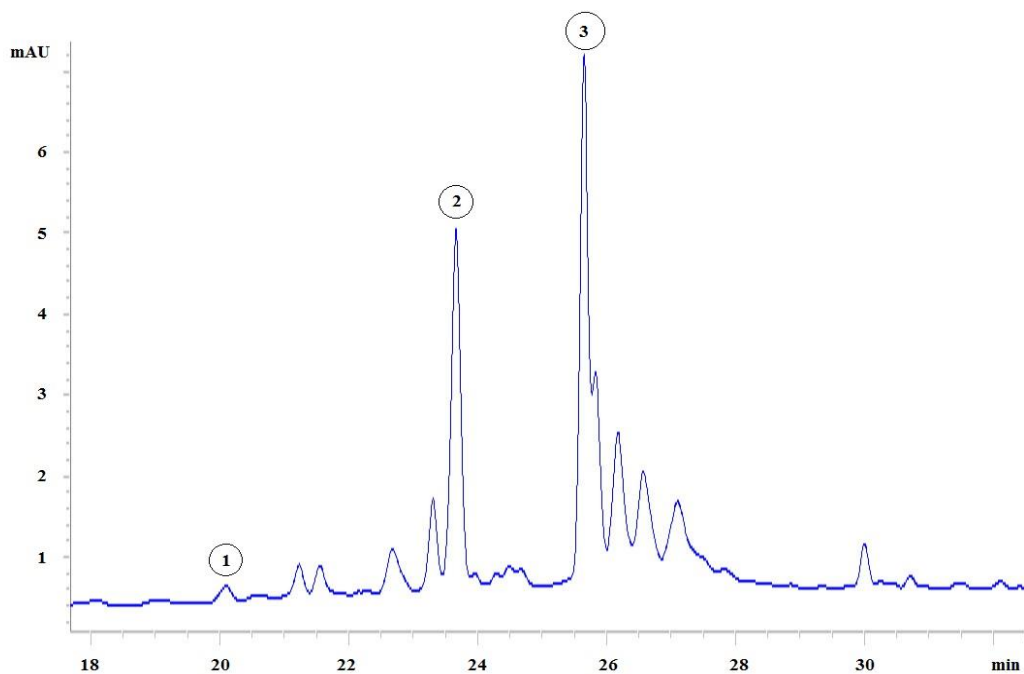
**Slika 4.21.** HPLC hromatogram metanolnog ekstrakata kore jabuka sorte Modi, snimljen na 360 nm. Jedinjenja: (1) kvercetin-3-galaktozid, (2) kvercetin-3-glukozid, (3) kvercetin-3-ksilozid, (4) kvercetin-3-arabinozid, (5) kvercetin-3-ramnozid, (6) kvercetin.

*Bizjak i sar.*, (2013) su u sorti jabuke Breburn odredili kvercetin-3-galaktozid i kvercetin-3-ramnozid, *Valavanidis i sar.*, (2009) u sorti Crveni delišes kvercetin-3-galaktozid i kvercetin-3-arabinozid, dok su u skladu sa našim rezultatima *Tsao i sar.*, (2003) i *Sun i sar.*, (2014) odredili kvercetin-3-galaktozid, kvercetin-3-glukozid, kvercetin-3-ksilozid, kvercetin-3-arabinozid i kvercetin-3-ramnozid.

Pokožica ispitivanih crvenih sorti jabuka od antocijana sadrži samo *cijanidin-3-galaktozid*, što je u skladu sa literaturnim podacima (Tsao i sar., 2003, Valavanidis i sar., 2009, Sun i sar., 2014).



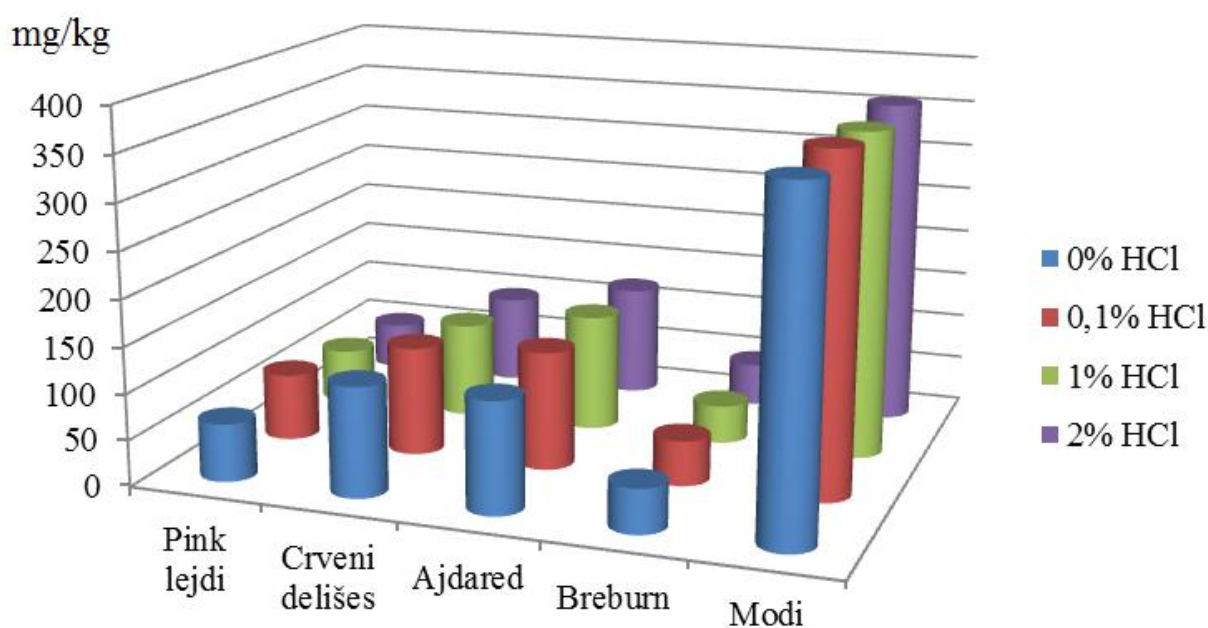
**Slika 4.22.** HPLC hromatogram metanolnog ekstrakata kore jabuka sotre Modi, detektovan na 520 nm. Jedinjenja: (1) cijanidin-3-galaktozid



**Slika 4.23.** HPLC hromatogram metanolnog ekstrakata kore jabuka sotre Pink lejdi, detektovan fluorescentnim detektorom. Jedinjenja: (1) katehin, (2) epikatehin, (3) procijanidin B2.

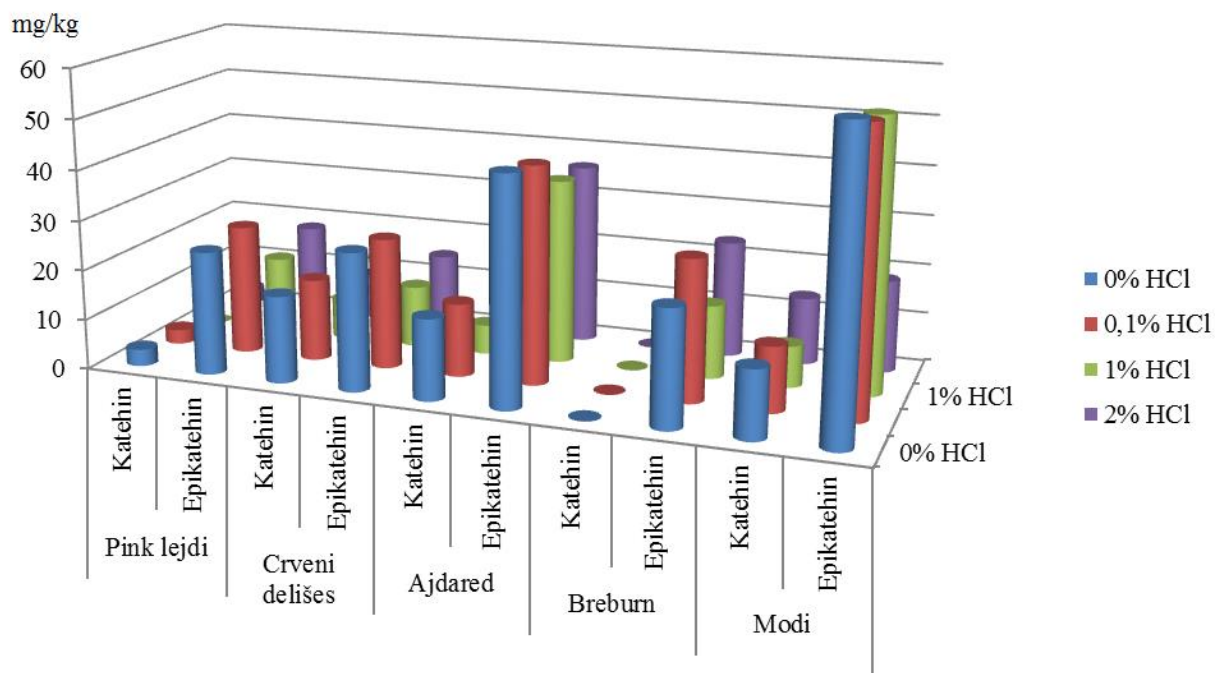
**Izbor rastvarača za ekstrakciju**

Slika 4.24 prikazuje rezultate HPLC određivanja uticaja koncentracije kiseline u metanolnim ekstraktima na sadržaj *cijanidin-3-galaktozida* u kori jabuka. Rezultati pokazuju da je ekstrakciju *cijanidin-3-galaktozida* najbolje vršiti apsolutnim metanolom ili metanolom sa malim sadržajem kiseline (0,1% HCl).



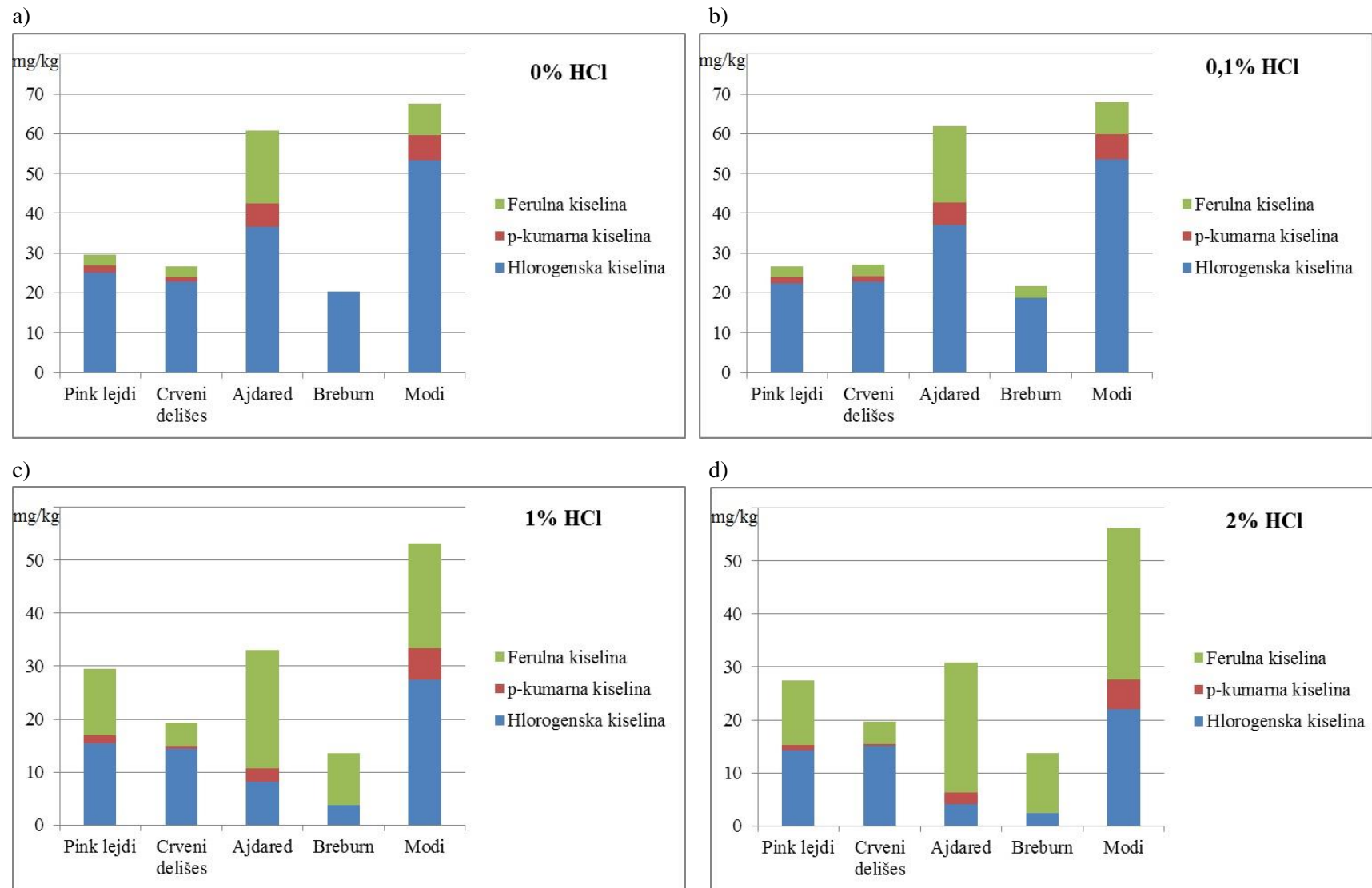
**Slika 4.24.** Sadržaj cijanidin-3-galaktozida (mg/kg s.m.) u metanolnim ekstraktima kore jabuka sa: a) 0% HCl; b) 0,1% HCl; c) 1,0% HCl; d) 2,0% HCl

Slika 4.25 prikazuje rezultate HPLC određivanja sadržaja *katehina* i *epikatehina* u kori jabuka u metanolnim ekstraktima sa 0%, 0,1%, 1,0% i 2,0% HCl. I u ovom slučaju, rezultati pokazuju da je ekstrakciju flavan-3-ola najbolje vršiti apsolutnim metanolom ili metanolom sa malim sadržajem kiseline (0,1% HCl).

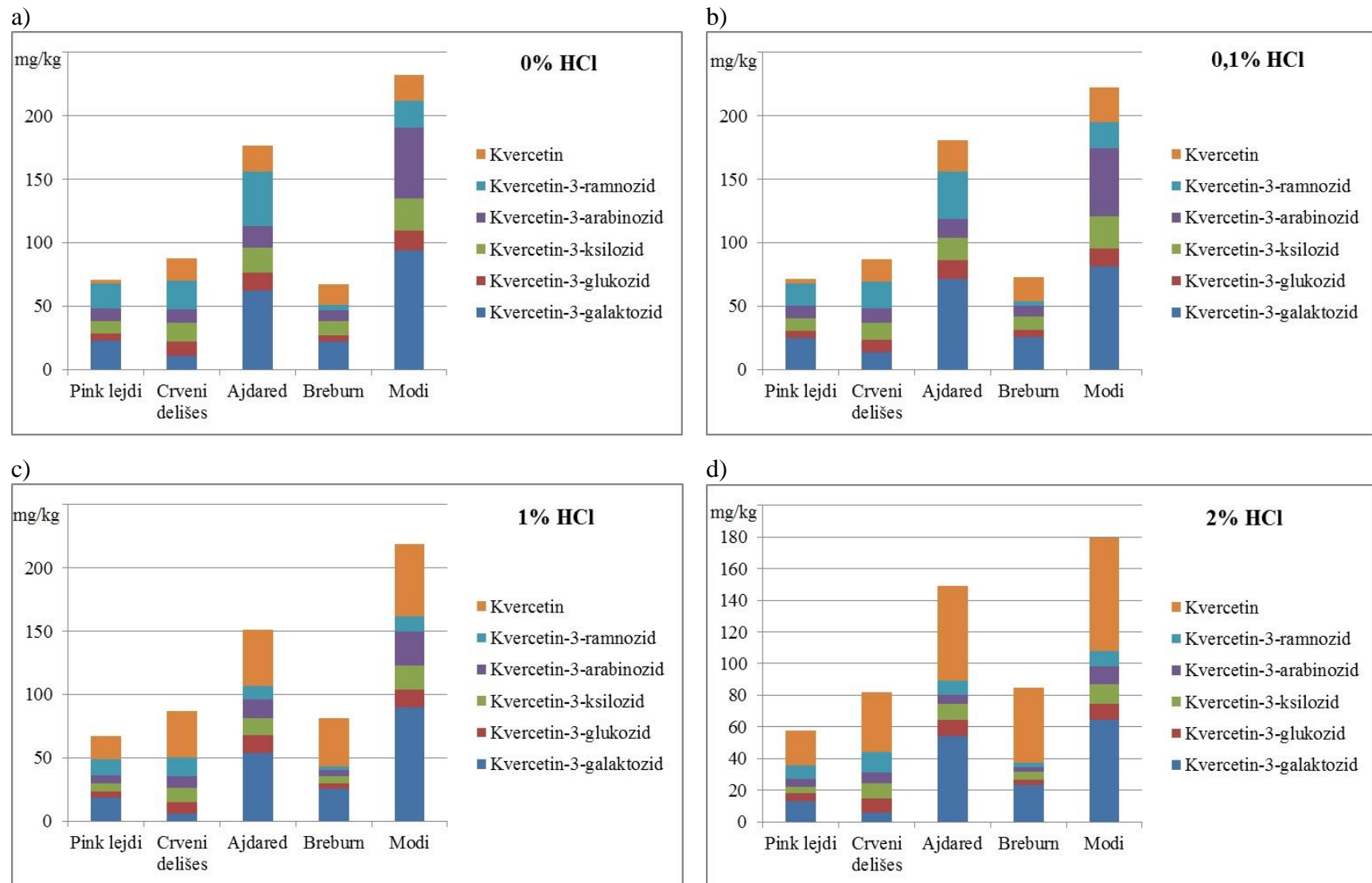


**Slika 4.25.** Sadržaj flavan-3-ola (mg/kg s.m.) u metanolnim ekstraktima kore jabuka sa: 0% HCl, 0,1% HCl, 1,0% HCl i 2,0% HCl

Slika 4.26. prikazuje rezultate HPLC određivanja sadržaja hidroksicimetnih kiselina u kori jabuka u metanolnim ekstraktima sa 0%, 0,1%, 1,0% i 2,0% HCl. Rezultati pokazuju da je ekstrakciju hidroksicimetnih kiselina najbolje vršiti apsolutnim metanolom ili metanolom sa malim sadržajem kiseline (0,1% HCl).



**Slika 4.26.** Sadržaj hidroksicimetnih kiselina (mg/kg s.m.) u metanolnim ekstraktima kore jabuka sa: a) 0% HCl; b) 0,1% HCl; c) 1,0% HCl; d) 2,0% HCl



Slika 4.27. Sadržaj flavonola (mg/kg s.m.) u metanolnim ekstraktima kore jabuka sa: a) 0% HCl; b) 0,1% HCl; c) 1,0% HCl; d) 2,0% HCl

Slika 4.27. prikazuje rezultate HPLC određivanja sadržaja flavonola u kori jabuka u metanolnim ekstraktima sa 0%, 0,1%, 1,0% i 2,0% HCl. Rezultati pokazuju da je ekstrakciju glikozida kvercetina najbolje vršiti apsolutnim metanolom ili metanolom sa malim sadržajem kiseline (0,1% HCl), dok je za kvercetin bolje koristiti metanol sa 2,0% HCl.

### **Kvantifikacija fenolnih jedinjenja u kori crvenih sorti jabuke**

Rezultati HPLC određivanja sadržaja *cijanidin-3-galaktozida* u metanolnom ekstraktu sa 0,1% HCl, flavan-3-ola u apsolutnom metanolu, hidroksicimetnih kiselina u apsolutnom metanolu i flavonola u apsolutnom metanolu (sa izuzetkom kvercetina u metanolnom ekstraktu sa 2% HCl), koji su se pokazali kao najefikasniji estragensi za odgovarajuće fenolne komponente, prikazani su u Tabeli 4.16, dok su svi podaci prikazani u Tabeli 8.6. (Prilog).

**Tabela 4.16.** Sadržaj cijanidin-3-galaktozida, flavan-3-ola, flavonola i hidroksicimetnih kiselina metanolnih ekstrakata kore jabuka

Jedinjenje	Pink lejdi	Crveni Delišes	Ajdared	Breburn	Modi
<b>Cijanidin-3-galaktozid<sup>2</sup></b>	72,61 <sup>1</sup>	119,86	128,22	48,62	365,42
<b>Katehin</b>	3,37	17,39	16,21	nd	13,61
<b>Epikatehin</b>	24,68	27,51	45,21	23,22	59,15
<b>Hlorogenska kiselina</b>	25,16	22,83	36,55	20,31	53,27
<b>p-kumarna kiselina</b>	1,73	1,24	6,03	nd	6,48
<b>Ferulna kiselina</b>	2,65	2,50	18,27	nd	7,85
<b>Kvercetin-3-galaktozid</b>	22,32	10,84	61,87	22,04	94,25
<b>Kvercetin-3-glukozid</b>	5,62	11,12	14,73	4,77	15,11
<b>Kvercetin-3-ksilozid<sup>3</sup></b>	10,21	14,89	19,61	11,13	25,78
<b>Kvercetin-3-arabinozid<sup>3</sup></b>	10,22	10,65	17,09	8,66	55,64
<b>Kvercetin-3-ramnozid<sup>3</sup></b>	19,73	22,72	42,94	4,36	21,16
<b>Kvercetin</b>	22,14	37,86	59,40	47,30	71,94

<sup>1</sup>srednja vrednost izražena u mg/kg sveže mase voća.; <sup>2</sup>ekvivalent cijanidin-3-glukozida; <sup>3</sup>ekvivalent kvercetin-3-glukozida



U Tabeli 4.17. dat je literaturni pregled sadržaja fenolnih jedinjenja u kori jabuka sa različitog područja od strane različitih istraživača u cilju diskusije i poređenja rezultata dobijenih u ovom radu. Hidroksicimetne kiseline su prekursori isparljivih jedinjenja koja doprinose aroma jabuke. Halogenska kiselina u jabukama se pretvara u o-hinon, reaguje sa drugim fenolnim jedinjenjima, što dovodi do formiranja žutih i smeđih pigmenata kada su izložene kiseoniku.

Hlorogenska kiselina je najzastupljenija od hidroksicimetnih kiselina (20,31-53,27 mg/kg), zatim sledi ferulna (0-18,27 mg/kg), pa p-kumarna kiselina (0-6,48 mg/kg). Ovi rezultati su u skladu sa literaturnim (*Valavanidis i sar., 2009; Karaman i sar., 2012; Barbosa i sar., 2011*), dok su niži od rezultata koje su objavili *Gorinstein i sar., (2001)*.

Kora jabuka je veoma bogata flavonolima, tj. kvercetinom, koji se nalazi isključivo u kori jabuka. Prema *Benbrook-u (2005)* kvercetin i kemferol se ponašaju kao helatni agensi koji mogu da neutrališu slobodne radikale. Kao deo ljudske ishrane imaju zaštitnu ulogu od degenerativnih bolesti, različitih tipova raka i kardiovaskularnih bolesti. Antioksidativna aktivnost kvercetina i kemferola i njihovih metabolita zavisi od rasporeda funkcionalnih grupa na prstenu.

Sadržaj *cijanidin-3-galaktozida* se kreće u opsegu 48,62-365,42 mg/kg, što je nešto veći sadržaj od onog koji su objavili *Valavanidis i sar., (2009)*. Sadržaj *catehina* od 0-17,39 mg/kg je u skladu sa literaturnim podacima navedenim u Tabeli 4.17. osim sa rezultatima *Karamana i sar., (2012)* koji su objavili nešto viši sadržaj. *Epikatehin* je određen u opsegu 23,22-59,15 mg/kg. Osim sa rezultatima *Valavanidisa i sar., (2009)* koji su nešto veći, naši rezultati su u skladu sa literaturnim, navedenim u Tabeli 4.17.

**Tabela 4.17.** Literaturni pregled određivanja sadržaja cijanidin-3.galaktozida, flavan-3-ola, flavonola i hidroksicimetnih kiselina u uzorcima jabuka izražen u mg/kg g svežeg voća

<b>Poreklo</b>	<b>Ekstragens</b>	<b>C</b>	<b>EC</b>	<b>5-CQA</b>	<b>p-CouA</b>	<b>FerA</b>	<b>Q-Ga</b>	<b>Q</b>	<b>Cy-Ga</b>	<b>Literatura</b>
<b>SAD</b>	12% etanol	nd-4,7	/	27-50	2,2-14	/	/	76-290	/	<i>Barbosa i sar., 2011</i>
<b>Izrael</b>	95% etanol	/	11	/	531	149	/	/	/	<i>Gorinstein i sar., 2001</i>
<b>Grčka</b>	90% metanol	8-36	136-324	38-112	/	/	59-135	/	8-107	<i>Valavanidis i sar., 2009</i>
<b>Turska</b>	70% metanol	42,2-160,2	24,3-130,1	4,8-81,2	/	/	/	99,2-886,5	/	<i>Karaman i sar., 2012</i>

Skraćenice: C, katehin; EC, epikatehin; 5-CQA, 5-O-kafeolihinska kiselina; p-CouA, p-kumarna kiselina; FerA, ferulna kiselina; Q-Ga, kvercetin-3-galaktozid; Cy-Ga, cijanidin-3-galaktozid.

### **4.3. ANTIOKSIDATIVNA AKTIVNOST EKSTRAKATA VOĆA**

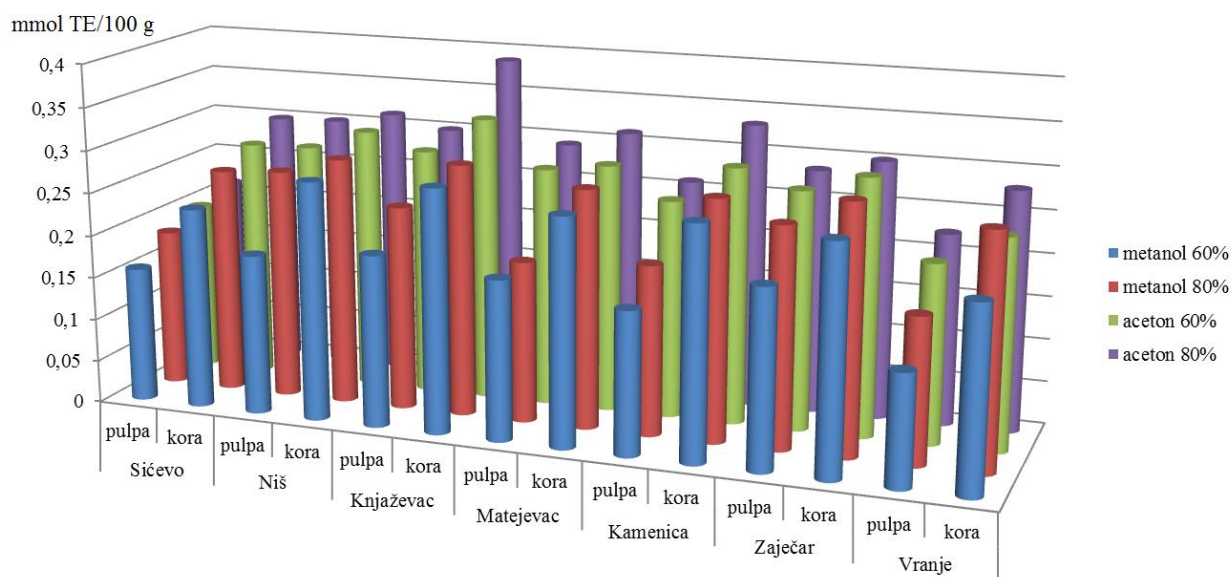
Veliki broj naučnih radova antioksidativnu aktivnost voća, povrća i lekovitog bilja povezuje sa sadržajem biljnih fenola. Unos fenola putem ishrane povezan je sa smanjenjem rizika za nastanak niza različitih oboljenja, uključujući kancer, kardiovaskularna oboljenja, šlog, visoki krvni pritisak, katarakte, osteoporozu i infekcije urinarnog trakta (*Meskin i sar., 2003; Omaye i sar., 2000*). Smatra se da je antioksidativna sposobnost fenola prvenstveno rezultat njihove sposobnosti da budu donori vodonikovih atoma i kao takvi uklanjaju slobodne radikale uz formiranje manje reaktivnih fenoksil radikala. Takođe, moguć je i elektron transfer sa antioksidansa na slobodni radikal. Osim navedenih načina, prirodni antioksidansi mogu helirati prelazne metale i tako sprečiti njihovu ulogu u katalizi oksidativnih reakcija, a kao posledica toga date reakcije postaju sporije. Imajući u vidu kompleksnost antioksidativnih mehanizama, potrebno je u procesu određivanja antioksidativnog potencijala voća izabrati više *in vitro* nezavisnih testova. U ovom radu, za određivanje antioksidativne aktivnosti ekstrakata voća korišćene su DPPH, ABTS, FRAP i RP metoda. Mnogi autori koriste ove metode za upoređivanje antioksidativne aktivnosti (*Gong i sar., 2012; Ozgen i sar., 2006*).

Faktori kao što su stereoselektivnost radikala i rastvorljivost ekstrakata u različitim test sistemima, utiču na sposobnost sistema da reagiju sa slobodnim radikalima i uklone ih (*Yu i sar., 2002*).

#### **4.3.1. Antioksidativna aktivnost metanolnih i acetonskih ekstrakata dunja**

Antioksidativna aktivnost metanolnih (60%, 80%) i acetonskih (60%, 80%) ekstrakata kore i pulpe dunja sa sedam različitih lokacija ispitana je DPPH, ABTS, FRAP i RP metodama.

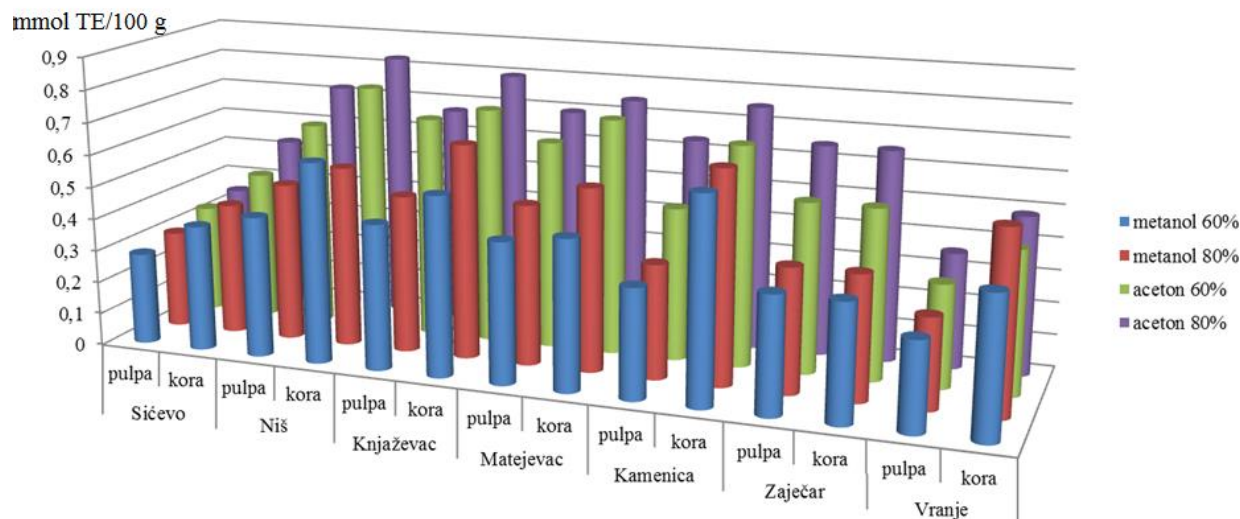
Na Slikama od 4.30. do 4.33. prikazani su rezultati spektrofotometrijskog određivanja antioksidativne aktivnosti ispitivanih ekstrakata.



**Slika 4.31.** Efekat rastvarača i njegove koncentracije na radikal-hvatačke sposobnosti metanolnih i acetonskih ekstrakata pulpe i kore dunja prema DPPH radikalu (mmol TE/100g s.m.)

Kod svih navedenih testova za određivanje antioksidativne aktivnosti vrednosti opadaju u sledećem nizu: 80% acetone > 60% acetone > 80% metanol > 60% metanol kako za ekstrakte kore, tako i za ekstrakte pulpe.

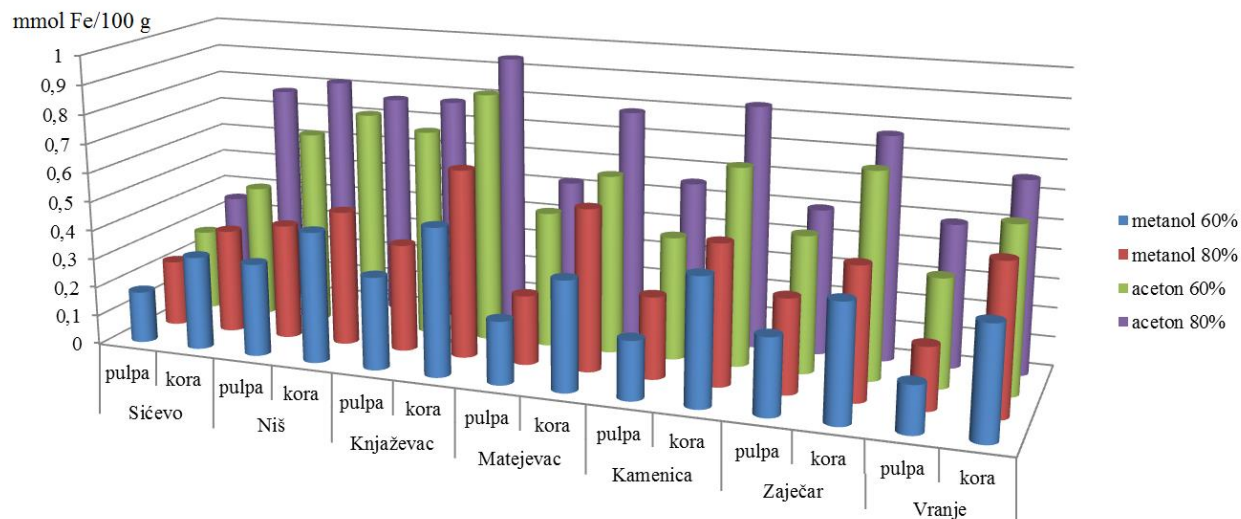
Ekstrakti sa 80% acetona pulpe i kore dunje pokazuju najveće radikal-hvatačke sposobnosti prema relativno stabilnom DPPH radikalu u poređenju sa ostalim rastvaračima (Slika 4.31.). Takođe, ovi isti ekstrakti pokazuju i najjaču sposobnost hvatanja reaktivnog ABTS radikala (Slika 4.32.). Antioksidativne aktivnosti ekstrakata pulpe i kore dunje određene ABTS metodom su nešto više u odnosu na odgovarajuće vrednosti dobijene DPPH metodom zbog manje stabilnosti ABTS katjon radikala, iako su obe vrednosti izračunate kao troloks ekvivalent (TE).



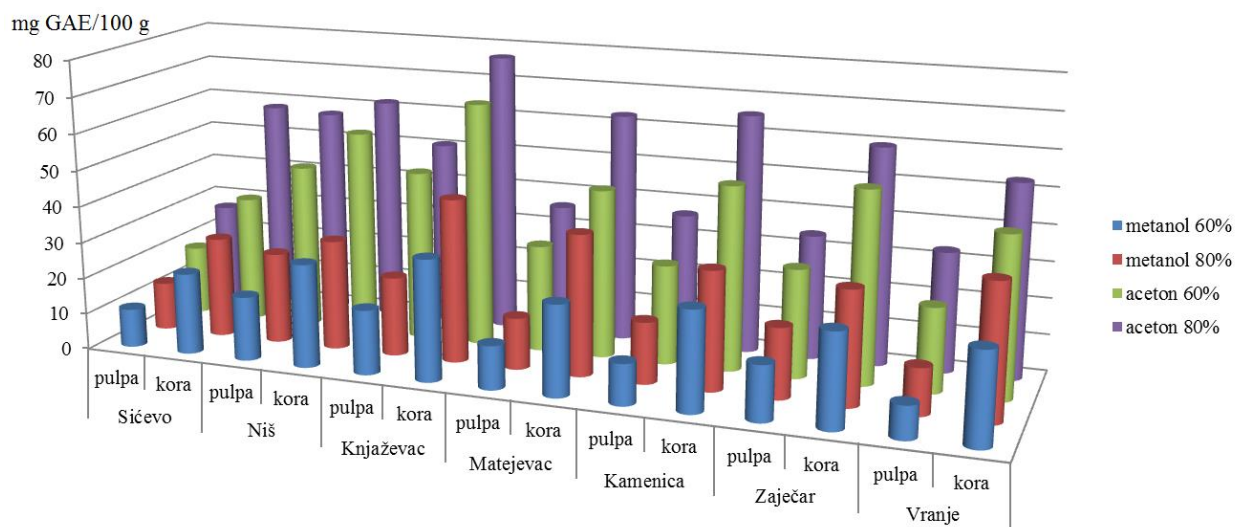
**Slika 4.32.** Efekat rastvarača i njegove koncentracije na radikal-hvatačke sposobnosti metanolnih i acetonskih ekstrakata pulpe i kore dunja prema ABTS katjon-radikalu (mmol TE/100g s.m.)

FRAP i RP metode se baziraju na reduktivnoj sposobnosti ispitivanih ekstrakata za redukciju  $\text{Fe}^{3+}$  do  $\text{Fe}^{2+}$ . Kod RP metode, redukuje se fericijanidni do ferocijanidnog kompleksa dok se kod FRAP metode redukuje fero-TPTZ do feri-TPTZ kompleksa. Ekstrakti kore i pulpe dunje sa 80% acetonom su pokazali i u ovim metodama bolju antioksidativnu aktivnost u odnosu na ostale ekstragense (Slika 4.33 i Slika 4.34.).

Slična ispitivanja uticaja tipa rastvarača i njegove koncentracije na antioksidativnu aktivnost različitih vrsta voća sprovedli su i drugi autori. *Alothman i sar.*, (2009) su ispitali antioksidativnu aktivnost južnog voća u ekstraktima metanola (50%, 70% i 90%), etanola (50%, 70% i 90%) i acetona (50%, 70% i 90%), pri čemu su dobili da ekstrakti 90% acetone pokazuju najveću radikal-hvatačku sposobnost prema DPPH radikal, a takođe se najveće vrednosti dobijaju i kod FRAP metode.



**Slika 4.33.** Efekat rastvarača i njegove koncentracije na radikal-hvatačke sposobnosti ekstrakata pulpe i kore dunje određene FRAP metodom (mmol Fe/100g s.m.)



**Slika 4.34.** Efekat rastvarača i njegove koncentracije na radikal-hvatačke sposobnosti ekstrakata pulpe i kore dunje određene RP metodom (mg GAE/100g s.m.)

Više primenjenih antioksidativnih *in vitro* testova na ekstraktima kore i pulpe dunje pomogli su pri izboru najboljeg rastvarača za dobijanje ekstrakata. Acetonski ekstrakti (80%, v/v) se pokazao kao najbolji ne samo u svim antioksidativnim testovima već i pri određivanju sadržaja ukupnih fenola, flavonoida, flavonola i hidroksicimetnih kiselina.

Vrednosti antioksidativnih aktivnosti ekstrakata kore i pulpe dunje u 80% acetonu, određene metodama DPPH, ABTS, FRAP i RP date su u Tabeli 4.19, dok su svi podaci dati u Tabeli 8.9. i 8.10. (Prilog).

**Tabela 4.19.** Antioksidativna aktivnost acetonskih ekstrakata kore i pulpe dunja određena DPPH, ABTS, FRAP i RP metodom.

Lokacija	Deo voća	DPPH mmol TE/100g s.m.	ABTS mmol TE/100g s.m.	FRAP mmol Fe/100g s.m.	RP mg GAE/100g s.m.
Sićevo	Kora	0,299±0,002	0,530±0,004	0,770±0,005	58,228±0,43
	Pulpa	0,213±0,001	0,349±0,002	0,353±0,004	26,906±0,24
Niš	Kora	0,314±0,003	0,829±0,007	0,769±0,006	61,907±0,57
	Pulpa	0,301±0,002	0,722±0,006	0,816±0,006	57,359±0,58
Knjaževac	Kora	0,388±0,003	0,797±0,005	0,941±0,008	76,865±0,58
	Pulpa	0,300±0,002	0,673±0,005	0,774±0,007	50,892±0,66
Matejevac	Kora	0,312±0,002	0,746±0,006	0,783±0,006	62,945±0,66
	Pulpa	0,293±0,002	0,696±0,006	0,520±0,006	33,421±0,32
Kamenica	Kora	0,332±0,003	0,752±0,006	0,834±0,007	65,514±0,72
	Pulpa	0,260±0,002	0,636±0,005	0,553±0,006	36,627±0,42
Zaječar	Kora	0,301±0,003	0,764±0,007	0,768±0,006	59,653±0,52
	Pulpa	0,285±0,002	0,650±0,005	0,500±0,005	34,145±0,41
Vranje	Kora	0,280±0,002	0,486±0,004	0,657±0,007	53,074±0,58
	Pulpa	0,224±0,001	0,356±0,003	0,490±0,006	32,982±0,46

U Tabeli 4.19. prikazani su rezultati četiri antioksidativna testa za najefikasniji ekstragens, 80% aceton (v/v). Najveću antioksidativnu aktivnost za sva četiri testa, pokazali su uzorci iz Knjaževca. Radikal-hvatačka aktivnost prema DPPH radikalu za ovaj uzorak iznosi 0,388 mmol TE/100g s.m za koru i 0,300 mmol TE/100g s.m. za pulpu, dok radikal-hvatačka aktivnost prema ABTS katjon-radikalu za ovaj uzorak iznosi 0,797 mmol TE/100g s.m za koru i 0,673 mmol TE/100g s.m. za pulpu. Ovi rezultati su uporedivi sa rezultatima *Wojdylo i sar., 2013*, koji su određivali antioksidativni kapacitet u ekstraktima cele dunje i dobili rezultate 0,09-0,23 mmol TE/100g s.m. za ABTS test, dok su im vrednosti za DPPH test značajno niže, i nalaze se u opsegu od 0,09-0,25 mmol TE/100g s.m. Antioksidativna

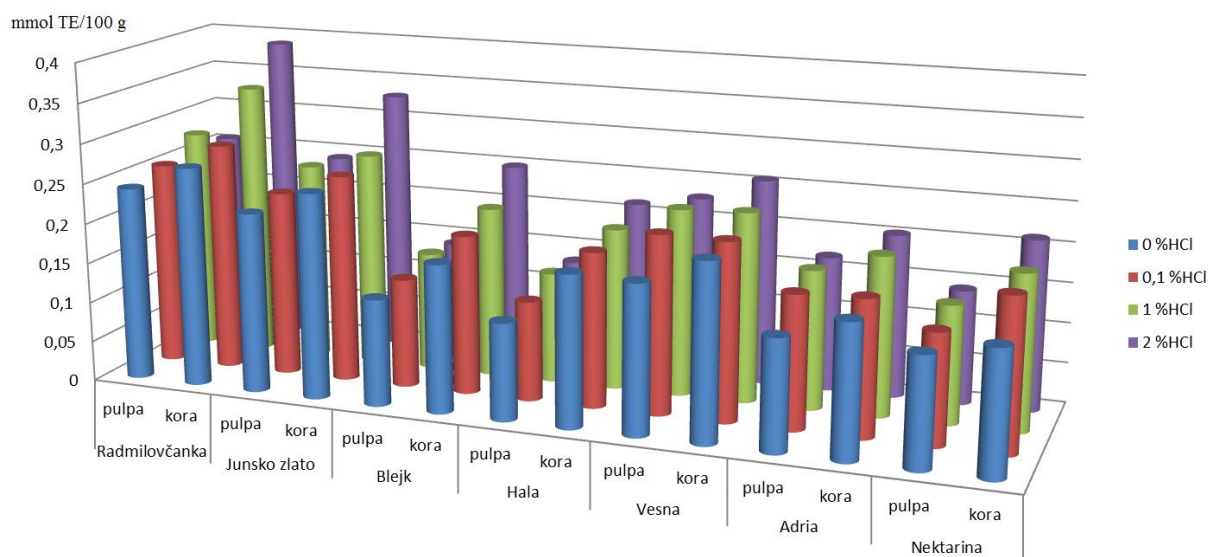
aktivnost za uzorak iz Knjaževca određena FRAP i RP testom iznosi 0,941 mmol Fe/100g s.m. i 76,865 mg GAE/100g s.m. za koru, a 0,774 mmol Fe/100g s.m. i 50,982 mg GAE/100g za pulpu.

#### 4.3.2. Antioksidativna aktivnost sortnih i vinogradarskih bresaka

Određena je i antioksidativna aktivnost kore i pulpe šest sorti bresaka i jedne sorte nektarina u acetonskim ekstraktima (80%) u prisustvu različitih koncentracija hlorovodonične kiseline, DPPH, ABTS, FRAP i RP metodama. Takođe, DPPH metodom određena je antioksidativna aktivnost pet tipova metanolnih ekstrakata vinogradarskih bresaka.

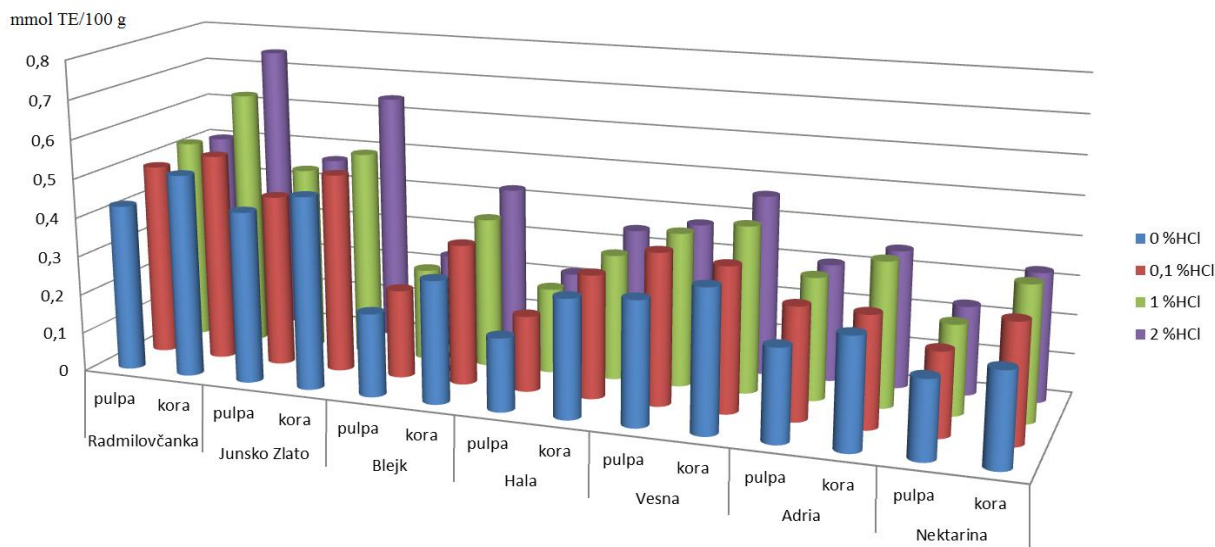
Na Slikama od 4.34. do 4.37. prikazani su rezultati spektrofotometrijskog određivanja uticaja koncentracije kiseline u ispitivanim ekstraktima kore i pulpe bresaka na antioksidativne aktivnosti.

Može se videti da acetonski ekstrakti sa 1,0 i 2,0% HCl prikazuju približno jednake hvatačke sposobnosti DPPH<sup>•</sup> i ABTS<sup>•+</sup> radikala. Slična situacija je i u slučaju određivanja antioksidativne aktivnosti FRAP i RP metodama (Slike 4.36. i 4.37.).

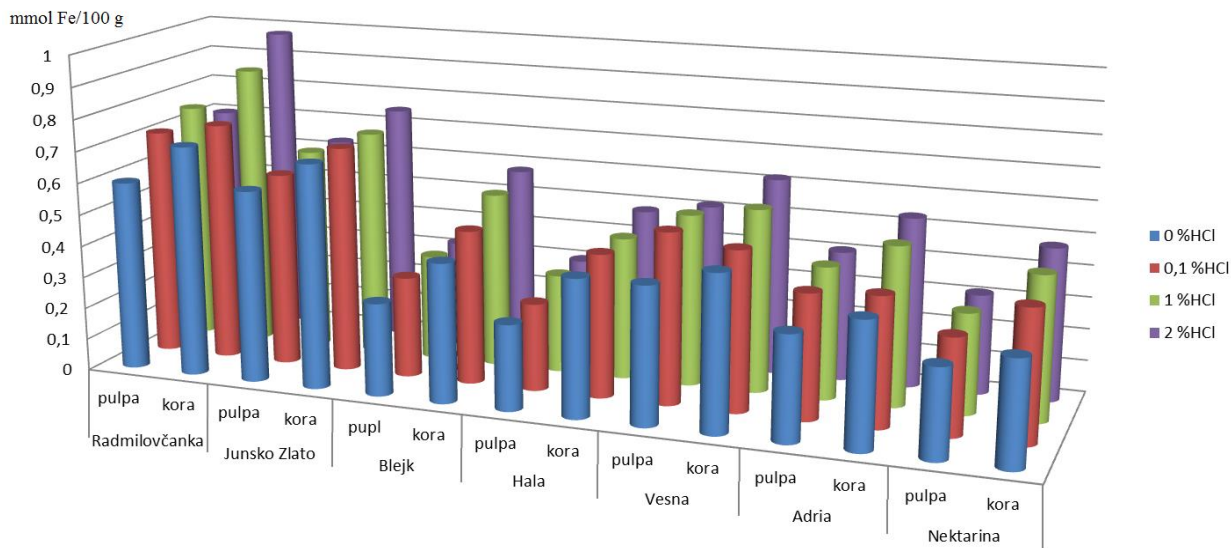


**Slika 4.35.** Efekat koncentracije kiseline HCl na radikal-hvatačke sposobnosti acetonskih ekstrakata kore i pulpe bresaka prema DPPH radikalu (mmol TE/100g s.m.)

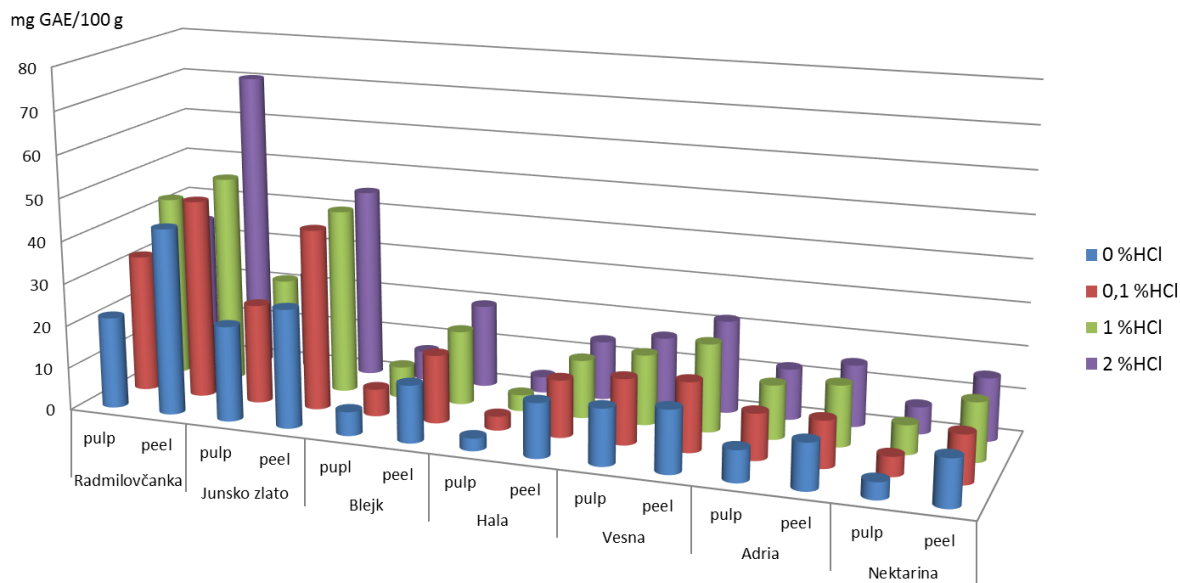




*Slika 4.36. Efekat koncentracije kiseline HCl na radikal-hvatačke sposobnosti ekstrakata kore i pulpe breskve prema ABTS katjon- radikal (mmol TE/100 g s.m.)*



*Slika 4.37. Efekat koncentracije kiseline HCl na radikal-hvatačke sposobnosti ekstrakata kore i pulpe breskve određene FRAP metodom (mmol Fe/100g s.m.)*



**Slika 4.38.** Efekat koncentracije kiseline HCl na radikal-hvatačke sposobnosti ekstrakata kore i pulpe breskve određene RP metodom (mg GAE/100g s.m.)

Vrednosti antioksidativnih *in vitro* testova dobijenih iz acetonskih ekstrakata pulpe i kore breskve u prisustvu 1,0% i 2,0% HCl date su Tabeli 4.20., dok su svi podaci dati u Tabeli 8.11. i Tabeli 8.12. (Prilog).

Radikal-hvatačke sposobnosti ekstrakata kore i pulpe bresaka prema DPPH radikalu prikazane su u Tabeli 4.20. Ekstrakti kore kod svih uzoraka bresaka pokazuju veću radikal-hvatačku sposobnost od odgovarajućih ekstrakata pulpe u opsegu 0,193-0,388 mmol TE/100g s.m. dok ekstrakti pulpe pokazuju vrednosti u opsegu 0,136-0,278 mmol TE/100g s.m. Ekstrakti kore Radmilovčanke pokazuju najveću aktivnost, dok je najmanja određena kod sorte Adria. Kod ekstrakata pulpe, najviša vrednost je utvrđena takođe kod Radmilovčanke, a najniža kod sorte Hala. Analizom varijansi (ANOVA) je utvrđena značajna razlika ( $p < 0,05$ ) radikal-hvatačke sposobnosti između kore i pulpe svake vrste. *Reig i sar.*, (2012) su saopštili slične rezultate 0,019-0,252 mmol TE/100g s.m. za pulpu i 0,08-0,239 mmol TE/100g s.m. za koru bresaka. Slični rezultati se mogu naći i za pulpu bresaka: 0,117-0,334 mmol TE/100 g (*Abidi i sar.*, 2011) i 0,091-0,256 mmol TE/100 g (*Cantin i sar.*, 2009), dok za plod bresaka (kora+pulpa) mogu se naći rezultati: 0,174-0,531 mmol TE/100 g (*Vizzotto u sar.*, 2007), zatim 0,175-0,343 mmol TE/100 g (*Cevallos-Sasala i sar.*, 2006).

**Tabela 4.20.** Antioksidativna aktivnost acetonskih ekstrakata kore i pulpe bresaka određena DPPH, ABTS, FRAP i RP metodom.

Sorta	Deo	DPPH mmol TE/100g s.m.	ABTS mmol TE/100g s.m.	FRAP mmol Fe/100g s.m.	RP mg GAE/100g s.m.
Radmilovčanka	Kora <sup>1</sup>	0,388±0,00	0,746±0,004	0,977±0,018	70,47±0,43
	Pulpa <sup>2</sup>	0,278±0,00	0,520±0,006	0,754±0,010	42,83±0,68
Junsko zlato	Kora <sup>1</sup>	0,268±0,00	0,528±0,004	0,749±0,016	42,48±0,62
	Pulpa <sup>2</sup>	0,242±0,00	0,473±0,006	0,639±0,014	25,44±0,28
Blejk	Kora <sup>1</sup>	0,249±0,00	0,424±0,009	0,580±0,007	19,57±0,11
	Pulpa <sup>2</sup>	0,136±0,00	0,231±0,007	0,324±0,007	6,88±0,07
Hala	Kora <sup>1</sup>	0,214±0,00	0,345±0,005	0,483±0,005	13,89±0,12
	Pulpa <sup>2</sup>	0,138±0,00	0,218±0,004	0,309±0,006	3,82±0,05
Vesna	Kora <sup>1</sup>	0,257±0,00	0,462±0,005	0,619±0,010	21,79±0,31
	Pulpa <sup>2</sup>	0,233±0,00	0,392±0,002	0,533±0,005	16,45±0,21
Adria	Kora <sup>1</sup>	0,198±0,00	0,352±0,005	0,499±0,008	14,25±0,21
	Pulpa <sup>2</sup>	0,173±0,00	0,312±0,004	0,408±0,005	12,64±0,15
Nektarina	Kora <sup>1</sup>	0,193±0,00	0,328±0,001	0,451±0,010	13,76±0,11
	Pulpa <sup>2</sup>	0,142±0,00	0,227±0,003	0,315±0,007	6,33±0,06

<sup>1</sup> acetonski ekstrakti sa 1% HCl; <sup>2</sup> acetonski ekstrakti sa 2% HCl

Ispitivani ekstrakti pokazuju širok opseg ABTS<sup>+</sup> radikal hvatačku sposobnost od 0,328 do 0,746 mmol TE/100 g s.m. za koru i 0,218-0,520 mmol TE/100 g s.m. za pulpu (Tabela 4.20.) I ovde ekstrakti kore kod svih uzoraka bresaka pokazuju veću radikal-hvatačku sposobnost od odgovarajućih ekstrakata pulpe. Ekstrakti kore Radmilovčanke pokazuju najveću aktivnost, dok je najmanja određena za nektarinu. Kod ekstrakata pulpe, najviša vrednost je utvrđena takođe kod Radmolovčanke, a najniža kod sorte Hala. Slične rezultate su prezentovali *Montevecchi i sar*, (2012) za sortu sicilijanske bele breskve (0,26-0,72 mmol TE/100 g s.m. za pulpu i 0,38-1,39 mmol TE/100 g s.m. za koru).

U Tabeli 4.20. prikazani su rezultati određivanja antioksidativne aktivnosti FRAP metodom. Antioksidativna aktivnost ekstrakata kore kreće se od 0,451 do 0,977 mmol Fe/100g s.m. dok je za ekstrakte pulpe nešto niža i kreće se od 0,309 do 0,754 mmol Fe/100g s.m. Ovi rezultati su u skladu sa rezultatima koje su objavili *Guo i sar*, (2003) (0,38 mmol TE/100g s.m. za pulpu i 0,95 mmol TE/100g s.m. za koru). *Remorini i sar*, (2008) i *Stratil i sar*, (2006) su objavili slične rezultate.

U Tabeli 4.20. predstavljeni su rezultati određivanja antioksidativne aktivnosti RP metodom. Rezultati se kreću od 13,76 do 70,47 mmol Fe/100g s.m. za ekstrakte kore i od 3,82 do 42,83 mmol Fe/100g s.m. za ekstrakte pulpe. I ovde je vrsta Radmilovčanka, kao i kod svih prethodno navedenih testova pokazala najviše vrednosti.

Antioksidativna aktivnost pet tipova vinogradarskih bresaka, izražena kao milimol (mmol) Troloks ekvivalenta na 100 g sveže mase, prikazana je u Tabeli 4.21. i njene vrednosti se kreću u intervalu od 1,04 do 1,15 mmol TE/100 g s.m. Ovi rezultati su u skladu sa literaturnim podacima (*Dragović-Uzelac i sar., 2009; Orazem i sar., 2011*).

Korišćenjem *Duncan*-ovog testa višestrukih intervsla jasno se uočavaju značajne razlike između uzoraka 3, 4, 5 i uzorka 1.

**Tabela 4.21.** Radikal-hvatačke sposobnosti metanolnih ekstrakata vinogradarskih bresaka prema DPPH radikalu

Uzorak	Tip	DPPH (mmol TE/100g s.m.) <sup>1</sup>
1	I / 8	1,04 ± 0,03 <sup>c,2</sup>
2	I / 1	1,09 ± 0,02 <sup>dc</sup>
3	I / 5	1,15 ± 0,01 <sup>a</sup>
4	I / 14	1,14 ± 0,01 <sup>ad</sup>
5	II / 8	1,12 ± 0,01 <sup>abd</sup>

<sup>1</sup>rezultati su dati kao srednja vrednost ± standardna devijacija (n=3), <sup>2</sup>brojevi označeni različitim slovima u koloni se signifikantno razlikuju kada se koristi *Duncan*-ov test

### 4.3.3. Antioksidativna aktivnost metanolnih ekstrakata jabuke

Uticaj sorte voća na antioksidativnu aktivnost ispitan je određivanjem antioksidativne aktivnosti metanolnih ekstrakata petnaest različitih sorti jabuka. I u ovom slučaju korišćene su DPPH, ABTS, FRAP i RP metoda. Dobijene vrednosti prikazane su u Tabeli 4.22., a rezultati izraženi u troloks ekvivalentima (mmol TE/100g s.m.), koncentraciji Fe (mmol Fe/100g s.m.) i ekvivalentima galne kiseline (mg GAE/100g s.m.).

Svi ispitivani ekstrakti odabranih uzoraka pokazuju jaku DPPH radikal-hvatačku aktivnost. Vrednosti DPPH radikal-hvatačke aktivnosti su u opsegu od 0,227 do 0,276

mmol/100g s.m. Takođe, ispitivani ekstrakti su pokazali značajnu ABTS radikal-hvatačku aktivnost. Vrednosti se nalaze u opsegu od 0,181 do 0,536 mmol/100g s.m. Najvišu ABTS radikal-hvatačku aktivnost među ispitivanim uzorcima je pokazala sorta Kožara, a najnižu Breburn.

**Tabela 4.22.** DPPH, ABTS, FRAP I RP radikal-hvatačka aktivnost ekstrakata jabuke

Sorta jabuke	ABTS <sup>1</sup> mmol TE/100g s.m.	DPPH <sup>1</sup> mmol TE/100g s.m.	FRAP <sup>1</sup> mmol Fe/100g s.m.	RP <sup>1</sup> mg GAE/100g s.m.
<b>Jonatan</b>	0,371 ± 0,009 <sup>d2</sup>	0,259 ± 0,002 <sup>a</sup>	0,663 ± 0,017 <sup>e</sup>	40,440 ± 1,214 <sup>g</sup>
<b>Gloster</b>	0,245 ± 0,004 <sup>f</sup>	0,231 ± 0,003 <sup>b</sup>	0,460 ± 0,011 <sup>gf</sup>	28,670 ± 0,861 <sup>i</sup>
<b>Melroz</b>	0,250 ± 0,003 <sup>f</sup>	0,236 ± 0,003 <sup>b</sup>	0,432 ± 0,005 <sup>gi</sup>	26,590 ± 0,915 <sup>i</sup>
<b>Crveni Delišes</b>	0,257 ± 0,003 <sup>f</sup>	0,240 ± 0,002 <sup>b</sup>	0,486 ± 0,019 <sup>gh</sup>	32,910 ± 0,794 <sup>h</sup>
<b>Zlatni Delišes</b>	0,501 ± 0,009 <sup>b</sup>	0,266 ± 0,001 <sup>a</sup>	0,987 ± 0,019 <sup>a</sup>	53,610 ± 0,736 <sup>e</sup>
<b>Greni Smit</b>	0,504 ± 0,007 <sup>ba</sup>	0,256 ± 0,005 <sup>a</sup>	1,003 ± 0,021 <sup>a</sup>	56,820 ± 0,828 <sup>e</sup>
<b>Šarunka</b>	0,314 ± 0,006 <sup>e</sup>	0,257 ± 0,004 <sup>a</sup>	0,670 ± 0,016 <sup>ed</sup>	75,307 ± 0,609 <sup>c</sup>
<b>Gala</b>	0,186 ± 0,003 <sup>g</sup>	0,255 ± 0,004 <sup>a</sup>	0,387 ± 0,007 <sup>i</sup>	45,296 ± 0,823 <sup>f</sup>
<b>Jonagold</b>	0,367 ± 0,008 <sup>d</sup>	0,253 ± 0,006 <sup>a</sup>	0,773 ± 0,015 <sup>c</sup>	68,782 ± 0,533 <sup>d</sup>
<b>Ajdared</b>	0,382 ± 0,009 <sup>d</sup>	0,256 ± 0,004 <sup>a</sup>	0,846 ± 0,022 <sup>b</sup>	74,764 ± 0,852 <sup>bc</sup>
<b>Breburn</b>	0,181 ± 0,003 <sup>g</sup>	0,227 ± 0,004 <sup>b</sup>	0,319 ± 0,009 <sup>h</sup>	42,090 ± 0,745 <sup>gf</sup>
<b>Mucu</b>	0,304 ± 0,006 <sup>e</sup>	0,248 ± 0,006 <sup>a</sup>	0,505 ± 0,014 <sup>f</sup>	43,008 ± 0,595 <sup>gf</sup>
<b>Čadel</b>	0,421 ± 0,008 <sup>c</sup>	0,261 ± 0,004 <sup>a</sup>	1,001 ± 0,012 <sup>a</sup>	77,100 ± 0,657 <sup>bc</sup>
<b>Kožara</b>	0,536 ± 0,013 <sup>a</sup>	0,276 ± 0,005 <sup>a</sup>	1,003 ± 0,017 <sup>a</sup>	85,510 ± 0,729 <sup>a</sup>
<b>Red Čif</b>	0,384 ± 0,011 <sup>d</sup>	0,250 ± 0,007 <sup>a</sup>	0,729 ± 0,015 <sup>d</sup>	76,246 ± 0,670 <sup>bc</sup>

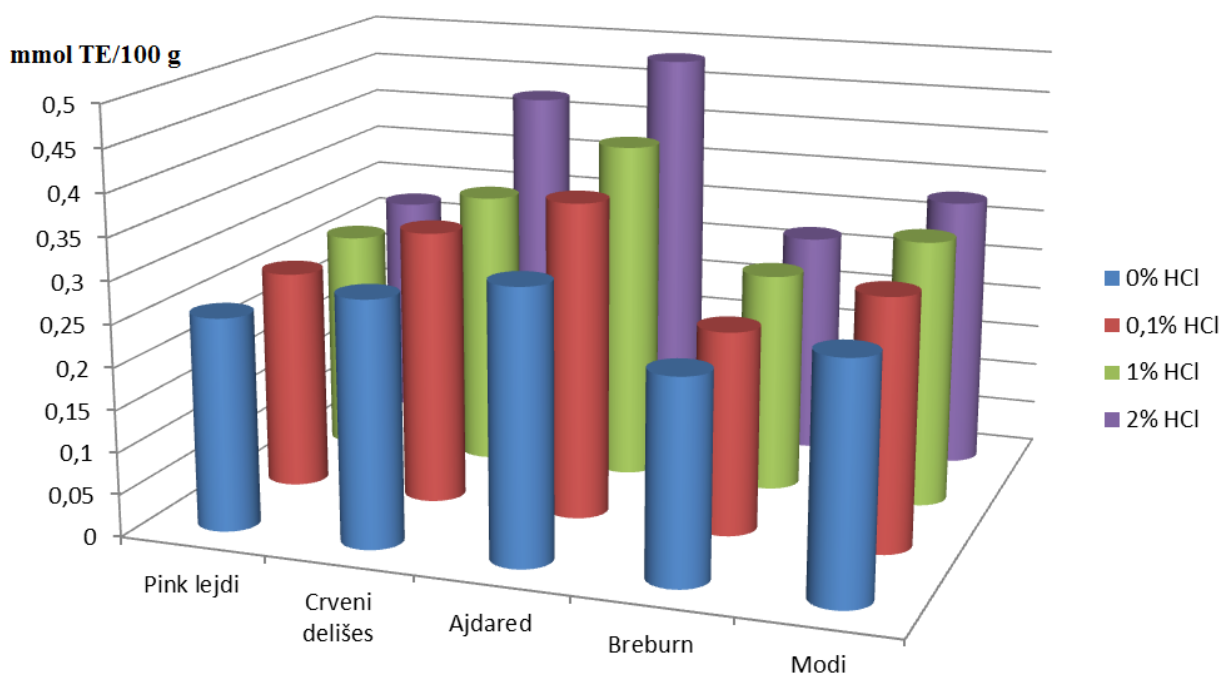
<sup>1</sup>rezultati su dati kao srednja vrednost ± standardna devijacija (n=3); <sup>3</sup>brojevi označeni različitim slovima u koloni se signifikantno razlikuju kada se koristi Duncan-ov test višestrukih interval (p<0,05)

Bitno je i ovde napomenuti da su vrednosti ukupne antioksidativne aktivnosti dobijene ABTS testom dosledno veće od onih dobijenih DPPH testom. Ovu činjenicu su uočili i drugi autori, *Dragović-Uzelac i sar.*, (2009) u odabranim uzorcima voća, kao i *Bermudez-Soto i Tomas-Barberan* (2004), u uzorcima voćnog soka. Različite reakcione kinetike između fenola i ABTS radikal-katjona ili DPPH radikala u sličnom opsegu koncentracija, mogu dovesti do različitih rezultata dobijenih ovim dvema metodama. Zapravo, ABTS radikal-hvatačka sposobnost takođe odražava sposobnost doniranja vodonika.

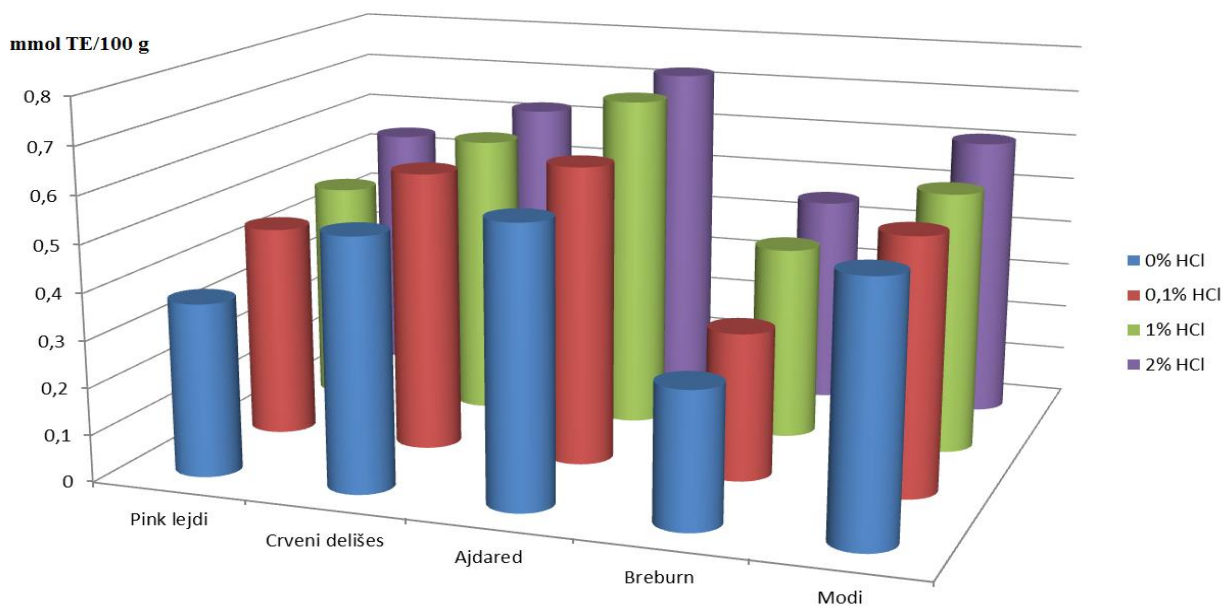
Rezultati dobijeni FRAP testom se nalaze u opsegu od 0,319 mmol Fe/100g s.m. za Breburn do 1,003 mmol Fe/100g s.m. za Kožaru i Greni Smit.

Kao što je prikazano u Tabeli 4.22. postoje značajne razlike između rezultata dobijenih RP testom, dok se vrednosti kreću u intervalu od 26,59 mg GAE/100g s.m. za sortu Melroz, do 85,51 mg GAE/100g s.m. za sortu Kožara. Naši rezultati dobijeni DPPH testom su u saglasnosti sa rezultatom koji su odredili *Ayub Ali i sar.*, (2010). (0,219 mmol TE/100g s.m.), ali su veći od onih koji su objavili *Li i sar.*, 2013, (0,093-0,134 mmol TE/100g s.m.), dok oni određeni ABTS testom su niži od rezultata *Vieire i sar.*, (2009), (0,750-1,071 mmol TE/100g s.m.), i u skladu sa rezultatima koje su objavili *Oszmianski i Wojdylo*, (2008), (0,159-0,559 mmol TE/100g s.m.). Rezultati dobijeni FRAP testom su nešto niži od onih koje su objavili *Valvanidis i sar.*, (2009) (0,381-2,756 mmol Fe/100g s.m.).

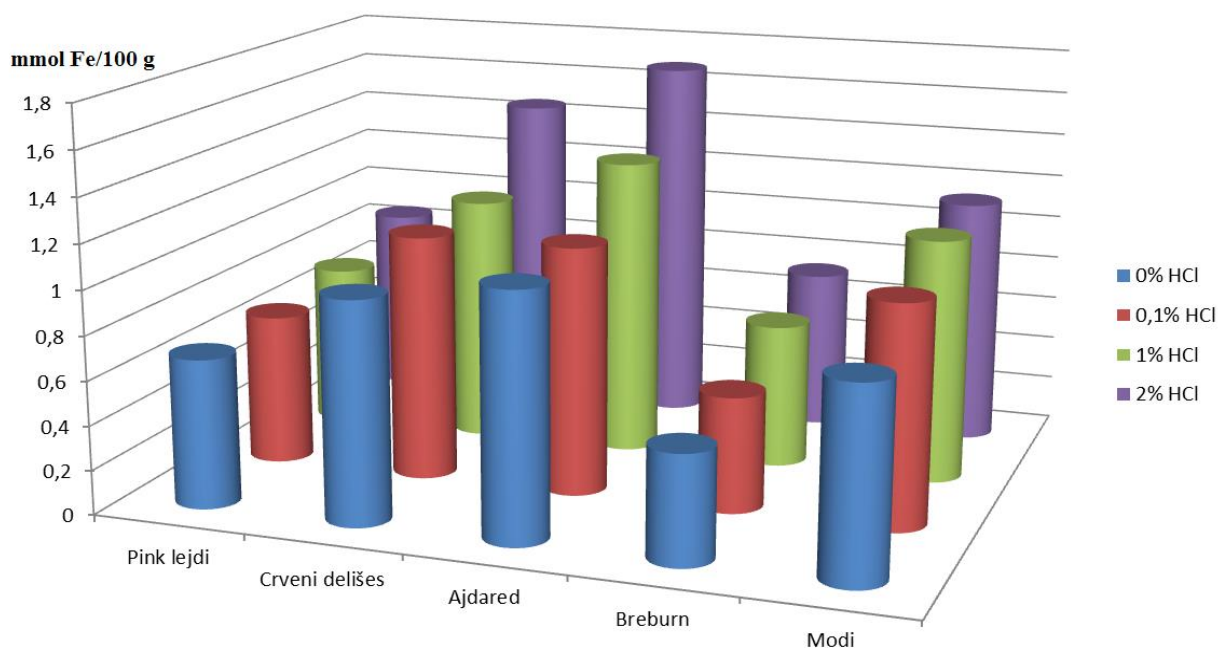
Uticaja koncentracije kiseline HCl na antioksidativnu aktivnost metanolnih ekstrakata voća ispitana je njenim variranjem u interval od 0-2,0%. Uzeti su uzorci kora pet crvenih sorti jabuka. Na Slikama od 4.39. do 4.42. prikazani su rezultati određivanja antioksidativne aktivnosti u dobijenim metanolnim ekstraktima sa 0%, 0,1%, 1,0% i 2,0% HCl.



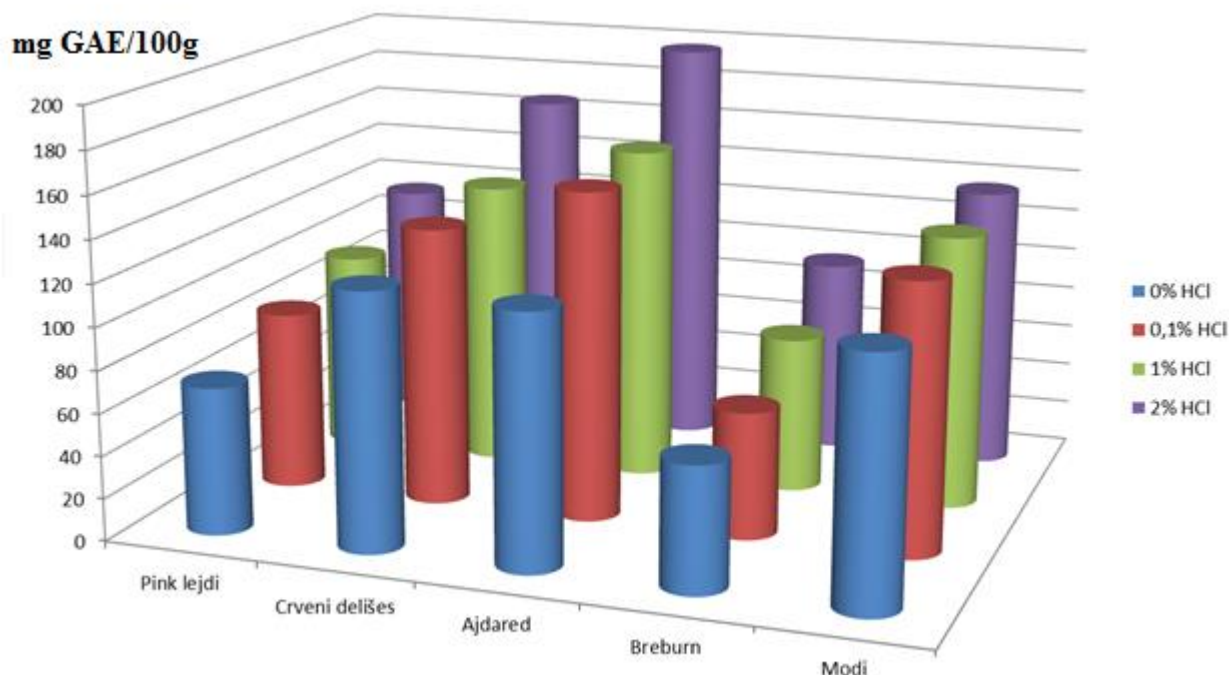
**Slika 4.39.** Efekat koncentracije kiseline HCl na radikal-hvatačke sposobnosti ekstrakata kore crvenih sorti jabuke prema DPPH radikalu (mmol TE/100g s.m.)



*Slika 4.40. Efekat koncentracije kiseline HCl na radikal-hvatačke sposobnosti ekstrakata kore crvenih sorti jabuke prema ABTS katjon-radikalu (mmol Fe/100g s.m.).*



*Slika 4.41. Efekat koncentracije kiseline HCl na radikal-hvatačke sposobnosti ekstrakata kore crvenih sorti jabuke određene FRAP metodom (mmol Fe/100g s.m.).*



*Slika 4.42. Efekat koncentracije kiseline HCl na radikal-hvatačke sposobnosti ekstrakata kore crvenih sorti jabuke određene RP metodom (mg GAE/100g s.m.).*

Metanolni ekstrakti kore jabuka sa 2% HCl pokazuju najveće radikal-hvatačke sposobnosti prema DPPH i ABTS katjon-radikalu. I u slučaju određivanja antioksidativne aktivnosti FRAP i RP metodom najbolji rezultati su dobijeni za metanolne ekstrakte sa 2% HCl.

Naši rezultati su pokazali da je za ekstrakciju ukupnih fenola i flavonoida najefikasniji ekstragens metanol sa 2% HCl, dok je za ekstrakciju hidroksicimetnih kiselina, flavon-3-ola, cianidin-3-galaktozida i glikozida kvercetina najefikasniji metanol sa 0,1% HCl. Za ekstrakciju svih antioksidativnih jedinjenja prisutnih u kori crvenih sorti jabuka, videli smo da je najpogodniji metanol sa 2,0% HCl. Razlog ovome leži u činjenici da je HPLC analizom (deo 4.2.3.) određen samo, u zavisnosti od sorte jabuka od 7,64% do 29,91% od ukupno prisutnih fenolnih jedinjenja prisutnih u kori. S obzirom da se fenolna jedinjenja dosta razlikuju po svojoj polarnosti i kiselosti (pK vrednost im se kreće od 8 do 12), to će njihov sadržaj u rastvaračima različite polarnosti i kiselosti takođe biti različit. Sa druge strane različita fenolna jedinjenja imaju različite odgovore u antiradikalnim testovima.



Rezultati određivanja antioksidativne aktivnosti DPPH, ABTS, FRAP i RP metodom u metanolnim ekstraktima kore crvenih sorti jabuke u prisustvu 2% HCl prikazani su u Tabeli 4.23. dok su svi podaci dati u Tabeli 8.13. i Tabeli 8.14. (Prilog).

**Tabela 4.23.** Antioksidativna aktivnost ekstrakata kore crvenih sorti jabuka određena DPPH, ABTS, FRAP i RP metodom.

Vrsta jabuke	DPPH mmol TE/100g s.m	ABTS mmol TE/100g s.m	FRAP mmol Fe/100g s.m	RP mg GAE/100g s.m
<b>Pink lejdi</b>	0,273±0,003	0,542±0,007	0,856±0,008	113,88±1,04
<b>Crveni delišes</b>	0,423±0,006	0,623±0,007	1,457±0,016	166,15±1,45
<b>Ajdared</b>	0,482±0,006	0,724±0,009	1,681±0,019	196,84±1,48
<b>Breburn</b>	0,269±0,004	0,452±0,006	0,728±0,009	93,24±0,81
<b>Modi</b>	0,328±0,004	0,609±0,008	1,127±0,018	135,49±0,98

Ekstrakti sorte Breburn su pokazali najmanju, dok su ekstrakti sorte Ajdared pokazali najveću antioksidativnu aktivnost za sva četiri testa. DPPH vrednosti se kreću u intervalu 0,269-0,482 mmol TE/100g s.m., ABTS vrednosti u intervalu 0,452-0,724 mmol TE/100g s.m., FRAP vrednosti su 0,728-1,681 mmol Fe/100g s.m. a RP vrednosti su 93,24-196,84 mg GAE/100g s.m.

Najveću antioksidativnu aktivnost za sva četiri testa pokazali su ekstrakti kore sorte Ajdared, i to 0,482 mmol TE /100 g s.m. za DPPH test i 0,724 mmol TE /100 g s.m. za ABTS test. I kod ovih uzoraka se može uočiti činjenica da su vrednosti određene ABTS testom veće od onih dobijenih DPPH testom. Ovi rezultati su niži od rezultata koje su objavili *Vieira i sar., 2009* (2,062-2,099 mmol TE/100 g s.m.), kao i od rezultata *Karamana i sar., (2013)* (1,9-4,0 mmol TE/100 g s.m.) FRAP vrednost za ovaj uzorak je 1,681 mmol Fe/100 g s.m., a RP vrednost 196,84 mg GAE/100 g s.m. *Vieira i sar., (2011.)* objavljuju nešto više rezultate od naših, 1,225-4,144 mmol TE/100g s.m. za ABTS test, i 1,004-3,877 mmol TE/100g s.m. za DPPH test.

#### **4.4. ICP-OES ANALIZA VOĆA**

Atomski emisijski spektrometar sa induktivno kuplovanom plazmom (ICP-OES) je korišćen za određivanje metalnih jona u uzorcima voća. Jako dobra osetljivost (ppb), širok radni opseg za mnoge elemente, male hemijske interferencije, mogućnost simultane multielementne analize čine ICP-OES skoro idealnom metodom za analizu uzoraka voća na sadržaj metalnih jona.

Analiza voća na prisustvo minerala je prilično otežano zbog komplikovane prirode matriksa. Mineralne materije se u ispitivanom matriksu najčešće nalaze u veoma niskim koncentracijama koje vrlo često sadrže i organske komponente, pa pripremi uzoraka za analizu treba obratiti posebnu pažnju. U ovom radu primenjen je postupak suve digestije. Suva digestija je jeftina, jednostavna i brza metoda digestije koja se najčešće primenjuje za elementarnu analizu organskih i neorganskih uzoraka. Izvodi se tako što se vrši zagrevanje uzoraka u atmosferi (statična) ili u struji (dinamična) vazduha ili kiseonika u peći za žarenje ili kvarcnim cevima na tačno određenoj temperature, koja omogućava da se sva organska jedinjenja prisutna u uzorku razore. Ovaj process prevodi veliku količinu uzorka u malu količinu pepela koga sačinjavaju neorganska jedinjenja (uglavnom oksidi).

##### **4.4.1. ICP-OES analiza kore, pulpe i semenki dunja**

U cilju ispitivanja nutritivne vrednosti dunja, sa aspekta sadržaja mineralnih materija, sadržaj makro i mikroelemenata određen je u kori, pulpi i semenkama sedam uzoraka iste sorte dunja (Leskovačka) sa različitih lokacija. Priprema uzoraka izvršena je po proceduri prikazanoj u delu 3.3.1.2. Zatim su pri operativnim uslovima instrumenta (deo 3.3.4.) određeni analitički parametri za ispitivane elemente i u Tabeli 4.28. prikazane su odabrane talasne dužine za svaki element, koeficijent korelacije i granice detekcije (LOD) i kvantifikacije (LOQ). Sadržaj mineralnih materija (izražen kao mg elementa po kg uzorka) određen je kao srednja vrednost tri merenja i sa pripadajućom standardnom devijacijom prikazan u Tabelama 4.29-4.34. U Tabeli 4.35. je dat literaturni pregled sadržaja ispitivanih elemenata u uzorcima dunja od strane različitih istraživača u cilju diskusije i poređenja rezultata dobijenih u ovom radu.

**Tabela 4.28.** Analitički parametri metode kvantitativnog određivanja ispitivanih elemenata: analitička talasna dužina ( $\lambda$ ), korelacioni koeficijent ( $r$ ), limit detekcije i kvantifikacije (LOD i LOQ) za koru, pulpu i semenke dunja

Element	$\lambda$	LOD	LOQ	r
<b>Al</b>	396,152	0,2897	0,9657	0,99933
<b>As</b>	228,812	0,3412	1,1374	0,99907
<b>B</b>	249,773	0,2662	0,8875	0,99943
<b>Ba</b>	230,424	0,2264	0,7549	0,99959
<b>Ca</b>	317,933	0,6609	2,2030	0,99654
<b>Cd</b>	214,438	0,2926	0,9754	0,99932
<b>Co</b>	238,892	0,2663	0,8878	0,99943
<b>Cr</b>	283,563	0,2792	0,9308	0,99938
<b>Cu</b>	324,754	0,1235	0,4119	0,99987
<b>Fe</b>	238,204	0,1213	0,4044	0,99988
<b>K</b>	404,721	0,7298	2,4327	0,99915
<b>Mg</b>	285,213	0,3697	1,2324	0,99891
<b>Mn</b>	257,610	0,3122	1,0406	0,99922
<b>Na</b>	589,592	0,1255	0,4184	0,99987
<b>Ni</b>	231,604	0,2686	0,8956	0,99942
<b>P</b>	213,618	0,3613	1,2046	0,99979
<b>Pb</b>	220,353	0,1887	0,6292	0,99971
<b>Se</b>	203,985	0,2644	0,8816	0,99944
<b>Sr</b>	346,446	0,2642	0,8809	0,99944
<b>V</b>	309,311	0,0217	0,0723	0,99999
<b>Zn</b>	213,856	0,5010	1,6701	0,99801

Sadržaj makroelemenata se, na osnovu dobijenih rezultata mogu rasporediti u sledeći opadajući niz  $K > Ca > Mg > Na$  za pulpu i koru dunja (Tabela 4.26), odnosno  $Na > K > Ca > Mg$  za semenke (Tabela 4.27). Isti opadajući niz sadržaja makroelemenata u kori i pulpi dunja odredili su i *Ozcan i sar.*, (2012). Od ispitivanih makroelemenata u kori i pulpi dunja najzastupljeniji je kalijum. Kalijum se prirodno nalazi u voću i to u vidu kalijumove soli tartaratne kiseline. Kalijum je najzastupljeniji unutraćelijski jon, i veoma bitan za

membranski transport i normalno funkcionisanje ćelije. Preporučena dnevni unos K (Institute of Medicine, 2004) se kreće od 0,4 g za odojčad, 3,8 g za decu od 4-8 godina do 4,7 g za adolescente, žene i muškarce, pa se tako na osnovu sadržaja koji su određeni u ispitivanim uzorcima dunja preporučuje njihova upotreba u ishrani, u cilju nadoknade dela dnevnih potreba ka ovom nutrijentu.

Za razliku od semenki dunja, najniži sadržaj od svih detektovanih makroelemenata u uzorcima kore i pulpe dunja je određen za natrijum i kreće se od 15,69 do 24,50 mg/kg za koru i od 14,12 do 24,46 mg/kg za pulpu dunja.

Sadržaj svih određivanih makroelemenata je znatno veći u semenkama u odnosu na koru i pulpu dunje, odnosno veći u kori u odnosu na pulpu. Takođe, u grupi određivanih makroelemenata u ispitivanim uzorcima pulpe, kore i semenki sedam uzoraka dunje, može se videti da postoji izvesna varijacija u njihovim sadržajima u zavisnosti od lokaliteta uzorka, ali to odstupanje ne pokazuje pravilnost prema lokaciji. Najveće varijacije u pogledu sadržaja pojedinih makroelemenata su uočene u sadržaju kalcijuma. Sadržaj makroelemenata Ca, K, Mg, Na i P je u saglasnosti sa literaturnim podacima (*Rop i sar., 2006*).

**Tabela 4.29.** Sadržaj makroelemenata u kori i pulpi dunja sa sedam različitih lokaliteta (mg/kg svežeg voća)

Uzorak	Deo voća	Ca	K	Mg	Na	P
Sićevo	Kora	179,24±0,92	1935,35±14,28	44,69±0,28	24,50±0,15	452,2±3,546
	Pulpa	87,18±0,58	1725,21±12,93	47,02±0,31	16,99±0,13	292,3±1,467
Niš (Vinik)	Kora	149,22±0,95	1742,32±15,76	53,50±0,36	18,31±0,14	545,4±4,764
	Pulpa	111,46±0,73	942,14±6,28	43,94±0,38	14,48±0,11	144,1±1,005
Knjaževac	Kora	175,84±1,17	2121,49±18,40	55,75±0,41	22,86±0,16	464,0±3,501
	Pulpa	127,21±1,04	1897,07±13,74	49,19±0,39	15,69±0,12	298,6±1,945
Matejevac	Kora	227,84±1,58	2299,71±18,49	54,09±0,37	24,41±0,19	862,3±7,421
	Pulpa	99,24±0,65	1522,52±11,09	39,95±0,21	17,46±0,12	226,5±1,993
Kamenica	Kora	209,62±1,34	2137,21±16,37	52,53±0,42	24,61±0,20	509,1±3,967
	Pulpa	167,94±1,29	2065,14±17,38	48,87±0,41	21,46±0,21	239,8±1,753
Zaječar	Kora	220,06±1,62	2394,78±18,57	60,61±0,49	15,69±0,13	623,7±5,003
	Pulpa	118,23±1,08	1778,90±14,66	45,97±0,30	14,12±0,11	333,8±3,110
Vranje	Kora	115,64±0,93	1159,63±9,31	100,08±0,79	22,76±0,19	413,0±3,995
	Pulpa	49,95±0,36	530,06±3,48	42,34±0,27	16,57±0,12	271,9±2,046

**Tabela 4.30.** Sadržaj makroelemenata u semenkama dunja sa sedam različitih lokaliteta (mg/kg svežeg voća)

Uzorak	Ca	K	Mg	Na	P
<b>Sićevo</b>	1983,5±13,9	7579,5±43,5	771,65±5,23	19,65±0,14	6438,7±37,6
<b>Niš (Vinik)</b>	1653,6±11,4	8092,7±47,9	1067,31±7,94	13,36±0,11	5339,1±31,7
<b>Knjaževac</b>	3367,9±18,2	7515,4±39,4	856,78±6,37	11,94±0,09	8625,8±49,3
<b>Matejevac</b>	2612,8±14,9	9915,8±58,9	573,27±4,21	22,46±0,17	6134,1±27,4
<b>Kamenica</b>	1515,1±11,4	4149,5±35,4	819,39±4,92	16,41±0,12	1319,4±8,4
<b>Zaječar</b>	2484,5±15,5	6391,7±41,8	923,07±7,01	19,02±0,13	5510,7±30,9
<b>Vranje</b>	2923,0±14,7	8092,7±52,9	962,10±7,14	14,24±0,10	6693,3±41,2

Važnost mikroelemenata u organizmu čoveka se ogleda u pravilnom funkcionisanju enzima. Većina enzima se sastoji iz dva dela: belančevina i materija koje nisu belančevine po strukturi, koje određuju efikasnost enzima i koje sadrže metale kao što su gvožđe, cink ili bakar. Koncentracije ispitivanih mikroelemenata u uzorcima pulpe, kore i semenki dunja predstavljeni su u Tabeli 4.31. i 4.32. Upoređivanjem sadržaja esencijalnih elemenata (Cu, Fe, Ni i Zn) u uzorcima pulpe, kore (Tabela 4.31) i semenki dunja (Tabela 4.32) može se videti da je najveći sadržaj detektovan za Fe. Najveća količina ovog metala određena je u semenkama i kreće se od 13,56 mg/kg do 88,69 mg/kg, dok se u kori kreće od 5,812 do 17,23 mg/kg i pulpi od 1,825 do 5,398 mg/kg. Gvožđe je jedan od važnih nutrijenata u ljudskoj ishrani. U normalnim uslovima hrana sadrži 5 do 20 puta više gvožđa nego što se apsorbuje. Na apsorpciju gvožđa iz namirnica utiču mnogi faktori, a pre svega zavisi od forme u kojoj se nalazi u namirnicama. Preporučeni dnevni unos Fe (*Institute of Medicine, 2001*) se kreće od 0,27 mg za odojčad, 10 mg za decu od 4-8 godina, 11 mg za adolescente, 8 mg za muškarce i 18 mg za žene. Jedna od najvažnijih uloga gvožđa u našem organizmu jeste što prenosi kiseonik do svih tkiva i organa jer je sastavni deo hemoglobin u crvenim krvnim zrnima.

Količine ostalih metala pratile su sledeći opadajući niz Cu > Zn > Ni.

Bakar je sastavni deo mnogih enzima u organizmu i može se reći da je neophodan za razvoj i održavanje krvnih sudova, kože, kostiju i zglobova. Sadržaj bakra u uzorcima semenki, kore i pulpe dunja se kreće od 12,06 do 24,74; 0,405-2,940; i 0,263-1,487 mg/kg. Preporučeni dnevni unos za Cu (*Institute of Medicine, 2001*) se kreće od 0,2 mg za odojčad, 0,44 mg za decu od 4-8 godina, 0,89 mg za adolescente i do 0,90 mg za muškarce i žene.

Cink je sastavni deo brojnih enzima. Nužan je za deobu ćelija što znači i za rast i obnovu tkiva. Takođe je bitan za metabolizam nukleinskih kiselina, produkciju nekih hormona, procese transporta, pravilno funkcionisanje imunološkog sistema i pravilan razvoj reproduktivnog sistema. I u ovom slučaju bogat izvor cinka su semenke dunja, dok se u znatnim količinama nalazi i u pulpi i u kori dunja (0,265-5,772 mg/kg). Preporučeni dnevni unos Zn (*Institute of Medicine, 2001*) se kreće od 2 mg za odojčad, 5 mg za decu od 4-8 godina, 11 mg za adolescente, 11 mg za muškarce i 8 mg za žene.

Neki autori smatraju i nikal mikronutrientom, iako kod ljudi nije uočen nedostatak nikla. Sadržaj nikla u svim ispitivanim uzorcima dunja kreće se od 0,022 do 1,894 mg/kg, pri čemu je njegov sadržaj u dunjama sa područja Niša, Knjaževca, Kamenice i Zaječara veći u kori, dok je u dunjama sa područja Sićeva, Matejevca i Vranja veći sadržaj određen u pulpi.

Za mineral bor tek se od nedavno zna da je esencijalni element za ljude i životinje. Bor, koji se u organizmu nalazi u tragovima, značajno utiče na jačinu kostiju. U većoj količini sadrže ga voće i povrće, što su potvrdili i naši rezultati, s obzirom da su u pulpi i kori dunja (1,068-4,958 mg/kg) određene količine približne sadržaju bakra.

Od ostalih ispitivanih elemenata svojim sadržajem se izdvaja i vanadijum. Preporučene dnevna doza za V nije određena (*Institute of Medicine, 2001*). To je mikroelement koji pomaže da se stabilizuje nivo šećera u krvi.

Rezultati u ovom radu za sadržaje Fe, Cu, Zn, Mn su u skladu sa rezultatima koje su obavili *Popescu i sar.*, (2006), kao i *Tokalioglu i Gurbuz*, (2010).

*Tabela 4.31. Sadržaj mikroelemenata u kori i pulpi dunja sa sedam različitih lokaliteta (mg/kg svežeg voća).*

Uzorak	Deo voća	B	Ba	Co	Cr	Cu	Fe	Mn	Ni	Sr	V	Zn
Sićevo	Kora	4,958±0,164	0,419±0,077	0,022±0,005	0,036±0,006	2,495±0,052	7,111±0,201	0,491±0,018	0,129±0,009	0,500±0,061	0,548±0,043	2,811±0,051
	Pulpa	2,252±0,113	0,306±0,068	0,038±0,006	0,072±0,007	1,487±0,044	5,398±0,192	0,153±0,010	0,574±0,017	0,570±0,057	1,169±0,096	1,762±0,034
Niš (Vinik)	Kora	4,137±0,157	0,259±0,053	0,014±0,003	0,045±0,005	2,325±0,049	8,034±0,243	0,278±0,014	0,260±0,013	0,422±0,036	0,567±0,042	3,411±0,039
	Pulpa	2,365±0,115	0,393±0,035	0,014±0,003	0,051±0,004	1,027±0,058	4,544±0,154	0,190±0,013	0,210±0,012	0,577±0,044	0,921±0,087	1,066±0,047
Knjaževac	Kora	4,074±0,152	0,822±0,068	0,014±0,003	0,064±0,005	1,127±0,035	6,585±0,178	0,463±0,017	0,282±0,014	0,734±0,068	0,997±0,079	3,533±0,062
	Pulpa	2,218±0,116	0,955±0,071	0,023±0,004	0,059±0,006	1,030±0,031	4,227±0,146	0,329±0,015	0,204±0,012	0,389±0,032	0,706±0,064	2,132±0,049
Matejevac	Kora	4,918±0,194	2,491±0,096	0,014±0,002	0,056±0,004	2,940±0,049	17,23±0,653	0,558±0,021	0,771±0,056	0,744±0,056	1,199±0,147	5,772±0,098
	Pulpa	1,624±0,085	0,974±0,047	0,004±0,000	0,036±0,003	0,780±0,053	4,329±0,178	0,152±0,009	0,382±0,021	0,493±0,031	0,544±0,047	1,812±0,027
Kamenica	Kora	4,074±0,158	0,565±0,032	0,046±0,005	0,046±0,003	2,590±0,114	5,812±0,184	0,553±0,033	0,604±0,047	0,734±0,077	1,417±0,105	2,717±0,045
	Pulpa	2,416±0,124	0,525±0,061	0,011±0,006	0,037±0,003	1,147±0,076	1,285±0,015	0,382±0,025	0,431±0,038	0,645±0,063	0,729±0,055	1,476±0,011
Zaječar	Kora	3,626±0,129	1,195±0,078	0,014±0,004	0,096±0,008	2,326±0,118	9,317±0,546	0,396±0,021	0,425±0,031	0,503±0,499	1,156±0,098	4,325±0,075
	Pulpa	2,408±0,137	1,195±0,065	0,252±0,051	0,125±0,009	1,252±0,062	1,378±0,019	0,176±0,008	0,236±0,018	0,341±0,026	0,683±0,047	2,109±0,083
Vranje	Kora	2,485±0,142	0,103±0,010	0,005±0,000	0,027±0,003	0,405±0,016	12,53±0,690	0,220±0,014	0,022±0,019	0,095±0,076	0,190±0,015	1,424±0,075
	Pulpa	1,068±0,078	0,197±0,011	0,002±0,000	0,043±0,003	0,263±0,049	2,610±0,043	0,128±0,008	0,865±0,065	0,213±0,011	0,603±0,046	0,265±0,084

*Tabela 4.32. Sadržaj mikroelemenata u semenkama dunja sa sedam različitih lokaliteta (mg/kg svežeg voća)*

<b>Uzorak</b>	<b>Ba</b>	<b>Co</b>	<b>Cr</b>	<b>Cu</b>	<b>Fe</b>	<b>Mn</b>	<b>Ni</b>	<b>Se</b>	<b>Sr</b>	<b>V</b>	<b>Zn</b>
<b>Sićevo</b>	19,48±0,12	0,643±0,023	0,186±0,011	12,06±0,23	53,86±0,53	15,96±0,11	1,436±0,037	0,197±0,009	8,864±0,212	10,85±0,11	62,87±0,43
<b>Niš</b>	13,75±0,10	0,476±0,037	0,246±0,014	22,55±0,34	46,41±0,41	17,55±0,14	0,166±0,009	0,077±0,009	4,083±0,118	10,49±0,10	62,88±0,41
<b>Knjaževac</b>	35,79±0,21	0,537±0,042	0,930±0,064	15,31±0,31	88,69±0,72	9,00±0,05	0,392±0,018	0,759±0,032	5,516±0,214	13,08±0,12	57,83±0,38
<b>Matejevac</b>	22,53±0,17	0,349±0,034	0,156±0,012	23,04±0,19	62,11±0,49	13,30±0,10	1,227±0,058	0,158±0,007	11,10±0,453	14,76±0,13	79,70±0,49
<b>Kamenica</b>	5,471±0,069	0,082±0,007	0,448±0,018	12,34±0,25	13,56±0,11	10,30±0,09	0,366±0,019	0,116±0,010	0,843±0,056	13,53±0,11	13,43±0,11
<b>Zaječar</b>	4,584±0,076	0,701±0,058	0,579±0,032	19,90±0,28	37,09±0,27	13,43±0,12	0,497±0,031	0,189±0,013	7,016±0,106	12,11±0,10	45,98±0,26
<b>Vranje</b>	7,228±0,095	1,384±0,097	0,496±0,036	24,74±0,28	47,08±0,33	19,92±0,17	1,894±0,057	0,160±0,009	8,336±0,258	13,87±0,12	63,80±0,45



Neke elemente svrstavamo u neesencijalne i toksične sa štetnim uticajem na ekosistem i zdravlje ljudi (As, Cd, Pb). Aluminiјum je element za koga se nekada smatralo da nema nikakvu metaboličku funkciju, međutim, on se danas svrstava u grupu neesencijalnih elemenata. Povećan sadržaj ovog elementa kod bubrežnih bolesnika može značajno oštetiti skelet usled njegovog uticaja na proces formiranja kostiju, ali on neće predstavljati opasnost ako se konzumira u preporučenim količinama. Sadržaj aluminijuma u uzorcima pulpe, kore i semenki ispitivanih dunja kreće se u interval od 1,395 mg/kg do 8,770 mg/kg.

**Tabela 4.33.** Sadržaj neesencijalnih i toksičnih elemenata u kori i pulpi dunja sa sedam različitih lokaliteta (mg/kg svežeg voća).

Uzorak	Deo voća	Al	As	Pb	Cd
Sićevo	Kora	5,094±0,161	0,008±0,000	0,030±0,002	nd
	Pulpa	3,215±0,132	0,024±0,007	0,097±0,007	nd
Niš (Vinik)	Kora	1,395±0,095	0,011±0,002	0,010±0,001	nd
	Pulpa	2,806±0,102	0,016±0,002	0,032±0,002	nd
Knjaževac	Kora	3,497±0,128	0,019±0,003	0,017±0,001	nd
	Pulpa	8,770±0,354	0,012±0,001	0,030±0,002	nd
Matejevac	Kora	4,848±0,193	0,039±0,003	0,013±0,001	nd
	Pulpa	2,569±0,094	0,004±0,000	0,031±0,003	nd
Kamenica	Kora	1,639±0,057	0,031±0,002	0,028±0,002	nd
	Pulpa	2,569±0,117	0,031±0,002	0,028±0,002	nd
Zaječar	Kora	5,966±0,019	0,027±0,002	0,013±0,001	nd
	Pulpa	8,062±0,041	0,011±0,001	0,040±0,002	nd
Vranje	Kora	1,639±0,095	0,001±0,000	0,017±0,001	nd
	Pulpa	7,990±0,332	0,004±0,000	0,022±0,002	nd

Teški metali kojima se hrana najčešće kontaminira su olovo, kadmijum i arsen. Propis koji reguliše sadržaj toksičnih metala u većini namirnica je Pravilnik o količinama pesticida, metala i metaloida i drugih otrovnih supstancija, hemioterapeutska, anabolika i drugih supstancija koje se mogu nalaziti u namirnicama, objavljen je u Službenom glasniku Republike Srbije br. 25/2010 i 28/2011. Maksimalno dozvoljene koncentracije olova, kadmijuma i arsena za sveže voće su: 1,0 mg/kg, 0,05 mg/kg i 0,1 mg/kg. Svetska zdravstvena organizacija (2001) (*World Health Organization*, WHO) je propisala MDK za Pb, Cd i As u voću 0,1-1 mg/kg, 0,05 mg/kg i 0,1 mg/kg.

**Tabela 4.34.** Sadržaj neesencijalnih i toksičnih elemenata u semenkama dunja sa sedam različitih lokaliteta (mg/kg svežeg voća).

Uzorak	Al	As	Cd	Pb
Sićevo	4,857±0,165	nd	0,057±0,007	nd
Niš	0,859±0,028	nd	0,017±0,003	0,113±0,010
Knjaževac	6,750±0,192	nd	0,071±0,008	0,277±0,021
Matejevac	2,885±0,059	nd	0,032±0,010	0,236±0,024
Kamenica	2,271±0,055	nd	0,010±0,002	0,654±0,068
Zaječar	3,345±0,068	nd	0,026±0,004	0,176±0,018
Vranje	2,569±0,047	nd	0,052±0,006	0,131±0,012

U ispitivanim uzorcima kore i pulpe nije detektovan Cd, dok u uzorcima semenki nije detektovan As. Sadržaj olova je generalno bio viši u uzorcima semenki u odnosu na pulpu i koru. Na osnovu donijenih podataka može se zaključiti da se u koncentracije arsena, olova i kadmijuma u svim uzorcima ispod MDK propisanih domaćom zakonskom regulativom.

**Tabela 4.35.** Literaturni pregled sadržaja elemenata u dunji izražen u mg/kg svežeg voća

Poreklo	deo voća	Na	K	Ca	Mg	P	Fe	Mn	Zn	Cu	Literatura
Rumunija	plod	/	/	/	/	/	11,790-55,023	0,054-1,433	nd-0,237	nd-1,065	Popescu i sar., 2006
Turska	plod	/	/	/	/	/	12,5	/	/	6,46	Tokalioglu i Gurbuz, 2010
Češka	plod	8,2-41,1	1079,7-1994,65	72,7-190,7	42,4-110,9	129,5-231,1	/	/	/	/	Rop i sar., 2006
Turska*	pulpa	697	11436	268	637	951	1,49	2,41	9,04	8,91	Özcan i sar., 2012
	kora	571	9983	1327	854	1269	9,93	1,36	14,34	25,93	

\*mg/kg suve mase

#### 4.4.2. ICP-OES analiza vinogradarskih bresaka, kore i pulpe sortnih bresaka

U cilju određivanja mineralnog sastava bresaka uzeti su uzorci kore i pulpe šest različitih sorti bresaka i jedne sorte nektarine, kao i pet različitih tipova vinogradarskih bresaka. Ovakav izbor uzoraka je imao za cilj da se vidi postoji li razlika u sadržaju određivanih elemenata u kori i pulpi breskve, kao i razlika između sortnih i vinogradarskih bresaka. Uzorci su pripremljeni prema procedure datoj u delu 3.3.1.2. Pri optimalnim uslovima određeni su analitički parametri za ispitivane elemente i u Tabelama 4.39. i 4.40. prikazane su odabrane talasne dužine za svaki element, koeficijent korelacije i granice detekcije (LOD) i kvantifikacije (LOQ).

**Tabela 4.39.** Analitički parametri metode kvantitativnog određivanja ispitivanih elemenata: analitička talasna dužina ( $\lambda$ ), korelacioni koeficijent ( $r$ ), limit detekcije i kvantifikacije (LOD i LOQ) za koru i pulpu bresaka

Element	$\lambda$ (nm)	LOD(mg/L)	LOQ(mg/L)	r
Al	308,215	0,0045	0,0150	0,9841
As	189,042	0,0026	0,0086	0,9997
B	249,773	0,2662	0,8875	0,99943
Ba	455,403	0,0001	0,0002	0,9999
Ca	393,366	0,0001	0,0004	0,9901
Cd	228,802	0,0002	0,0007	0,9999
Co	238,892	0,0011	0,0034	0,9999
Cr	283,563	0,0008	0,0026	0,9997
Cu	324,754	0,0006	0,0020	1.000
Fe	259,940	0,0006	0,0020	0,9957
K	766,490	0,0017	0,0058	0,9979
Mg	279,553	0,0001	0,0006	0,9985
Mn	257,610	0,0001	0,0003	0,9999
Na	588,995	0,0008	0,0027	1.000
Ni	231,406	0,0006	0,0021	0,9999
P	213,618	0,0040	0,0134	0,9999
Pb	220,353	0,0029	0,0097	0,9999
Se	196,090	0,0028	0,0094	0,9993
Sr	407,771	0,0001	0,0007	0,9995
V	309,311	0,0008	0,0027	1.000
Zn	213,856	0,0001	0,0004	0,9998

**Tabela 4.40.** Analitički parametri metode kvantitativnog određivanja ispitivanih elemenata: analitička talasna dužina ( $\lambda$ ), korelacioni koeficijent ( $r$ ), limit detekcije i kvantifikacije (LOD i LOQ) za plod vinogradarskih bresaka.

Element	$\lambda$ (nm)	LOD (mg/L)	LOQ (mg/L)	r
<b>K</b>	766,490	0,607	2,023	0,99990
<b>Na</b>	818,326	0,4047	1,3489	1,00000
<b>Ca</b>	393,366	0,480	1,600	0,99040
<b>Mg</b>	279,553	0,360	1,201	0,99894
<b>Fe</b>	259,940	0,0539	0,1799	0,99992
<b>Cu</b>	324,754	0,1326	0,4421	0,99955
<b>Zn</b>	202,548	0,1138	0,3794	0,99967
<b>Mn</b>	257,610	0,1985	0,6619	0,99900
<b>Cr</b>	284,325	0,0723	0,2412	0,99987
<b>Cd</b>	226,502	0,0826	0,2755	0,99983
<b>Co</b>	230,786	0,1021	0,3405	0,99973
<b>Pb</b>	220,353	0,2325	0,7751	0,99864
<b>Ni</b>	231,604	0,1138	0,3794	0,99969

Primenom optimalnih uslova metode, u ispitivanim uzorcima kore i pulpe sortnih bresaka određen je sadržaj 20 elemenata, dok je u uzorcima vinogradarskih bresaka određen sadržaj 14 elemenata. U Tabelama od 4.41. do 4.46. je, za svaki od uzoraka, prikazana srednja vrednost sadržaja elemenata od tri uzastopna merenja  $\pm$  standardna devijacija (SD) (mg/kg sveže mase voća). U Tabeli 4.47. je dat literaturni pregled sadržaja ispitivanih elemenata u uzorcima bresaka od strane drugih autora u cilju diskusije i poređenja rezultata dobijenih u ovom radu.

**Tabela 4.41 . Sadržaj makroelemenata u kori i pulpi sedam različitih sorti bresaka (mg/kg svežeg voća)**

Uzorak	Deo voća	Ca	K	Mg	Na	P
<b>Radmilovčanka</b>	Kora	254,30 ± 1,42	3632,6 ± 25,0	122,38 ± 1,14	168,05 ± 1,21	408,24±3,01
	Pulpa	141,26 ± 1,53	4612,9 ± 38,0	80,55 ± 0,47	98,90 ± 0,99	351,63±2,51
<b>Junsko zlato</b>	Kora	203,47 ± 1,95	3436,9 ± 31,0	122,27 ± 1,13	228,27 ± 1,61	485,28±4,15
	Pulpa	186,23 ± 1,69	4027,9 ± 44,2	107,40 ± 0,63	117,35 ± 1,24	343,16±2,48
<b>Blejk</b>	Kora	271,81 ± 2,31	4034,1 ± 35,1	139,54 ± 1,13	274,11 ± 1,45	383,83±2,23
	Pulpa	157,29 ± 1,67	4499,1 ± 40,0	92,07 ± 0,38	192,27 ± 0,66	298,24±3,02
<b>Hala</b>	Kora	271,88 ± 2,21	1223,3 ± 12,1	115,92 ± 1,01	201,21 ± 1,52	361,77±4,00
	Pulpa	145,32 ± 1,61	1822,5 ± 17,2	87,72 ± 0,71	145,00 ± 1,57	303,033,14
<b>Vesna</b>	Kora	168,09 ± 1,76	4606,1 ± 51,1	100,17 ± 0,83	91,12 ± 0,39	478,24±5,78
	Pulpa	118,94 ± 1,41	6066,1 ± 53,3	94,16 ± 0,83	51,82 ± 0,31	373,68±3,24
<b>Adria</b>	Kora	227,67 ± 1,13	5287,1 ± 44,0	111,84 ± 0,43	81,48 ± 0,29	392,79±3,45
	Pulpa	294,63 ± 0,84	6605,4 ± 49,1	94,23 ± 0,71	34,00 ± 0,34	368,484,01
<b>Nektarina</b>	Kora	221,84 ± 1,43	4410,0 ± 35,2	80,58 ± 0,61	76,06 ± 0,31	377,04±3,81
	Pulpa	141,02 ± 0,91	4723,9 ± 50,0	78,64 ± 0,59	54,18 ± 0,41	290,19±2,53

**Tabela 4.42 . Sadržaj makroelemenata u vinogradarskim breskvama (mg/kg svežeg voća)**

Uzorak	K	Na	Ca	Mg
<b>1</b>	87,5 ± 1,35	3,84 ± 0,23	17,84 ± 0,42	10,86 ± 0,30
<b>2</b>	155,1 ± 1,89	3,09 ± 0,48	13,92 ± 0,38	14,29 ± 0,15
<b>3</b>	189,0 ± 2,05	2,75 ± 0,22	12,99 ± 0,52	13,92 ± 0,19
<b>4</b>	257,2 ± 3,22	2,59 ± 0,17	20,08 ± 0,48	15,70 ± 0,28
<b>5</b>	158,4 ± 1,78	2,85 ± 0,15	16,43 ± 0,28	12,97 ± 0,22

Sadržaj određivanih makroelemenata (natrijum, kalijum, kalcijum i magnezijum) u ispitivanim uzorcima kore i pulpe sortnih bresaka opada u sledećem nizu  $K > Ca > Na > Mg$  (Tabela 4.41). Kada se uporede srednje vrednosti sadržaja kalijuma, dobijene po sorti breskve može se videti da je najviše kalijuma određeno u kori i pulpi sorte Adria (5287,14 i 6605,43 mg/kg), i da su za razliku od ostalih makroelemenata veće količine detektovane u pulpi bresaka. Rezultati u ovom radu su u skladu sa rezultatima do kojih su došli *Basar i sar.*, (2006) za koru i pulpu bresaka gajenih u Turskoj i gde je takođe bilo više kalijuma u pulpi u odnosu na koru. Do sličnih rezultata došli su i *Manzoor i sar.*, (2012) za breskve gajene u Pakistanu. Sadržaji kalcijuma (sa izuzetkom sorte Adria), natrijuma i magnezijuma su veći u kori u odnosu na pulpu ispitivanih sortnih bresaka.

Natrijum i kalijum su dva elementa koji su odgovorna za elektrolitičku ravnotežu u organizmu i za kontrolu krvnog pritiska i rada srca. Koeficijent odnosa Na i K (Na/K) od 0,3 izračunat na osnovu dnevnih unosa je 600 mg za Na i 2000 mg za K dnevno (*Reports of the Scientific Committee for Food, 1993*). Za ispitivane uzorke bresaka dobijene vrednosti za Na/K koeficijente su značajno manje zbog velike koncentracije K u svim uzorcima (0,010-0,164).

Za razliku od sortnih bresaka, sadržaj makroelemenata u uzorcima ploda vinogradarskih bresaka opada u nizu  $K > Ca > Mg > Na$ . U poređenju sa uzorcima sortnih bresaka može se videti da su kod vinogradarskih bresaka sadržaji svih određivanih makroelemenata generalno niži iako uzorci potiču sa istog geografskog područja, pa se uočene razlike mogu smatrati posledicom njihovog botaničkog porekla.

Vinogradarske breskve tipa I/14 (uzorak 4) i I/8 (uzorak 1) su bogate kalcijumom. Od svih analiziranih uzoraka, tip I/14 ima najveći sadržaj kalijuma i magnezijuma. Koncentracije natrijuma se kreću u intervalu od 25,96 mg/kg (uzorak 4) do 38,44 mg/kg (uzorak 1).

Koncentracije mikroelemenata date su u Tabeli 4.43. za koru u pulpu sortnih bresaka, odnosno u Tabeli 4.44. za plod vinogradarskih bresaka.

*Tabela 4.43. Sadržaj mikroelemenata u kori i pulpi sedam različitih soti bresaka (mg/kg svežeg voća)*

Uzorak	Deo voća	B	Ba	Co	Cr	Cu	Fe	Mn	Ni	Se	Sr	V	Zn
Radmilovčanka	Kora	6,508 ± 0,147	0,75 ± 0,024	0,004± 0,000	0,092± 0,005	1,055± 0,04	9,319± 0,183	0,665± 0,07	0,192± 0,056	0,002± 0,000	0,62± 0,021	1,307± 0,081	0,885± 0,04
	Pulpa	4,336± 0,096	0,337± 0,045	0,003± 0,000	0,079± 0,003	0,839± 0,051	3,567± 0,132	0,331± 0,028	0,173± 0,04	0,002± 0,000	0,521± 0,023	1,118± 0,073	0,77± 0,028
Junsko zlato	Kora	5,673± 0,178	0,741± 0,045	0,009± 0,001	0,086± 0,004	1,650± 0,034	10,055± 0,191	0,729± 0,056	0,611± 0,02	0,002± 0,000	0,549± 0,035	1,368± 0,084	0,714± 0,025
	Pulpa	5,58± 0,174	0,378± 0,021	0,01± 0,001	0,077± 0,003	1,567± 0,054	9,635± 0,164	0,619± 0,027	0,547± 0,022	0,002± 0,000	0,314± 0,032	1,344± 0,08	0,699± 0,022
Blejk	Kora	7,221± 0,183	0,757± 0,051	0,003± 0,000	0,091± 0,005	1,472± 0,051	9,635± 0,164	0,316± 0,022	0,195± 0,011	0,002± 0,000	0,653± 0,04	1,594± 0,085	0,804± 0,041
	Pulpa	4,242± 0,135	0,495± 0,022	0,002± 0,000	0,081± 0,003	0,983± 0,039	12,772± 1,15	0,712± 0,034	0,153± 0,01	0,002± 0,000	0,349± 0,019	1,505± 0,082	0,711± 0,023
Hala	Kora	3,966± 0,112	1,159± 0,074	0,003± 0,000	0,092± 0,004	1,158± 0,061	7,269± 0,174	0,362± 0,039	0,308± 0,012	0,002± 0,000	0,965± 0,05	1,18± 0,041	0,789± 0,024
	Pulpa	1,456± 0,061	0,776± 0,031	0,001± 0,000	0,086± 0,002	0,846± 0,068	10,645± 0,152	0,79± 0,041	0,128± 0,008	0,002± 0,000	0,553± 0,037	1,162± 0,045	0,74± 0,033
Vesna	Kora	9,611± 0,298	0,126± 0,01	0,007± 0,001	0,126± 0,006	1,645± 0,07	7,491± 0,153	0,315± 0,015	0,095± 0,004	0,002± 0,000	0,189± 0,02	1,023± 0,034	0,871± 0,04
	Pulpa	5,232± 0,161	0,09± 0,006	0,004± 0,000	0,111± 0,006	0,665± 0,04	7,491± 0,153	0,47± 0,042	0,068± 0,006	0,002± 0,000	0,181± 0,015	1,103± 0,038	0,705± 0,029
Adria	Kora	9,802± 0,301	0,239± 0,063	0,005± 0,000	0,093± 0,004	1,307± 0,517	10,631± 0,202	0,461± 0,033	0,094± 0,007	0,002± 0,000	0,327± 0,012	1,291± 0,074	0,784± 0,031
	Pulpa	7,172± 0,162	0,132± 0,011	0,004± 0,000	0,069± 0,003	0,611± 0,039	4,837± 0,128	0,588± 0,024	0,083± 0,003	0,002± 0,000	0,310± 0,019	1,291± 0,074	0,755± 0,047
Nektarina	Kora	7,62± 0,175	0,172± 0,02	0,012± 0,001	0,014± 0,006	1,181± 0,052	3,396± 0,121	0,513± 0,031	0,075± 0,006	0,002± 0,000	0,183± 0,011	1,015± 0,032	0,638± 0,035
	Pulpa	7,3± 0,164	0,095± 0,003	0,013± 0,001	0,098± 0,003	0,679± 0,041	1,549± 0,068	0,363± 0,033	0,073± 0,005	0,002± 0,000	0,142± 0,01	0,999± 0,028	0,356± 0,02

**Tabela 4.44 . Sadržaj mikroelemenata u plodu pet različitih tipova vinogradarskih bresaka (mg/kg svežeg voća)**

Uzorak	Co	Cr	Cu	Fe	Mn	Ni	Zn
1	0,45±0,01	3,55±0,18	82,65±2,13	517,0±4,32	48,90±1,13	23,85±0,92	52,05±1,02
2	0,70±0,03	6,45±0,17	82,85±2,08	997,0±5,28	89,90±2,05	9,75±0,78	97,00±1,17
3	0,50±0,03	3,30±0,22	88,20±1,67	687,0±3,05	63,65±1,24	8,85±0,32	67,60±0,98
4	0,60±0,02	2,75±0,13	75,20±1,35	636,5±2,98	105,15±2,68	16,35±0,65	44,45±0,73
5	0,30±0,01	6,10±0,28	119,15±0,92	566,0±3,52	58,25±1,27	5,25±0,19	47,85±0,68

U Tabeli 4.43. se može videti da je sadržaj gvožđa u kori sortnih bresaka veći u poređenju sa pulpom kod sorti Radmilovčanka, Junsko zlato, Adria i Fantazija, obrnuti slučaj je kod sorte Blejk i Hala, dok su kod sorte Vesna određene jednake količine i u pulpi i u kori. Slične količine gvožđa su određene i u plodu vinogradarskih bresaka i one se kreću u intervalu od 5,17 mg/kg do 9,97 mg/kg.

Količine Cu u kori sortnih bresaka kreću se od 1,055 mg/kg do 1,650 mg/kg, u pulpi sortnih bresaka od 0,611 do 1,567 mg/kg, dok se u plodu vinogradarskih bresaka kreće od 0,752 do 1,191 mg/kg.

Kada se uporedi sadržaj cinka u kori sa sadržajem ovog metala u pulpi, može se videti da nema većih odstupanja sa izuzetkom kod nektarine. Ista situacija je kada se upoređenje vrši sa vinogradarskim breskvama.

Količine gvožđa, bakra i cinka prate sledeći opadajući niz  $Fe > Cu > Zn$ . Rezultati u ovom radu su u skladu sa sadržajima koje su odredili *Basar i sar.*, (2006) u kori i pulpi sortnih bresaka gajenih u Turskoj, gde je takođe bilo više gvožđa u odnosu na bakar i cink.

Od bitnih minerala koji se nalaze u uzorcima voća treba izdvojiti hrom, kobalt i stroncijum. Hrom je dobro poznat po svojoj funkciji u održavanju normalne količine glukoze u krvi. Hrom takođe utiče na metabolizam ugljenih hidrata, masti i proteina. Hrom se teško apsorbuje, pa ga je potrebno unositi u većim količinama. Preporučeni dnevni unos Cr (*Institute of Medicine, 2001*) se kreće od 0,2  $\mu\text{g}$  za odojčad, 15  $\mu\text{g}$  za decu od 4-8 godina, 35  $\mu\text{g}$  za adolescente, 35  $\mu\text{g}$  za muškarce i 25  $\mu\text{g}$  za žene. Sadržaj hroma se u uzorcima kore i pulpe sortnih bresaka kreće od 0,014 do 0,126 mg/kg, odnosno od 0,068 do 0,111 mg/kg, dok se u plodu vinogradarskih bresaka kreću od 2,75 do 6,45 mg/kg.



Kobalt je mikroelement koji ulazi u sastav vitamina B<sub>12</sub>. Vitamin B<sub>12</sub> ima važnu ulogu u sintezi proteina, normalnom rastu i održavanju epitela i stvaranju eritrocita. Međutim, ako je koncentracija kobalta u organizmu povišena duži vremenski period može doći do preterane produkcije eritrocita, oštećenja srčanog mišića i oštećenja tiroidne žlezde. U ispitivanim uzorcima sadržaj Co kreće se od 0,001 do 0,070 mg/kg pri čemu su veći sadržaji određeni u uzorcima vinogradarskih bresaka.

Stroncijum je hemijski sličan kalcijumu i može da utiče na gustinu kostiju. Postoje neka istraživanja koja su pokazala da žene sa osteroporozom ne mogu dovoljno da apsorbuju Sr. Najveći sadržaj stroncijuma ima kora i pulpa sorte Hala.

Sadržaj toksičnih metala u analiziranim uzorcima bresaka je neophodno odrediti kao jedan od parametara u cilju ispitivanja njihove zdravstvene ispravnosti. Određeni su sadržaji Al, Cd, Pb i As i dobijeni rezultati prikazani u Tabelama 4.45. i 4.46.

**Tabela 4.45.** Sadržaj neesencijalnih i toksičnih elemenata u kori i pulpi sedam različitih sorti bresaka (mg/kg svežeg voća).

Uzorak	Deo voća	Al	As	Pb	Cd
<b>Radmilovčanka</b>	Kora	7,422 ± 0,221	0,051 ± 0,004	0,015 ± 0,001	nd
	Pulpa	2,719 ± 0,105	0,041 ± 0,003	0,012 ± 0,001	nd
<b>Junsko zlato</b>	Kora	12,383 ± 0,416	0,071 ± 0,003	0,016 ± 0,002	nd
	Pulpa	5,222 ± 0,173	0,05 ± 0,003	0,015 ± 0,001	nd
<b>Blejk</b>	Kora	13,75 ± 0,239	0,07 ± 0,002	0,026 ± 0,002	nd
	Pulpa	4,006 ± 0,118	0,049 ± 0,003	0,023 ± 0,003	nd
<b>Hala</b>	Kora	9,083 ± 0,296	0,068 ± 0,003	0,021 ± 0,002	nd
	Pulpa	7,521 ± 0,201	0,063 ± 0,002	0,020 ± 0,002	nd
<b>Vesna</b>	Kora	4,879 ± 0,156	0,036 ± 0,002	0,01 ± 0,001	nd
	Pulpa	3,036 ± 0,14	0,034 ± 0,002	0,009 ± 0,000	nd
<b>Adria</b>	Kora	7,516 ± 0,198	0,045 ± 0,003	0,010 ± 0,001	nd
	Pulpa	6,479 ± 0,156	0,037 ± 0,002	0,009 ± 0,001	nd
<b>Nektarina</b>	Kora	4,788 ± 0,171	0,041 ± 0,002	0,013 ± 0,002	nd
	Pulpa	2,518 ± 0,089	0,040 ± 0,002	0,010 ± 0,001	nd

**Tabela 4.46.** Sadržaj neesencijalnih i toksičnih elemenata u plodu pet različitih tipova vinogradarskih bresaka (mg/kg svežeg voća)

Uzorak	Al	Cd	Pb
1	nd	0,10±0,02	2,00±0,10
2	nd	0,10±0,0	10,40±0,22
3	nd	nd	4,75±0,13
4	nd	0,15±0,03	8,09±0,58
5	nd	0,05±0,02	2,45±0,17

U ispitivanim uzorcima sortnih bresaka Cd nije detektovan, dok u uzorcima vinogradarskih bresaka arsen nije detektovan.

Iz Tabele 4.47. se može uočiti da je sadržaj K kod sortnih bresaka je u skladu sa literaturnim podacima (Mayer, 1997), dok je kod vinogradarskih za red veličine manji. Sadržaj Na vinogradarskih bresaka je u skladu sa literaturnim (Mayer, 1997; Cunningham i sar., 2000), dok je kod sortnih nešto veći. Sadržaji Ca i Mg, koji su za red veličine viši kod sortnih bresaka u odnosu na vinogradarske, su u skladu sa literaturnim podacima koje su objavili Alshammary i Al-Horayess, (2013), dok je sadržaj vinogradarskih bresaka u skladu sa podacima koje su objavili Mayer (1997) i Cunningham i sar., (2000). U skladu sa literaturnim su i podaci za P kod sortnih bresaka (Mayer, 1997).

Sadržaj mikroelemenata je značajno veći kod sortnih bresaka. Sadržaj Fe kod sortnih bresaka je u skladu sa podacima koje su objavili Cunningham i sar., (2000), Mayer (1997), Sarkadi (2012), a kod vinogradarskih je u saglasnosti sa podacima koje su objavili Alshammary i Al-Horayess, (2013). Sadržaji ostalih mikroelemenata kod sortnih bresaka su u skladu sa literaturnim podacima prikazanim u Tabeli 4.47.

*Tabela 4.47. Literaturni pregled sadržaja elemenata u breskvama izražen u mg/kg svežeg voća*

<b>Poreklo</b>	<b>K</b>	<b>Na</b>	<b>Ca</b>	<b>Mg</b>	<b>Cu</b>	<b>Fe</b>	<b>Mn</b>	<b>P</b>	<b>Ni</b>	<b>Co</b>	<b>Cd</b>	<b>Pb</b>	<b>Zn</b>	<b>Literatura</b>
<b>Saudijska Arabija</b>	/	/	122-177	24,1-26,8	17,4-22,54	146-209	7,35-11,85	/	/	/	0,025-0,180	/	11,08-14,62	<i>Alshammary i Al-Horayess, 2013</i>
<b>Libija</b>	/	/	/	/	1,87	/	/	/	/	/	0,02	/	5,87	<i>Elbagermi i sar., 2012</i>
<b>Egipat</b>	/	/	/	/	1,10-1,89	/	/	/	/	/	0,008-0,015	0,26-0,47	5,23-8,73	<i>Radwan i Salama, 2006</i>
<b>Australija</b>	/	10-20	/	60-70	40-90	1-4	/	/	/	/	/	/	0-1	<i>Cunningham i sar., 2000</i>
<b>Velika Britanija</b>	1600-2590	10-27	48-76	79-90	0,5-0,6	3,8-4,0	/	138-220	/	/	/	/	/	<i>Mayer, 1997</i>
<b>Austrija</b>	/	/	/	/	2,4700	/	/	/	/	/	0,0228	/	1,5326	<i>Matei i sar., 2013</i>
<b>Rumunija</b>	/	/	/	/	0,18-0,23	4,10-4,51	0,22-0,29	/	/	0,11-0,15	/	/	0,11-0,14	<i>Sarkadi, 2012</i>
<b>Srbija (Bor)</b>	/	/	/	/	3,49-301,72	/	0,06-6,17	/	0,05-2,85	/	/	/	13,30-75,88	<i>Kalinović i sar., 2012</i>
<b>Rumunija</b>	/	/	/	/	0,54	4,35	2,70	/	0,85	0,47	0,02	0,10	1,36	<i>Bordean i sar., 2011</i>
<b>Turska, pulpa</b>	/	/	/	/	5,08	12,53	3,29	/	1,66	0,46	/	1,67	7,42	<i>Basar i sar., 2006</i>
<b>Turska, kora</b>	/	/	/	/	9,83	41,82	4,76	/	1,78	0,48	/	0,96	8,26	

#### **4.4.3. ICP-OES analiza ploda, kore i semenki jabuka**

U cilju ispitivanja nutritivne vrednosti različitih sorti jabuka, koje se najčešće gaje u Srbiji, sadržaj makro i mikroelemenata određen je u pet crvenih i žutih sorti ploda jabuka (Zlatni Delišeš, Greni Smit, Fudži, Mucu i Ajdared), u kori pet crvenih sorti jabuka (Pink Ledi, Crveni delišeš, Ajdared, Brerburn i Modi) i u semenkama sedam crvenih i žutih sorti jabuka (Greni Smit, Gloster, Crveni delišeš, Pink lejdi, Modi, Ajdared i Zlatni delišeš). Priprema uzoraka vršena je postupkom suve digestije prema procedure datoj u delu 3.3.1.2. I na kraju, sadržaj makro i mikroelemenata određen je i u metanolnim ekstraktima sa različitim sadržajem HCl kore crvenih sorti jabuka, pri čemu je priprema uzoraka vršena postupkom mokre digestije.

Pri operativnim uslovima (deo 3.3.4.) određeni su analitički parametri za ispitivane elemente za ispitivane elemente i u Tabeli 4.39. prikazane su odabrane talasne dužine za svaki element, koeficijent varijacije i granice detekcije (LOD) i kvantifikacije (LOQ) za uzorke kore i semenki jabuke, odnosno u Tabeli 4.40. za uzorke ploda (cele) jabuke.

U Tabelama od 4.48–4.50. prikazan je sadržaj makroelemenata u mineralizovanim uzorcima ploda jabuka (kora+pulpa), u uzorcima kore jabuka i u uzorcima semenki jabuka kao srednja vrednost tri merenja±standardna devijacija (SD). U Tabeli 4.57. je dat literaturni pregled sadržaja ispitivanih elemenata u uzorcima jabuka od strane drugih autora u cilju diskusije i poređenja rezultata dobijenih u ovom radu.

Tabela 4.48 . Sadržaj makroelemenata u plodu jabuka (mg/kg svežeg voća)

Metal	Sorta	Srednja vrednost $\pm$ SD	Dodato	srednja vrednost $\pm$ SD	Rikaveri (%)
Na	ZD	142,10 $\pm$ 1,52 <sup>b</sup>	50,00	192,90 $\pm$ 1,32 <sup>b</sup>	103
	GS	132,25 $\pm$ 1,38 <sup>b</sup>	50,00	183,05 $\pm$ 1,05 <sup>b</sup>	102
	Fu	26,65 $\pm$ 0,42 <sup>d</sup>	50,00	76,15 $\pm$ 0,58 <sup>d</sup>	96
	Mu	104,00 $\pm$ 1,03 <sup>c</sup>	50,00	153,17 $\pm$ 0,92 <sup>c</sup>	98
	Aj	160,75 $\pm$ 2,72 <sup>a</sup>	50,00	202,38 $\pm$ 1,52 <sup>a</sup>	93
Ca	ZD	54,30 $\pm$ 0,32 <sup>c</sup>	50,00	100,34 $\pm$ 0,78 <sup>c</sup>	94
	GS	48,30 $\pm$ 0,28 <sup>d</sup>	50,00	100,07 $\pm$ 0,63 <sup>c</sup>	103
	Fu	65,05 $\pm$ 0,52 <sup>b</sup>	50,00	111,02 $\pm$ 0,39 <sup>b</sup>	94
	Mu	43,80 $\pm$ 0,43 <sup>e</sup>	50,00	94,59 $\pm$ 0,42 <sup>d</sup>	101
	Aj	117,80 $\pm$ 0,82 <sup>a</sup>	50,00	163,87 $\pm$ 1,93 <sup>a</sup>	96
Mg	ZD	68,60 $\pm$ 0,37 <sup>b</sup>	50,00	122,87 $\pm$ 1,13 <sup>b</sup>	105
	GS	59,60 $\pm$ 0,42 <sup>c</sup>	50,00	111,47 $\pm$ 1,28 <sup>c</sup>	102
	Fu	40,91 $\pm$ 0,21 <sup>d</sup>	50,00	89,49 $\pm$ 0,99 <sup>d</sup>	98
	Mu	56,50 $\pm$ 0,29 <sup>c</sup>	50,00	103,34 $\pm$ 0,83 <sup>c</sup>	95
	Aj	96,40 $\pm$ 0,38 <sup>a</sup>	50,00	151,67 $\pm$ 1,67 <sup>a</sup>	106

ZD – Zlatni Delišeš, GS – Greni Smit, Fu – Fudži, Mu – Mucu, Aj – Ajdared,

<sup>a</sup> brojevi označeni različitim slovima (a-e) u koloni se signifikantno razlikuju kada se koristi Duncan-ov test višestrukih interval ( $p < 0,05$ )

Tabela 4.49. Sadržaj makroelemenata u kori jabuka (mg/kg svežeg voća)

Uzorak	Ca	K	Mg	Na	P
Pink lejdi	143,23 $\pm$ 1,41	1509,26 $\pm$ 11,21	115,26 $\pm$ 1,11	126,44 $\pm$ 1,13	153,2 $\pm$ 1,102
Crveni delišeš	166,41 $\pm$ 1,042	1319,49 $\pm$ 10,21	98,73 $\pm$ 1,00	119,09 $\pm$ 1,12	198,1 $\pm$ 1,312
Ajdared	206,02 $\pm$ 11,71	1862,84 $\pm$ 10,43	116,69 $\pm$ 1,10	121,53 $\pm$ 1,132	213,2 $\pm$ 1,501
Breburn	148,85 $\pm$ 1,44	1236,02 $\pm$ 9,01	102,96 $\pm$ 1,12	129,47 $\pm$ 1,142	156,8 $\pm$ 1,152
Modi	202,14 $\pm$ 1,81	1653,08 $\pm$ 10,07	116,44 $\pm$ 1,13	143,76 $\pm$ 1,15	123,5 $\pm$ 1,33

Tabela 4.50. Sadržaj makroelemenata u semenkama jabuka (mg/kg svežeg voća)

Uzorak	Ca	K	Mg	Na	P
Greni smit	1809,19 $\pm$ 12,56	2749,20 $\pm$ 21,85	851,49 $\pm$ 5,83	20,40 $\pm$ 0,25	3152,1 $\pm$ 10,3
Gloster	1064,79 $\pm$ 9,64	3542,73 $\pm$ 29,53	1008,24 $\pm$ 9,74	21,73 $\pm$ 0,27	4544,9 $\pm$ 11,5
Crveni delišeš	1660,66 $\pm$ 13,78	7256,12 $\pm$ 58,15	1465,96 $\pm$ 11,75	32,22 $\pm$ 0,24	6783,5 $\pm$ 16,8
Pink lejdi	1392,36 $\pm$ 10,05	9666,36 $\pm$ 64,37	1242,73 $\pm$ 10,74	30,14 $\pm$ 0,31	7504,5 $\pm$ 18,4
Modi	1216,96 $\pm$ 9,96	5612,72 $\pm$ 33,09	1386,96 $\pm$ 11,97	27,66 $\pm$ 0,25	5542,5 $\pm$ 12,7
Ajdared	2490,98 $\pm$ 16,85	6011,88 $\pm$ 42,18	1213,29 $\pm$ 9,16	37,19 $\pm$ 0,39	6031,3 $\pm$ 14,1
Zlatni delišeš	2052,54 $\pm$ 17,92	5735,45 $\pm$ 36,99	1129,11 $\pm$ 8,59	24,02 $\pm$ 0,30	5939,1 $\pm$ 11,8

Sadržaji određivanih makroelemenata se, na osnovu dobijenih rezultata mogu rasporediti u opadajući niz  $K > Na > Mg > Ca$  u plodovima jabuka,  $K > Ca > Na > Mg$  u kori jabuka i  $K > Ca > Mg > Na$  u semenkama jabuka. U svim analiziranim uzorcima jabuka najzastupljeniji element je K, i njegov sadržaj se kreće od 572,52 do 982,35 mg/kg u plodu, od 1236,02 do 1862,85 mg/kg u kori i od 2749,20 do 9666,36 mg/kg u semenkama jabuka.

Prosečan sadržaj kalcijuma u semenkama je za oko 9,63 puta veći od njegovog prosečnog sadržaja u kori, odnosno 25,80 puta veći od sadržaja u plodu. Slična situacija je sa sadržajem magnezijuma. Situacija je obrnuta u pogledu sadržaja Na. Najmanja količina je prisutna u semenkama, dok se u kori i plodu jabuka nalaze uporedive količine. Ovi podaci su u skladu sa literaturnim podacima. *Ozcan i sar., (2012)* su određivali sadržaj Na u kori i pulpi četiri sorte jabuka, pri tome su za dve sorte jabuka detektovali nešto veći sadržaj u pulpi dok su za preostale dve sorte odredili veći sadržaj Na u kori jabuka.

U Tabelama od 4.51. do 4.53. prikazan je sadržaj mikroelemenata u mineralizovanim uzorcima ploda, kore i semenki jabuka.

Tabela 4.51. Sadržaj mikroelemenata u plodu jabuka (mg/kg svežeg voća)

Metal	Sorta	srednja vrednost±SD	Dodato	srednja vrednost±SD	Rikaveri (%)
Fe	ZD	4,226 ± 0,161 <sup>b</sup>	3,00	7,113 ± 0,105 <sup>b</sup>	98
	GS	3,591 ± 0,132 <sup>c</sup>	3,00	6,703 ± 0,117 <sup>c</sup>	102
	Fu	3,201 ± 0,160 <sup>d</sup>	3,00	6,411 ± 0,203 <sup>c</sup>	105
	Mu	4,140 ± 0,118 <sup>b</sup>	3,00	6,806 ± 0,192 <sup>b</sup>	94
	Aj	5,290 ± 0,193 <sup>a</sup>	3,00	8,124 ± 0,232 <sup>a</sup>	97
Cu	ZD	0,661 ± 0,021 <sup>c</sup>	1,00	1,635 ± 0,058 <sup>c</sup>	98
	GS	0,572 ± 0,023 <sup>d</sup>	1,00	1,540 ± 0,042 <sup>d</sup>	97
	Fu	0,827 ± 0,040 <sup>b</sup>	1,00	1,858 ± 0,053 <sup>b</sup>	102
	Mu	0,542 ± 0,052 <sup>d</sup>	1,00	1,569 ± 0,018 <sup>d</sup>	103
	Aj	1,743 ± 0,090 <sup>a</sup>	1,00	2,836 ± 0,052 <sup>a</sup>	105
Zn	ZD	0,185 ± 0,025 <sup>d</sup>	0,20	0,392 ± 0,010 <sup>c</sup>	103
	GS	0,277 ± 0,073 <sup>b</sup>	0,20	0,455 ± 0,009 <sup>b</sup>	94
	Fu	0,229 ± 0,058 <sup>c</sup>	0,20	0,436 ± 0,015 <sup>b</sup>	102
	Mu	0,154 ± 0,056 <sup>e</sup>	0,20	0,318 ± 0,019 <sup>d</sup>	98
	Aj	0,390 ± 0,077 <sup>a</sup>	0,20	0,572 ± 0,025 <sup>a</sup>	95
Mn	ZD	0,445 ± 0,032 <sup>d</sup>	0,20	0,668 ± 0,012 <sup>d</sup>	106
	GS	0,523 ± 0,070 <sup>b</sup>	0,20	0,712 ± 0,023 <sup>bc</sup>	98
	Fu	0,285 ± 0,025 <sup>e</sup>	0,20	0,493 ± 0,018 <sup>e</sup>	102
	Mu	0,487 ± 0,017 <sup>c</sup>	0,20	0,710 ± 0,032 <sup>c</sup>	105
	Aj	0,897 ± 0,068 <sup>a</sup>	0,20	1,046 ± 0,058 <sup>a</sup>	94
Cr	ZD	0,070 ± 0,003 <sup>d</sup>	0,10	0,162 ± 0,009 <sup>d</sup>	94
	GS	0,082 ± 0,002 <sup>c</sup>	0,10	0,176 ± 0,015 <sup>c</sup>	95
	Fu	0,121 ± 0,009 <sup>a</sup>	0,10	0,217 ± 0,021 <sup>a</sup>	98
	Mu	0,122 ± 0,011 <sup>a</sup>	0,10	0,212 ± 0,017 <sup>a</sup>	94
	Aj	0,111 ± 0,010 <sup>b</sup>	0,10	0,201 ± 0,019 <sup>b</sup>	94
Cd	ZD	0,001 ± 0,000 <sup>a</sup>	0,01	0,011 ± 0,003 <sup>a</sup>	102
	GS	0,001 ± 0,000 <sup>a</sup>	0,01	0,011 ± 0,002 <sup>a</sup>	102
	Fu	nd	-	-	-
	Mu	nd	-	-	-
	Aj	0,001 ± 0,000 <sup>a</sup>	0,01	0,010 ± 0,005 <sup>a</sup>	98
Co	ZD	0,141 ± 0,010 <sup>b</sup>	0,05	0,197 ± 0,012 <sup>b</sup>	105
	GS	0,003 ± 0,000 <sup>c</sup>	0,05	0,054 ± 0,008 <sup>c</sup>	102
	Fu	0,001 ± 0,000 <sup>d</sup>	0,05	0,052 ± 0,007 <sup>c</sup>	102
	Mu	0,004 ± 0,000 <sup>c</sup>	0,05	0,053 ± 0,010 <sup>c</sup>	98
	Aj	0,154 ± 0,008 <sup>a</sup>	0,05	0,211 ± 0,038 <sup>a</sup>	105
Pb	ZD	0,023 ± 0,001 <sup>c</sup>	0,05	0,071 ± 0,009 <sup>c</sup>	95
	GS	0,025 ± 0,001 <sup>c</sup>	0,05	0,073 ± 0,009 <sup>c</sup>	95
	Fu	0,033 ± 0,002 <sup>b</sup>	0,05	0,084 ± 0,012 <sup>b</sup>	102
	Mu	0,012 ± 0,007 <sup>d</sup>	0,05	0,061 ± 0,007 <sup>d</sup>	97
	Aj	0,079 ± 0,008 <sup>a</sup>	0,05	0,131 ± 0,015 <sup>a</sup>	103
Ni	ZD	0,052 ± 0,004 <sup>b</sup>	0,05	0,104 ± 0,013 <sup>b</sup>	102
	GS	0,017 ± 0,003 <sup>d</sup>	0,05	0,069 ± 0,008 <sup>d</sup>	106
	Fu	0,019 ± 0,002 <sup>d</sup>	0,05	0,068 ± 0,008 <sup>d</sup>	97
	Mu	0,026 ± 0,003 <sup>c</sup>	0,05	0,077 ± 0,007 <sup>c</sup>	103
	Aj	0,109 ± 0,010 <sup>a</sup>	0,05	0,162 ± 0,015 <sup>a</sup>	102

ZD – Zlatni Delišeš, GS – Greni Smit, Fu – Fudži, Mu – Mucu, Aj – Ajdared,

<sup>a</sup> brojevi označeni različitim slovima (a-e) u koloni se signifikantno razlikuju kada se koristi Duncan-ov test višestrukih interval (p<0,05)

*Tabela 4.52. Sadržaj mikroelemenata u kori jabuka (mg/kg svežeg voća)*

<b>Uzorak</b>	<b>B</b>	<b>Ba</b>	<b>Co</b>	<b>Cr</b>	<b>Cu</b>	<b>Fe</b>	<b>Mn</b>	<b>Ni</b>	<b>Se</b>	<b>Sr</b>	<b>V</b>	<b>Zn</b>
<b>Pink lejdi</b>	2,597± 0,081	0,146± 0,013	0,002± 0,000	0,059± 0,002	0,509± 0,010	5,962± 0,131	0,815± 0,012	1,264± 0,013	0,009± 0,000	0,282± 0,015	1,183± 0,052	0,412± 0,021
<b>Crveni delišes</b>	2,185± 0,073	1,075± 0,059	0,007± 0,000	0,055± 0,002	0,498± 0,009	6,03± 0,141	2,329± 0,02	1,190± 0,011	0,005± 0,000	0,531± 0,019	1,075± 0,043	0,385± 0,022
<b>Ajdared</b>	4,081± 0,102	1,103± 0,062	0,006± 0,000	0,053± 0,003	0,625± 0,011	6,839± 0,104	2,709± 0,023	1,215± 0,0113	0,005± 0,000	0,638± 0,011	1,193± 0,053	0,424± 0,019
<b>Breburn</b>	4,049± 0,101	0,186± 0,015	0,006± 0,000	0,052± 0,002	0,548± 0,013	7,363± 0,152	0,747± 0,011	1,294± 0,011	0,005± 0,000	0,213± 0,01	1,112± 0,033	0,349± 0,026
<b>Modi</b>	4,749± 0,133	0,191± 0,021	0,004± 0,000	0,059± 0,003	0,512± 0,011	6,794± 0,133	1,461± 0,018	1,437± 0,011	0,007± 0,000	0,254± 0,012	1,191± 0,065	0,398± 0,021



*Tabela 4.53 . Sadržaj mikroelemenata u semenkama jabuka (mg/kg svežeg voća)*

<b>Uzorak</b>	<b>Ba</b>	<b>Co</b>	<b>Cr</b>	<b>Cu</b>	<b>Fe</b>	<b>Mn</b>	<b>Ni</b>	<b>Se</b>	<b>Sr</b>	<b>V</b>	<b>Zn</b>
<b>Greni smit</b>	2,821±0,052	0,155±0,013	0,536±0,012	6,977±0,142	17,83±0,16	17,41±0,14	0,197±0,016	0,385±0,011	3,018±0,067	7,099±0,155	12,46±0,98
<b>Gloster</b>	3,983±0,067	0,401±0,019	1,112±0,062	8,758±0,153	27,38±0,23	27,02±0,23	0,342±0,027	0,625±0,034	5,524±0,076	10,31±0,17	21,78±0,95
<b>Crveni delišes</b>	3,796±0,064	0,232±0,017	1,541±0,052	16,15±0,41	44,16±0,39	31,78±0,28	0,396±0,015	0,380±0,021	4,609±0,053	9,895±0,164	20,17±1,02
<b>Pink lejdi</b>	6,382±0,146	0,178±0,014	0,756±0,023	14,43±0,33	45,36±0,41	22,47±0,18	0,516±0,029	0,253±0,011	8,720±0,086	9,387±0,179	37,13±1,04
<b>Modi</b>	2,832±0,074	0,125±0,011	0,818±0,025	12,06±0,31	31,54±0,27	26,94±0,22	0,108±0,009	0,254±0,009	2,736±0,054	9,249±0,193	13,68±0,74
<b>Ajdared</b>	31,32±0,42	0,360±0,019	1,973±0,063	14,87±0,34	49,41±0,42	21,61±0,19	0,501±0,034	0,589±0,023	14,99±0,11	9,685±0,201	32,71±0,82
<b>Zlatni delišes</b>	5,745±0,133	0,189±0,012	1,324±0,048	14,29±0,35	31,57±0,28	18,23±0,17	0,158±0,011	0,340±0,019	9,901±0,09	9,504±0,164	23,08±1,25

U uzorcima ploda jabuka esencijalni elementi u pogledu zastupljenosti slede niz Fe, Cu, Mn, Zn, u uzorcima kore jabuka Fe, Mn, Cu, Zn, dok u semenkama jabuka redosled je Fe, Mn, Zn, Cu. Dakle, iz grupe mikroelemenata najveći sadržaj u svim ispitivanim uzorcima detektovan je za gvožđe i kreće se od 3,201 mg/kg do 5,290 mg/kg u plodu jabuka, od 5,962 do 7,363 mg/kg u kori jabuka i od 17,830 do 49,410 mg/kg u semenkama jabuka.

Dok se sadržaji Fe, Cu i Mn u plodu i kori u odnosu na sadržaj u semenkama razlikuju za jedan red veličine, razlike u sadržaju Zn su znatno veće i iznose oko dva reda veličine. Obično se kao prirodni izvori Zn navode pšenične klice, pivski kvasac i semenke bundeve, s pravom možemo ovoj grupi namirnica pridružiti i semenke jabuka i dunja (Tabela 4.32. i 4.53.). Cink je obično deficitaran kod pušača jer ga kadmijum iz duvanskog dima uništava. Lišće duvana sadrži značajne količine kadmijuma koji se akumulira u telu kada osoba puši ili žvače duvan. Tada kadmijum može zameniti dvovalentne metale kao što su cink, bakar i mangan iz superoksid dismutaze (SOD), koja je moćan antioksidant (*Dubick i Keen, 1991*).

Semenke jabuka su bogat izvor selena. Njegova koncentracija se kreće od 0,254 do 0,625 mg/kg. Selen je veoma važan mikroelement. Važan je za enzimsku aktivnost jetre a takođe dopunjuje delovanje vitamina E. Cink i selen su antioksidansi, a da bi se na najbolji način iskoristili u metaboličkim procesima, nužno je osigurati dovoljan unos tečnosti, naročito vode.

U Tabelama od 4.54–4.56. prikazan je sadržaj neesencijalnih i toksičnih metala u ispitivanim uzorcima ploda, kore i semenkama jabuka.

**Tabela 4.54.** Sadržaj neesencijalnih i toksičnih elemenata u plodu jabuka (mg/kg svežeg voća)

Metal	Sorta	Srednja vrednost±SD	Dodato	srednja vrednost±SD	Rikaveri (%)
<b>Al</b>	ZD	ND	-	-	-
	GS	ND	-	-	-
	Fu	ND	-	-	-
	Mu	ND	-	-	-
	Aj	ND	-	-	-
<b>As</b>	ZD	ND	-	-	-
	GS	ND	-	-	-
	Fu	ND	-	-	-
	Mu	ND	-	-	-
	Aj	ND	-	-	-
<b>Cd</b>	ZD	0,001 ± 0,000 <sup>a</sup>	0,01	0,011 ± 0,003 <sup>a</sup>	102
	GS	0,001 ± 0,000 <sup>a</sup>	0,01	0,011 ± 0,002 <sup>a</sup>	102
	Fu	ND	-	-	-
	Mu	ND	-	-	-
	Aj	0,001 ± 0,000 <sup>a</sup>	0,01	0,010 ± 0,005 <sup>a</sup>	98
<b>Pb</b>	ZD	0,023 ± 0,001 <sup>c</sup>	0,05	0,071 ± 0,009 <sup>c</sup>	95
	GS	0,025 ± 0,001 <sup>c</sup>	0,05	0,073 ± 0,009 <sup>c</sup>	95
	Fu	0,033 ± 0,002 <sup>b</sup>	0,05	0,084 ± 0,012 <sup>b</sup>	102
	Mu	0,012 ± 0,007 <sup>d</sup>	0,05	0,061 ± 0,007 <sup>d</sup>	97
	Aj	0,079 ± 0,008 <sup>a</sup>	0,05	0,131 ± 0,015 <sup>a</sup>	103

ZD – Zlatni Delišeš, GS – Greni Smit, Fu – Fudži, Mu – Mucu, Aj – Ajdared,

<sup>a</sup> brojevi označeni različitim slovima (a-e) u koloni se signifikantno razlikuju kada se koristi Duncan-ov test višestrukih interval ( $p < 0.05$ )

**Tabela 4.55.** Sadržaj neesencijalnih i toksičnih elemenata u kori jabuka (mg/kg svežeg voća)

Uzorak	Al	As	Cd	Pb
<b>Pink lejdi</b>	3,236±0,099	0,020± 0,001	nd	0,016±0,002
<b>Crveni delišeš</b>	3,081±0,132	0,025±0,002	nd	0,016±0,001
<b>Ajdared</b>	3,586±0,153	0,022±0,001	nd	0,020±0,003
<b>Breburn</b>	4,666±0,161	0,024±0,002	nd	0,021±0,002
<b>Modi</b>	3,958±0,181	0,019±0,001	nd	0,022±0,003

**Tabela 4.56.** Sadržaj neesencijalnih i toksičnih elemenata u semenkama jabuka (mg/kg svežeg voća)

Uzorak	Al	As	Cd	Pb
<b>Greni smit</b>	3,967±0,065	nd	0,009±0,000	nd
<b>Gloster</b>	4,357±0,093	nd	0,008±0,000	nd
<b>Crveni delišes</b>	12,98±0,39	nd	0,016±0,001	0,124±0,002
<b>Pink lejdi</b>	3,825±0,058	nd	0,011±0,000	0,107±0,001
<b>Modi</b>	3,478±0,047	nd	0,012±0,000	0,067
<b>Ajdared</b>	12,37±0,32	nd	0,014±0,001	nd
<b>Zlatni delišes</b>	6,66±0,11	nd	0,007±0,000	0,295±0,002

Iz Tabela 4.54–4.56. se može videti da nema bitne razlike u sadržaju aluminijuma u kori i semenkama jabuka, u uzorcima ploda i semenki jabuka nije detektovan As, dok u uzorcima kore i u nekim uzorcima ploda jabuka nije detektovan Cd. Koncentracije kadmijuma, arsena i olova, u uzorcima u kojima su ovi metali detektovani, su u intervalu 0,001-0,016 mg/kg, 0,019-0,025 mg/kg i 0,016-0,295 mg/kg. Na osnovu dobijenih rezultata može se zaključiti da su koncentracije kadmijuma, arsena i olova u svim uzorcima ispod MDK propisanih domaćom i evropskom zakonskom regulativom.

*Tabela 4.57. Literaturni pregled sadržaja elemenata u jabukama izražen u mg/kg svežeg voća*

Poreklo	deo jabuke	Na	K	Ca	Mg	Fe	Mn	Cu	Ni	Mo	Al	Cr	Sr	Cd	Zn	Literatura
Rumunija	plod	2,8-89,2	822,5-1608,5	17,5-87,4	/	37,8-80,0	0,2-0,6	0,3-0,7	/	/	nd-0,7	0,1-0,9	0,1-0,50	/	0,6-2,6	<i>Nour i sar., 2010</i>
Srbija (Bor)	plod	/	/	/	/	/	1,65-19,43	/	0,52-13,6	/	/	/	/	/	2,67-93,82	<i>Kalinović i sar., 2012</i>
Rumunija	plod	/	/	/	/	13,87-48,41	0,21-0,37	0,098-1,35	/	/	/	/	/	/	0,33-1,23	<i>Popescu i sar., 2006.</i>
Turska	plod	/	/	/	/	15,6	/	1,33	/	/	/	/	/	/	/	<i>Tokalioglu i Gurbuz, 2010</i>
	semenke	/	/	/	/	16,3	/	1,78	/	/	/	/	/	/	/	
Nigeria	plod	/	/	/	/	2,0	/	0,6	/	/	/	/	/	/	/	<i>Okoye, 2001</i>
Čile	kora	70-130	115-1365	98-179	219-255	8,4-9,9	1,4-3,9	0,8-1,5	/	/	/	/	/	/	0,5-1,3	<i>Henriquez i sar., 2010</i>
	plod	11-94	824-1299	41-70	76-100	2,1-3,3	0,3-0,7	0,3-0,6	/	/	/	/	/	/	0,1-0,4	
Liban		/	/	/	/	3,7	0,82	1,2	/	0,03	/	/	/	/	0,47	<i>Khouzam i sar., 2011</i>
Nemačka	plod	20-40	/	40-110	30-90	3-9	/	/	/	/	/	/	/	/	0,4-2	<i>Scherz i Senser, 1994</i>
Rumunija	plod	37,15	1560	11	280	0,475	0,95	1,7	/	/	/	/	/	0,005	nd	<i>Hegedus-Mindru i sar., 2014</i>
Rumunija	plod	34,6-83,8	1875,1-4952,5	61,5-268,5	87,2-236,9	62,9-106,8	18,6-28,7	/	/	/	/	/	/	/	/	<i>Delian i sar., 2011</i>
Izrael	plod	60	819	42,6	50,2	0,943	0,307	0,241	/	/	/	/	/	/	0,139	<i>Gorinstein i sar., 2001</i>
	kora	48	1070	91,5	126	2,87	0,715	0,471	/	/	/	/	/	/	0,402	
Nigerija	kora	43,858	62,26	8,251	6,162	37,330	/	/	/	/	/	/	/	/	13,46	<i>Akpabio i sar., 2012</i>
Brazil	semenke	/	5000	1800	1200	36,93	13,65	19,95	/	/	/	/	/	/	36,70	<i>Cruz i sar., 2013</i>
Turska*	plod	39,90	960,98	/	14,79	/	/	0,19	0,42	/	/	0,24	/	0,16	4,25	<i>Hamurcu i sar., 2013</i>

\*suve mase

Fenolni profil, sadržaj ukupnih fenola, flavonoida kao i antioksidativna aktivnost kore crvenih sorti jabuka, videli smo u delu 4.1.1.3. i 4.1.3.3. da je određen u metanolnim ekstraktima sa različitim sadržajem hlorovodonične kiseline. Međutim, u metanolnim ekstraktima, osim fenolnih jedinjenja mogu se naći i metalni joni u količini koja je određena njihovim ekstrakcionim koeficijentima. Utvrđeno je da ekstrakcioni koeficijenti najviše zavise od vrste rastvarača i prirode matriksa. Oslobođanje metala u ekstraktu zavisi od jačine veze kojom je on vezan za organski matriks kao i od rastvorljivosti datog metala u ekstragensu, a sve ovo jako zavisi od vrste voća i koncentracije samog metala u njemu.

U cilju određivanja ekstrakcionih koeficijenata minerala i uticaja sadržaja HCl na njihovu vrednost, određen je sadržaj makro i mikroelemenata u metanolnim ekstraktima sa 0%, 0,1%, 1,0% i 2,0% HCl kora crvenih sorti jabuka.

Analitički parametri metoda su prikazani u Tabeli 4.39.

**Tabela 4.59.** Sadržaj makroelemenata u metanolnim ekstraktima kora jabuka (mg/kg svežeg voća)

Uzorak	Ca	K	Mg	Na	P
<b>E1 0</b>	9,981±0,109	34,948±0,311	2,758±0,078	5,619±0,133	6,516±0,099
<b>E1 0,1</b>	10,350±0,113	132,382±1,103	11,419±0,148	5,752±0,073	16,261±0,239
<b>E1 1</b>	10,725±0,110	135,866±0,384	11,564±0,244	5,644±0,114	16,722±0,196
<b>E1 2</b>	10,767±0,143	143,388±0,939	11,457±0,278	6,161±0,072	24,640±0,377
<b>E2 0</b>	8,735±0,105	83,047±0,538	6,360±0,125	4,866±0,127	5,974±0,141
<b>E2 0,1</b>	8,753±0,158	92,134±0,702	8,140±0,138	5,377±0,097	6,329±0,090
<b>E2 1</b>	8,829±0,103	92,916±0,765	8,080±0,160	5,736±0,032	10,22±0,194
<b>E2 2</b>	8,868±0,126	95,847±0,502	8,227±0,122	6,095±0,135	10,963±0,182
<b>E3 0</b>	9,478±0,131	26,344±0,379	1,625±0,042	4,067±0,165	5,906±0,014
<b>E3 0,1</b>	9,550±0,197	32,14±0,317	2,105±0,059	4,315±0,023	14,028±0,017
<b>E3 1</b>	9,652±0,209	52,624±0,464	2,192±0,020	4,253±0,020	14,050±0,040
<b>E3 2</b>	9,660±0,186	54,058±0,532	2,376±0,014	4,314±0,022	15,260±0,064
<b>E4 0</b>	9,871±0,119	100,416±0,722	3,021±0,096	6,284±0,014	5,362±0,012
<b>E4 0,1</b>	9,961±0,167	102,241±1,881	3,439±0,106	6,072±0,063	8,341±0,030
<b>E4 1</b>	10,345±0,169	118,618±1,525	6,424±0,110	6,993±0,029	9,833±0,048
<b>E4 2</b>	10,273±0,086	139,553±2,131	8,550±0,213	6,963±0,030	10,464±0,174
<b>E5 0</b>	9,252±0,106	21,736±0,324	1,767±0,021	5,246±0,024	10,151±0,049
<b>E5 0,1</b>	9,265±0,122	38,692±0,471	2,157±0,041	6,162±0,027	10,837±0,051
<b>E5 1</b>	9,675±0,126	46,165±0,283	3,353±0,044	6,153±0,038	10,738±0,091
<b>E5 2</b>	9,746±0,033	43,769±0,407	3,908±0,057	6,276±0,023	11,444±0,050

E1-Ajdared, E2-Pink lejdi, E3-Crveni delišes, E4-Modi, E5-Breburn

U Tabeli 4.59. prikazan je sadržaj makroelemenata (kalijuma, kalcijuma, magnezijuma i natrijuma) u metanolnim ekstraktima kore jabuka, dok su u Tabeli 4.60 dati odgovarajući ekstrakcioni koeficijenti.

**Tabela 4.60 . Ekstrakcioni koeficijenti (%) makroelemenata metanolom sa različitim sadržajem HCl**

<b>Uzorak</b>	<b>Ca</b>	<b>K</b>	<b>Mg</b>	<b>Na</b>	<b>P</b>
<b>E1 0</b>	4,845	1,876	2,364	4,624	3,056
<b>E1 0,1</b>	5,024	7,106	9,786	4,733	7,627
<b>E1 1</b>	5,206	7,293	9,910	4,644	7,843
<b>E1 2</b>	5,226	7,697	9,818	5,070	11,557
<b>E2 0</b>	6,099	5,502	5,518	3,848	3,899
<b>E2 0,1</b>	6,111	6,105	7,062	4,253	4,131
<b>E2 1</b>	6,164	6,156	7,010	4,537	6,671
<b>E2 2</b>	6,191	6,351	7,138	4,820	7,156
<b>E3 0</b>	5,696	1,997	1,646	3,415	2,981
<b>E3 0,1</b>	5,739	2,436	2,132	3,623	7,081
<b>E3 1</b>	5,800	3,988	2,220	3,571	7,092
<b>E3 2</b>	5,805	4,097	2,407	3,622	7,703
<b>E4 0</b>	4,883	6,074	2,594	4,371	4,342
<b>E4 0,1</b>	4,928	6,185	2,953	4,224	6,754
<b>E4 1</b>	5,118	7,176	5,517	4,864	7,962
<b>E4 2</b>	5,082	8,442	7,343	4,843	8,473
<b>E5 0</b>	6,216	1,759	1,716	4,052	6,474
<b>E5 0,1</b>	6,224	3,130	2,095	4,759	6,911
<b>E5 1</b>	6,500	3,735	3,257	4,752	6,848
<b>E5 2</b>	6,548	3,541	3,796	4,847	7,298

E1-Ajdared, E2-Pink lejdi, E3-Crveni delišes, E4-Modi, E5-Breburn

Iz Tabele 4.60. se može uočiti da su ekstrakcioni koeficijenti makroelemenata ujednačeni i iznose za Ca 4,84-6,55%, za K 1,87-8,44%, za Mg 1,716-9,91%, za Na 3,57-5,07% i za P 2,98-11,55%. Takođe se može uočiti kod svih uzoraka porast ekstrakcionog koeficijenta sa svakim pojedinačnim porastom procenta HCl, odnosno ekstrakcija je efikasnija sa porastom udela kiseline u ekstragensu. Svi makroelementi su slabo ekstraktibilni metali, stepen ekstrakcije je manji od 20% (Szymczycha-Madeja i sar.,2012).

U Tabeli 4.61. prikazan je sadržaj mikroelemenata u metanolnim ekstraktima kore jabuka, dok su u Tabeli 4.62. dati odgovarajući ekstrakcioni koeficijenti. Najveći stepen ekstrakcije dobijen je za stroncijum (6,583-17,371%), a najmanji za nikel (0,001-0,008%).

*Tabela 4.61. Sadržaj mikroelemenata u metanolnim ekstraktima kora jabuka (mg/kg svežeg voća)*

<b>Uzorak</b>	<b>B</b>	<b>Cu</b>	<b>Fe</b>	<b>Mn</b>	<b>Ni</b>	<b>Sr</b>	<b>V</b>	<b>Zn</b>	<b>Al</b>
<b>E1 0</b>	0,002±0,000	0,008±0,000	0,158±0,174	0,084±0,048	0,004±0,000	0,043±0,000	0,031±0,002	0,008±0,000	0,005±0,000
<b>E1 0,1</b>	0,002±0,000	0,009±0,000	0,263±0,166	0,188±0,011	0,002±0,000	0,042±0,001	0,035±0,002	0,008±0,000	0,005±0,000
<b>E1 1</b>	0,003±0,000	0,009±0,000	0,399±0,004	0,203±0,01	0,001±0,000	0,044±0,001	0,036±0,002	0,009±0,000	0,005±0,000
<b>E1 2</b>	0,003±0,000	0,009±0,000	0,396±0,003	0,218±0,011	0,010±0,000	0,046±0,002	0,036±0,002	0,009±0,000	0,005±0,000
<b>E2 0</b>	0,002±0,000	0,007±0,000	0,285±0,005	0,024±0,002	0,008±0,000	0,038±0,001	0,028±0,002	0,007±0,000	0,004±0,000
<b>E2 0,1</b>	0,002±0,000	0,007±0,000	0,289±0,010	0,044±0,003	0,008±0,000	0,039±0,002	0,029±0,003	0,007±0,000	0,004±0,000
<b>E2 1</b>	0,002±0,000	0,007±0,000	0,414±0,009	0,073±0,002	0,009±0,000	0,043±0,002	0,029±0,002	0,008±0,000	0,005±0,000
<b>E2 2</b>	0,002±0,000	0,007±0,000	0,438±0,007	0,073±0,001	0,007±0,000	0,042±0,002	0,032±0,003	0,008±0,000	0,005±0,000
<b>E3 0</b>	0,002±0,000	0,006±0,000	0,319±0,008	0,016±0,001	0,007±0,000	0,041±0,004	0,043±0,004	0,007±0,000	0,004±0,000
<b>E3 0,1</b>	0,002±0,000	0,007±0,000	0,354±0,010	0,117±0,01	0,008±0,000	0,042±0,003	0,046±0,003	0,007±0,000	0,004±0,000
<b>E3 1</b>	0,002±0,000	0,007±0,000	0,386±0,010	0,116±0,01	0,008±0,000	0,044±0,004	0,047±0,003	0,007±0,000	0,004±0,000
<b>E3 2</b>	0,002±0,000	0,007±0,000	0,391±0,008	0,12±0,003	0,007±0,000	0,045±0,002	0,042±0,002	0,007±0,000	0,004±0,000
<b>E4 0</b>	0,002±0,000	0,007±0,000	0,336±0,009	0,081±0,002	0,007±0,000	0,035±0,003	0,037±0,002	0,007±0,000	0,005±0,000
<b>E4 0,1</b>	0,003±0,000	0,007±0,000	0,256±0,191	0,118±0,001	0,007±0,000	0,037±0,002	0,038±0,003	0,007±0,000	0,006±0,000
<b>E4 1</b>	0,003±0,000	0,008±0,000	0,387±0,003	0,123±0,002	0,006±0,000	0,038±0,003	0,04±0,003	0,007±0,000	0,006±0,000
<b>E4 2</b>	0,003±0,000	0,008±0,000	0,372±0,003	0,125±0,003	0,007±0,000	0,04±0,001	0,038±0,002	0,007±0,000	0,006±0,000
<b>E5 0</b>	0,002±0,000	0,008±0,000	0,395±0,003	0,069±0,002	0,005±0,000	0,033±0,001	0,044±0,004	0,007±0,000	0,006±0,000
<b>E5 0,1</b>	0,002±0,000	0,008±0,000	0,379±0,032	0,079±0,003	0,005±0,000	0,034±0,003	0,048±0,004	0,007±0,000	0,006±0,000
<b>E5 1</b>	0,002±0,000	0,009±0,000	0,405±0,003	0,010±0,002	0,006±0,000	0,037±0,002	0,046±0,004	0,007±0,000	0,006±0,000
<b>E5 2</b>	0,002±0,000	0,008±0,000	0,486±0,003	0,011±0,001	0,005±0,000	0,036±0,003	0,047±0,003	0,007±0,000	0,006±0,000

E1- Ajdared, E2-Pink lejdi, E3-Crveni delišes, E4-Modi, E5-Breburn



*Tabela 4.62. Ekstrakcioni koeficijenti (%) mikroelemenata metanolom sa različitim sadržajem HC l*

Uzorak	B	Cu	Fe	Mn	Ni	Sr	V	Zn	Al
<b>E1 0</b>	0,049	1,280	2,310	3,101	0,003	6,740	2,598	1,887	0,139
<b>E1 0,1</b>	0,049	1,440	3,846	6,940	0,002	6,583	2,934	1,887	0,139
<b>E1 1</b>	0,074	1,440	5,834	7,494	0,001	6,897	3,018	2,123	0,139
<b>E1 2</b>	0,074	1,440	5,790	8,047	0,008	7,210	3,018	2,123	0,139
<b>E2 0</b>	0,077	1,375	4,780	2,945	0,006	13,475	2,367	1,699	0,123
<b>E2 0,1</b>	0,077	1,375	4,847	5,399	0,006	13,830	2,451	1,699	0,123
<b>E2 1</b>	0,077	1,375	6,944	8,957	0,007	15,248	2,451	1,942	0,154
<b>E2 2</b>	0,077	1,375	7,347	8,957	0,006	14,894	2,705	1,942	0,154
<b>E3 0</b>	0,092	1,205	5,290	0,687	0,006	7,721	4,000	1,818	0,129
<b>E3 0,1</b>	0,092	1,406	5,871	5,024	0,007	7,910	4,279	1,818	0,129
<b>E3 1</b>	0,092	1,406	6,401	4,981	0,007	8,286	4,372	1,818	0,129
<b>E3 2</b>	0,092	1,406	6,484	5,152	0,006	8,475	3,907	1,818	0,129
<b>E4 0</b>	0,042	1,367	4,946	5,544	0,005	13,780	3,107	1,759	0,126
<b>E4 0,1</b>	0,063	1,367	3,768	8,077	0,005	14,567	3,191	1,759	0,151
<b>E4 1</b>	0,063	1,563	5,696	8,419	0,004	14,961	3,359	1,759	0,151
<b>E4 2</b>	0,063	1,563	5,475	8,556	0,005	15,748	3,191	1,759	0,151
<b>E5 0</b>	0,049	1,460	5,365	9,237	0,004	15,493	3,957	2,006	0,128
<b>E5 0,1</b>	0,049	1,460	5,147	10,576	0,004	15,962	4,317	2,006	0,128
<b>E5 1</b>	0,049	1,642	5,500	1,339	0,005	17,371	4,137	2,006	0,128
<b>E5 2</b>	0,049	1,460	6,601	1,473	0,004	16,901	4,227	2,006	0,128

E1-Ajdared, E2-Pink lejdi, E3-Crveni delišes, E4-Modi, E5-Breburn

## **4.5. UPOREDNA, KORELACIONA I PCA ANALIZA DOBIJENIH REZULTATA**

### **4.5.1. Uporedni pregled sadržaja ukupnih fenola i flavonoida ispitivanih vrsta voća**

U Tabeli 4.63. je dat prosečan sadržaj ukupnih fenola, flavonoida i njihovog odnosa (TF/TP) ispitivanih vrsta voća radi diskusije i poređenja rezultata dobijenih za dunje, breskve i jabuke.

**Tabela 4.63.** Prosečan sadržaj ukupnih fenola (TP) i flavonoida (TF) i njihov odnos (TP/TF) u uzorcima dunja, bresaka i jabuka izražen u mg/kg svežeg voća

<b>Uzorak</b>	<b>TP</b>	<b>TF</b>	<b>TP/TF</b>
<b>Dunje, kora</b>	1657,9	521,7	0,31
<b>Dunje, pulpa</b>	1110,5	321,4	0,29
<b>Sortne breskve, kora</b>	868,0	434,8	0,50
<b>Sortne breskve, pulpa</b>	515,5	247,3	0,48
<b>Vinogradarske breskve, plod</b>	2623,6	1797,2	0,68
<b>Jabuke, plod</b>	1460,6	698,7	0,48
<b>Jabuke, kora</b>	2654,5	1384,0	0,52

Iz Tabele 4.63. se vidi da su vinogradarske breskve, među ispitivanim uzorcima, najbogatiji izvor kako ukupnih polifenolnih jedinjenja, tako i ukupnih flavonoida. Takođe, najveća zastupljenost flavonoida (0,68) u odnosu na ukupan sadržaj fenolnih jedinjenja uočena je kod vinogradarskih bresaka. Kora kod svih vrsta voća je značajno bogatija polifenolima od pulpe, te se nameće činjenica da je bolje da se plod voća konzumira ceo i izbegava ljuštenje. Ako se razlike razmatraju na nivou sadržaja ukupnih fenolnih jedinjenja i ukupnih flavonoida u kori voća, kora jabuke sadrži najveću koncentraciju polifenola. Takođe, kora jabuka sadrži najveći i procenat flavonoida (52%). Iz Tabele 4.63. se može videti da pulpa dunje sadrži dva puta veću količinu ukupnih fenola u odnosu na pulpu bresaka.

#### 4.5.2. Uporedni pregled sadržaja hidroksicimetnih kiselina i flavonola ispitivanih vrsta voća

U Tabeli 4.64. je dat prosečan sadržaj hidroksicimetnih kiselina i flavonola, kao i njihovih ukupnih sadržaja u kori i pulpi, radi diskusije i poređenja rezultata dobijenih za dunje, breskve i jabuke.

**Tabela 4.64. Pregled HPLC analize ispitivanih ekstrakata**

Hidroksicimetna kiselina (mg/kg)	Dunja		Breskva		Jabuka
	pulpa	kora	pulpa	kora	kora
<i>3-O-kafeoilhinska kiselina</i>	108,86	264,60	24,86	45,13	nd
<i>4-O-p-kumaroilhinska kiselina</i>	5,28	13,94	nd	nd	nd
<i>4-O-kafeoilhinska kiselina</i>	22,88	48,19	nd	nd	nd
<i>5-O-kafeoilhinska kiselina</i>	157,21	367,63	38,68	150,38	31,62
<i>p-kumaroilhinska kiselina, derivat</i>	12,12	44,25	nd	nd	nd
<i>3,5-dikafeoilhinska kiselina</i>	67,79	139,59	nd	nd	nd
<i>p-kumarna kiselina</i>	nd	nd	1,16	2,70	3,10
<i>ferulna kiselina</i>	nd	nd	nd	nd	6,25
<i>Σhidroksicimetnih kiselina</i>	374,14	878,20	64,70	198,21	40,97
<b>Flavonoli (mg/kg)</b>					
<i>kvercetin-3-galaktozid</i>	nd	44,57	nd	nd	42,26
<i>kvercetin-3-rutinozid</i>	5,09	175,87	nd	13,99	nd
<i>kvercetin-3-glukozid</i>	nd	45,94	nd	8,89	10,27
<i>kvercetin-3-ksilozid</i>	nd	nd	nd	nd	16,32
<i>kvercetin-3-arabinozid</i>	nd	nd	nd	nd	20,45
<i>kvercetin-3-ramnozid</i>	nd	nd	nd	3,48	22,18
<i>kvercetin</i>	nd	nd	nd	nd	47,73
<i>kemferol-3-glukozid</i>	nd	24,77	nd	nd	nd
<i>kemferol-3-glukozid</i>	nd	14,19	nd	8,72	nd
<i>Σflavonola</i>	5,09	305,34	/	35,08	159,21

U ekstraktima kore i pulpe dunja identifikovano je šest hidroksicimetnih kiselina i to derivati kafeoil i kumaroilhinske kiseline, kora i pulpa sortnih bresaka sadrže derivate kafeoilhinske kiseline (hlorogensku i neohlorogensku kiselinu) i p-kumarnu kiselinu, dok kora jabuka sadrži hlorogensku, p-kumarnu i ferulnu kiselinu. S obzirom da sadržaj ukupnih hidroksicimetnih kiselina opada u nizu: kora dunja > pulpa dunja > kora bresaka > pulpa bresaka > kora jabuka, možemo zaključiti da je dunja bogat izvor hidroksicimetnih kiselina (52,97% od ukupnih fenola kore i 33,69% od ukupnih fenola pulpe dunja). Najzastupljenija hidroksicimetna kiselina u svim ekstraktima je hlorogenska kiselina.

S obzirom da svrtnost stimuliše biosintezu flavonola, to se oni akumuliraju u kori voća. Kora jabuka sadrži samo kvercetin glikozide, dok kora dunja i bresaka pored kvercetin glikozida sadrže i glikozide kemferola. Sadržaj ukupnih flavonola opada u nizu: kora dunja > kora jabuka > kora bresaka. Od glikozida u kori dunja i bresaka je najzastupljeniji kvercetin-3-rutinozid (57,60% i 39,88% u odnosu na ukupne flavonole), dok je u kori jabuka najzastupljeniji kvercetin-3-galaktozid (26,54%).

#### ***4.5.3. Uporedni pregled antioksidativnih aktivnosti ispitivanih vrsta voća***

U Tabeli 4.65. je data prosečana vrednost antioksidativnih aktivnosti ispitivanih ekstrakata dobijenih DPPH, ABTS, FRAP i RP metodama radi diskusije i poređenja rezultata za dunje, breskve i jabuke.

DPPH, ABTS, FRAP i RP su veoma često upotrebljavane metode za *in vitro* određivanje antioksidativnog kapaciteta. Kada se antioksidant nađe u kompleksnom okruženju on reaguje u zavisnosti od svoje hemijske prirode, što kao rezultat ima drugačije brojne vrednosti rezultata za svaku od navedenih metoda. Od svih ispitivanih uzoraka, kora dunja je pokazala najveću ABTS, FRAP i RP antioksidativnu aktivnost, dok je kora jabuka pokazala najveću DPPH antioksidativnu aktivnost, pa određivanje antioksidativne aktivnosti samo jednom metodom ne bi dalo pravu sliku antioksidativnog kapaciteta ispitivanih ekstrakata. Generalno svi ispitivani ekstrakti imaju visoku antioksidativnu aktivnost.

**Tabela 4.65.** Prosečana vrednost antioksidativnih aktivnosti ispitivanih ekstrakata dunja, bresaka i jabuka

Uzorak	Deo voća	DPPH mmol TE/kg s.m	ABTS mmol TE/kg s.m	FRAP mmol Fe/kg s.m	RP mg GAE/kg s.m
Dunje	Kora	3,18	7,01	7,89	625,9
	Pulpa	2,68	5,83	5,72	389,0
Breskve	Kora	2,52	4,55	5,58	280,3
	Pulpa	1,92	3,39	4,68	163,4
Jabuke	Kora	3,55	5,90	1,69	1411,2
	Plod	2,51	3,46	6,84	551,4

#### 4.5.4. Korelaciona analiza sadržaja fenolnih jedinjenja i antioksidativnih aktivnosti

Smatra se da fenolna jedinjenja imaju najveću ulogu u biološkoj aktivnosti ekstrakata voća i njihovo prisustvo doprinosi njihovoj antioksidativnoj aktivnosti. Veliki broj studija ukazuje da od fenolnih jedinjenja uloga flavonoida je od posebnog značaja. Od strukturnih elemenata koji su značajni za antioksidativnu aktivnost flavonoida, hidroksilne grupe imaju najveći značaj, pri čemu njihov uticaj ima mnogo veći uticaj, nego broj (Cotelle, 2001). Iz tog razloga analizirana je i korelacija sadržaja ukupnih fenola, flavonoida, flavonola, hidroksicimetnih kiselina i antioksidativnih aktivnosti ispitivanih ekstrakata.

Koeficijent višestruke korelacije ili Pirsonov (*Karl Pearson*) koeficijent, kvantitativna mera stepena linearne zavisnosti između sadržaja TP, TF ukupnih flavonola, ukupnih hidroksicimetnih kiselina i antioksidativnih aktivnosti u kori dunja, bresaka i jabuka, dat je tabelarno (Tabela 4.66.).

**Tabela 4.66.** Koeficijenti korelacije ukupnih fenola, flavonoida, flavonola, hidrokscimetnih kiselina i antioksidativnih aktivnosti kore dunja, bresaka i jabuka

Uzorak		TP	TF	$\Sigma$ flavonola	$\Sigma$ hidrokscim. kis	DPPH	ABTS	FRAP	RP
<b>Dunje</b>	TP	1	0,9819	0,5188	0,8441	0,8451	0,7942	0,9822	0,9951
	TF		1	0,4144	0,8353	0,8195	0,7839	0,9717	0,9754
	$\Sigma$ flavonola			1	0,1635	0,3906	0,0624	0,5351	0,5515
	$\Sigma$ hidrokscim. kis.				1	0,8799	0,8633	0,7965	0,8189
	DPPH					1	0,7962	0,7778	0,8279
	ABTS						1	0,7204	0,7565
	FRAP							1	0,9810
	RP								1
<b>Breskve</b>	TP	1	0,9071	0,8152	0,8023	0,9136	0,9337	0,9321	0,9941
	TF		1	0,8392	0,6966	0,9349	0,9478	0,9426	0,9232
	$\Sigma$ flavonola			1	0,4973	0,8191	0,8316	0,8300	0,8207
	$\Sigma$ hidrokscim. kis.				1	0,7762	0,7738	0,7567	0,7881
	DPPH					1	0,9887	0,9770	0,9302
	ABTS						1	0,9958	0,9504
	FRAP							1	0,9485
	RP								1
<b>Jabuke</b>	TP	1	0,9713	0,4516	0,3041	0,9474	0,9583	0,9891	0,9851
	TF		1	0,3585	0,2235	0,9119	0,9482	0,9614	0,9582
	$\Sigma$ flavonola			1	0,8945	0,3304	0,4867	0,4202	0,4032
	$\Sigma$ hidrokscim. kis.				1	0,1538	0,3757	0,2572	0,2591
	DPPH					1	0,8646	0,9592	0,9456
	ABTS						1	0,9342	0,9480
	FRAP							1	0,9762
	RP								1

Ako se posmatra zavisnost između sadržaja ukupnih fenola i individualnih antioksidativnih testova može se uočiti izuzetno visoka korelacija. Najveća vrednost korelacije ukupnih fenola je sa RP metodom (0,9851-0,9951), za kojom sledi FRAP (0,9321-0,9891), DPPH (0,8451-0,9474) i ABTS (0,7942-0,9583). Ovo pokazuje da je visok sadržaj fenolnih jedinjenja direktno povezan sa *in vitro* a verovatno i sa *in vivo* antioksidativnim testovima. Ako se posmatra zavisnost između sadržaja ukupnih fenola i hidrokscimetnih

kiselina u kori dunja, bresaka i jabuka, određenih HPLC metodom, može se uočiti znatno veća korelacija između sadržaja hidroksicimetnih kiselina i individualnih antioksidativnih testova, nego u slučaju sadržaja ukupnih flavonola. Ovo se može objasniti činjenicom da je procentni sadržaj hidroksicimetnih kiselina znatno veći od sadržaja flavonola u ispitivanim uzorcima.

Slična situacija je i u slučaju ekstrakata pulpe dunja i bresaka. Takođe se iz Tabela 4.67. i 4.68. može uočiti da postoji i velika međusobna korelacija između samih antioksidativnih testova (0,7204-0,9896), što navodi na zaključak da su fenolna jedinjenja zaslužna za antioksidativnu aktivnost ispitivanih ekstrakata voća i da osim njih ima veoma malo drugih jedinjenja odgovornih za opženu aktivnost.

Poznato je da joni  $\text{Fe}^{2+}$  mogu inicirati reakciju lipidne peroksidacije Fentonovom reakcijom ( $\text{H}_2\text{O}_2 + \text{Fe}^{2+} \rightarrow \text{Fe}^{3+} + \text{OH}^- + \text{OH}^\bullet$ ), kao i ubrzati razgradnju lipidnih peroksida, u pravcu stvaranja peroksi i alkoksi radikala, koji dalje vrše propagaciju (*Halliwell, 1991*). Stoga se smatra da je helatizacija jedan od vrlo značajnih mehanizama antioksidativne aktivnosti (*Duh i sar., 1999*). U skladu sa navedenim, dobijena je očekivana pozitivna korelacija između „skevindžer“ aktivnosti na hidroksil radikale i helacione aktivnosti. Smatra se da su flavonoidi najznačajnije helatirajuće supstance u biljnim tkivima, što je potvrđeno u ovom radu, s obzirom na visoku pozitivnu korelaciju između sadržaja ukupnih flavonoida i antioksidativne aktivnosti određene FRAP metodom.

Koeficijent korelacije zavisnosti između sadržaja TP, TF ukupnih flavonola, ukupnih hidroksicimetnih kiselina i antioksidativnih aktivnosti u pulpi dunja i bresaka, dat je tabelarno (Tabela 4.67.). Može se uočiti, kao kod uzoraka kore, jaka pozitivna korelacija između TP i svih antioksidativnih aktivnosti kod svih uzoraka. Ukupan sadržaj hidroksicimetnih kiselina, pokazuje bilju korelaciju sa TP i antioksidativnim aktivnostima od TF, kako kod uzoraka kore, tako i kod uzoraka pulpe.

**Tabela 4.67.** Koeficijenti korelacije ukupnih fenola, flavonoida, flavonola, hidroksicimetnih kiselina i antioksidativnih aktivnosti pulpe dunja i bresaka

Uzorak		TP	TF	$\Sigma$ flavonola	$\Sigma$ hidroksicim. kis	DPPH	ABTS	FRAP	RP
Dunje	TP	1	0,9908	0,4083	0,8131	0,8843	0,8468	0,9983	0,9961
	TF		1	0,3757	0,8157	0,8662	0,8314	0,9903	0,9860
	$\Sigma$ flavonola			1	0,5308	0,5195	0,3569	0,3957	0,3760
	$\Sigma$ hidroksicim. kis.				1	0,8224	0,8344	0,8197	0,7941
	DPPH					1	0,8743	0,8821	0,8724
	ABTS						1	0,8551	0,8389
	FRAP							1	0,9942
	RP								1
Breskve	TP	1	0,9133	/	0,6777	0,9531	0,9691	0,9763	0,9946
	TF		1	/	0,7257	0,9229	0,9196	0,9277	0,9180
	$\Sigma$ flavonola			1	/	/	/	/	/
	$\Sigma$ hidroksicim. kis.				1	0,7522	0,6927	0,6974	0,6498
	DPPH					1	0,9896	0,9867	0,9393
	ABTS						1	0,9972	0,9614
	FRAP							1	0,9730
	RP								1

**Tabela 4.68.** Koeficijenti korelacije ukupnih fenola, flavonoida i antioksidativnih aktivnosti ploda vinogradarskih bresaka i jabuka

Uzorak		TP	TF	DPPH	ABTS	FRAP	RP
Vinogradarske breskve	TP	1	0,9712	0,9729	/	/	/
	TF		1	0,9684	/	/	/
	DPPH			1	/	/	/
	ABTS				1	/	/
	FRAP					1	/
	RP						1
Jabuke	TP	1	0,7879	0,7926	0,8769	0,9143	0,8491
	TF		1	0,7066	0,9398	0,8943	0,4672
	DPPH			1	0,8003	0,8056	0,7058
	ABTS				1	0,9609	0,6372
	FRAP					1	0,7301
	RP						1



Koeficijent korelacije između sadržaja TP, TF i antioksidativnih aktivnosti ploda vinogradarskih bresaka i jabuka, dat je u Tabeli 4.68. I ovde se može uočiti visoka pozitivna korelacija između TP TF i antioksidativnih aktivnosti.

#### 4.5.5. Uporedni pregled mineralnog sastava ispitivanih vrsta voća

U Tabelama 4.69, 4.70. i 4.71. dat je prosečan sadržaj makro, mikro i toksičnih elemenata u ispitivanim vrstama voća.

**Tabela 4.69.** Prosečan sadržaj makroelemenata (mg/kg svežeg voća)

Voće	Deo voća	Ca	K	Mg	Na	P	Σ
Dunja	Kora	182,49	1970,07	60,18	21,88	552,81	2787,43
	Pulpa	108,74	1494,43	45,32	16,68	258,14	1923,33
	Semenke	2362,91	7391,04	853,37	16,73	5723,01	16347,06
Breskva	Kora	231,29	3804,30	113,24	160,04	412,45	4721,34
	Pulpa	169,24	4622,54	90,68	99,07	331,38	5312,92
Jabuka	Kora	173,33	1516,19	110,02	128,06	168,96	2096,50
	Semenke	1669,64	5796,35	1185,4	27,62	5642,56	14321,57

Na osnovu podataka datih u Tabeli 4.69. može se zaključiti da su semenke dunja i jabuka jako bogat izvor esencijalnih makroelemenata. Izuzetak čini natrijum, koji je više zastupljen u kori nego u semenkama dunja i jabuka. Ukoliko se sadržaj makroelemenata razmatra između pulpe i kore voća, veći je sadržaj određen u kori dunja, odnosno u pulpi bresaka. Ovakve razlike koje postoje u pogledu zastupljenosti makroelemenata u pojedinim delovima voća su najvećim delom posledica vrste voća ali i geografskog porekla ispitivanih uzoraka.

Tabela 4.70. Prosečan sadržaj mikroelemenata (mg/kg svežeg voća)

Voće	Deo voća	B	Ba	Co	Cr	Cu	Fe	Mn	Ni	Se	Sr	V	Zn	Σ
Dunja	Kora	4,04	0,84	0,02	0,05	2,03	9,52	0,42	0,36	/	0,53	0,87	3,43	22,10
	Pulpa	2,05	0,65	0,05	0,06	1,00	3,40	0,22	0,41	/	0,46	0,77	1,52	10,58
	Semenke	/	15,55	0,60	0,43	18,56	49,83	14,21	0,85	0,24	6,54	12,67	55,21	174,69
Breskva	Kora	7,20	0,56	0,01	0,08	1,35	8,26	0,48	0,22	0,00	0,50	1,25	0,78	20,71
	Pulpa	5,05	0,33	0,01	0,09	0,88	7,21	0,55	0,18	0,00	0,34	1,22	0,68	16,53
Jabuka	Kora	3,53	0,54	0,01	0,06	0,54	6,60	1,61	1,28	0,01	0,38	1,15	0,39	16,10
	Semenke	/	8,13	0,23	1,15	12,51	35,32	23,64	0,28	0,40	7,07	9,30	23,00	121,04

Sadržaj ukupnih mikroelemenata se na osnovu dobijenih rezultata (Tabela 4.70.), može se rasporediti po sledećem opadajućem nizu: semenke > kora > pulpa. Mikronutrijenti poput Fe, Zn i Cu u pogledu zastupljenosti slede isti opadajući niz. Selen je detektovan jedino u semenkama. Zbog antioksidativnog delovanja i dokazane veze višeg unosa sa manjim rizikom od raka, raširena je upotreba različitih proizvoda bogatih ovim nutrijentom.

S druge strane, jedino bor nije detektovan u semenkama dunja i jabuka, dok se njegova količina u kori kreće u intervalu od 3,53 do 7,20 mg/kg, dok je u pulpi njegov sadržaj od 2,05 do 5,05 mg/kg. Bor, iako spada u grupu neesencijalnih elemenata, ima uticaj na čovekov organizam, pre svega na skelet. Zajedno sa kalcijumom, magnezijumom i vitaminom D reguliše metabolizam, rast i razvoj koštanog tkiva.

**Tabela 4.71.** Prosečan sadržaj toksičnih elemenata (mg/kg svežeg voća)

Voće	Deo voća	Al	As	Pb	Cd	Σ
Dunja	Kora	3,44	0,02	0,02	nd	3,48
	Pulpa	5,14	0,01	0,04	nd	5,19
	Semenke	3,36	nd	0,26	0,04	3,66
Breskva	Kora	8,55	0,05	0,02	nd	8,62
	Pulpa	4,50	0,04	0,01	nd	4,56
Jabuka	Kora	3,71	0,02	0,02	nd	3,75
	Semenke	6,81	nd	0,08	0,01	6,90

U pogledu sadržaja ukupnih toksičnih elemenata u pojedinim delovima voća ne može se uočiti pravilnost (Tabela 4.71.). Jedino je kora bresaka pokazala veći sadržaj toksičnih elemenata u odnosu na pulpu, što potvrđuje činjenicu da su uzorci bresaka, a posebno kora voća bili izloženi uticaju mnogih faktora koji mogu dovesti do kontaminacije životne sredine. Međutim, detektovani sadržaji Pb, As i Cd su veoma niski u odnosu na ostale određivane elemente i ispod su dozvoljenih granica.

#### **4.5.6. Korelaciona i PCA analiza mineralnog sastava ispitivanih vrsta voća**

Statistička obrada rezultata imala je za cilj da se izvedu korelacije između sadržaja minerala i vrste uzorka. Dobijeni rezultati su obrađeni korelacionom i PCA analizom da bi se utvrdilo postoje li značajne razlike ili ne u sadržaju detektovanih elemenata, kako po vrsti uzoraka u svakoj od grupa ispitivanog voća, tako i u okviru svakog tipa uzorka, a koje se međusobno razlikuje ili po lokalitetu gajenja ili po sorti voća.

##### **Kora, pulpa i semenke dunja-Korelaciona analiza**

Za uzorke kore, pulpe i semenki dunja sorte Leskovačka sa sedam različitih lokacija Jugoistočne Srbije odrađena je korelaciona analiza između sadržaja mineralnih materija. U

Tabelama 8.12, 8.13. i 8.14. (Prilog) su prikazani Pirsonovi koeficijenti za sadržaj metala u kori, pulpi i semenkama dunje.

Ni je jedini element koji nije u dobroj pozitivnoj korelaciji ni sa jednim ispitivanim elementom.

Korelacija sadržaja minerala u semenkama dunja pokazala je dobru pozitivnu korelaciju ( $r > 0,5$ ) u okviru 8 grupa elemenata:

Grupa 1: Ca, Ba, Co, Cr, Fe, P, Se, Al, Cd

Grupa 2: K, Cu, Fe, P, Sr, Zn

Grupa 3: Na, Sr

Grupa 4: Co, Cu, Mn, Ni, P

Grupa 5: Cu, Mn, Zn

Grupa 7: Ni, Sr

Grupa 8: P, Se, Sr, Zn, Al, Cd

Mg, Pb, V su elementi koji nisu u dobroj pozitivnoj korelaciji ni sa jednim ispitivanim elementom.

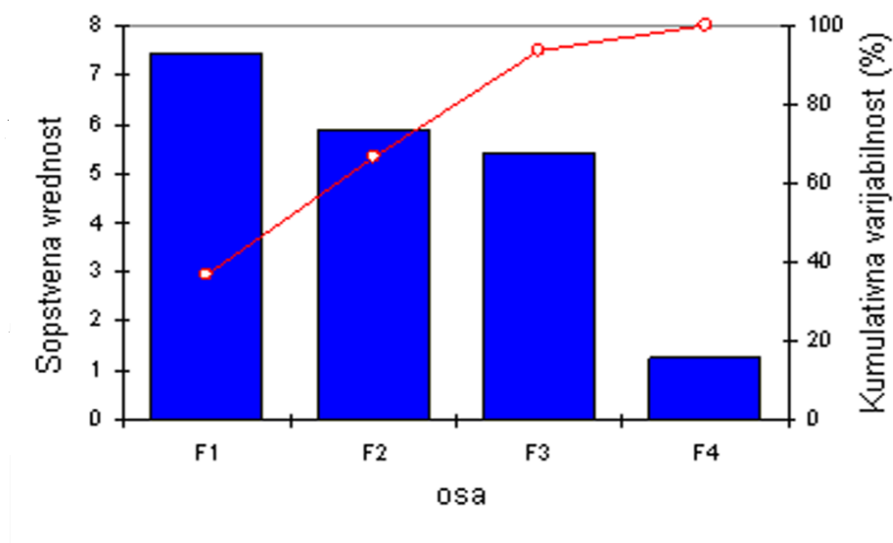
### ***Kora i pulpa bresaka-PCA analiza***

Analiza glavnih komponentata (PCA) analiza je jedna od najjednostavnijih metoda multivarijantne analize i može da posluži u diferencijaciji ispitivanih uzoraka na osnovu sadržaja minerala, na vrlo jednostavan i razuman način.

Na osnovu podataka dobijenih određivanjem mineralnih materija u uzorcima kore i pulpe bresaka (Tabela 4.41, 4.43, 4.45), PCA je omogućila da se naprave razlike između uzoraka. PCA je korisno oruđe, zbog toga što je jedna od njenih prednosti redukcija broja varijabli eksperimentalnih podataka i ekstrakcija malog broja latentnih faktora (glavnih komponentata, PCA) za analizu odnosa između uočenih varijabli (Horel 1981; Horel 1984). Na osnovu ovog prikazivanja, moguće je klasifikovati uzorke po raspodeli elemenata. Početna tačka za PCA izračunavanja je bio matriks podataka dimenzija  $n \times p$ , gde je  $n$  broj slučajeva (redova) i  $p$  je broj varijabli (kolona). U matriksu, uzorci bresaka su korišćeni kao

redovi. Kolone su rezultat analize određenih elemenata uzoraka bresaka. Kao rezultat PCA analize, 13 novih varijabli je dobijeno koje su okarakterisane sopstvenim vrednostima. Izvedena statistika sa Pearson korelacionim matriksom na uzorcima bresaka bazirana na sadržaju određenih elemenata pokazuje da postoji jaka pozitivna korelacija između količine natrijuma i arsena (0,910), i stroncijuma i barijuma (0,943); visoka pozitivna korelacija između količine arsena i aluminijuma (0,871), magnezijuma i aluminijuma (0,851), natrijuma i aluminijuma (0,771), arsena i barijuma (0,877), olova i arsena (0,828), stroncijuma i arsena (0,787), natrijuma i barijuma (0,839), olova i barijuma (0,786), magnezijuma i gvožđa (0,830), natrijuma i magnezijuma (0,726), vanadijuma i magnezijuma (0,702), olova i natrijuma (0,889), stroncijuma i natrijuma (0,737), i vanadijuma i natrijuma (0,741); srednja pozitivna korelacija između količine barijuma i aluminijuma (0,681), kalcijuma i aluminijuma (0,634), bakra i aluminijuma (0,540), gvožđa i aluminijuma (0,653), olova i aluminijuma (0,582), stroncijuma i aluminijuma (0,644), vanadijuma i aluminijuma (0,624), gvožđa i arsena (0,601), magnezijuma i arsena (0,697), nikla i arsena (0,559), vanadijuma i arsena (0,624), kalijuma i bora (0,558), gvožđa i barijuma (0,603), magnezijuma i barijuma (0,597), magnezijuma i kalcijuma (0,608), gvožđa i bakra (0,654), magnezijuma i bakra (0,614), nikla i bakra (0,604), fosfora i bakra (0,646), natrijuma i gvožđa (0,688), olova i gvožđa (0,552), stroncijuma i gvožđa (0,544), vanadijuma i gvožđa (0,623), cinka i gvožđa (0,654), stroncijuma i magnezijuma (0,583), cinka i magnezijuma (0,540), stroncijuma i olova (0,664), i vanadijuma i olova (0,693); visoka negativna korelacija između količine kalijuma i arsena (-0,722), kalijuma i barijuma (-0,857), i stroncijuma i kalijuma (-0,744); srednja negativna korelacija između količine barijuma i bora (-0,537), stroncijuma i kobalta (-0,536), cinka i kobalta (-0,643), natrijuma i kalijuma (-0,627), i olova i kalijuma (-0,646).

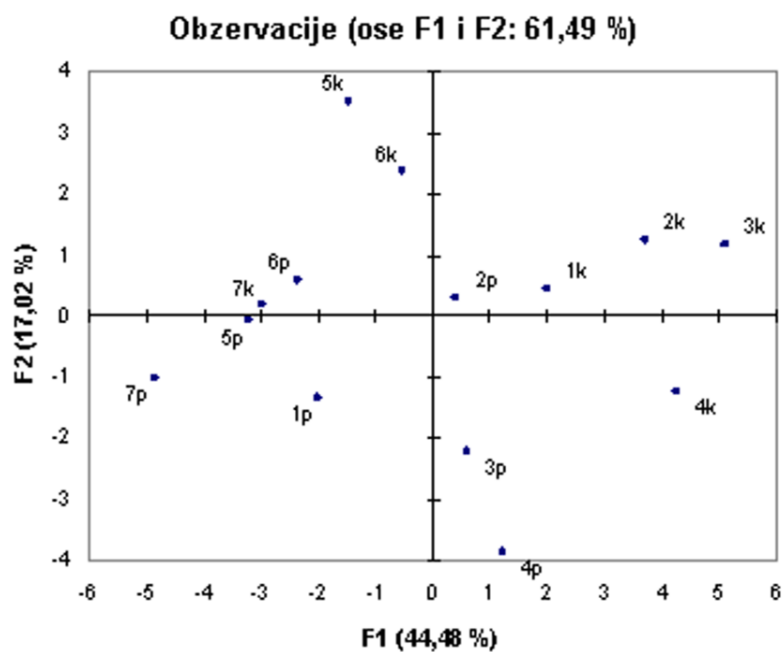
Broj faktora predstavlja ukupan broj varijabli korišćenih u setu podataka. Sopstvene vrednosti prvih šest faktora su više (8,451, 3,233, 1,956, 1,427, 1,225 i 1,035, redom) u poređenju sa vrednostima ostalih faktora. Tako, šest faktora se moraju koristiti za objašnjavanje dobijenih varijabilnosti (44,48 %, 17,01 %, 10,29 %, 7,51 %, 6,44 % i 5,45 %) (Slika 4.43.), odnosno, napraviće se razlika među uzorcima kore i pulpe šest sorti bresaka i jedne sorte nektarine na osnovu sadržaja Al, As, B, Ba, Ca i Co.



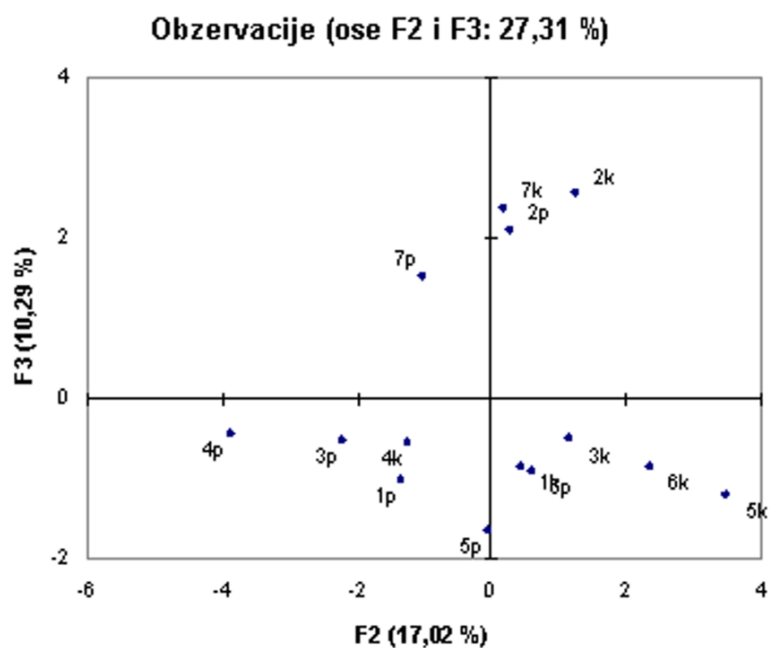
Slika 4.43. Važnost faktora i vrednosti kumulativnih varijabilnosti

Neke vrednosti faktora (F1, F2, F3, F4, F5 i F6) su pozitivne, a neke od njih su negativne.

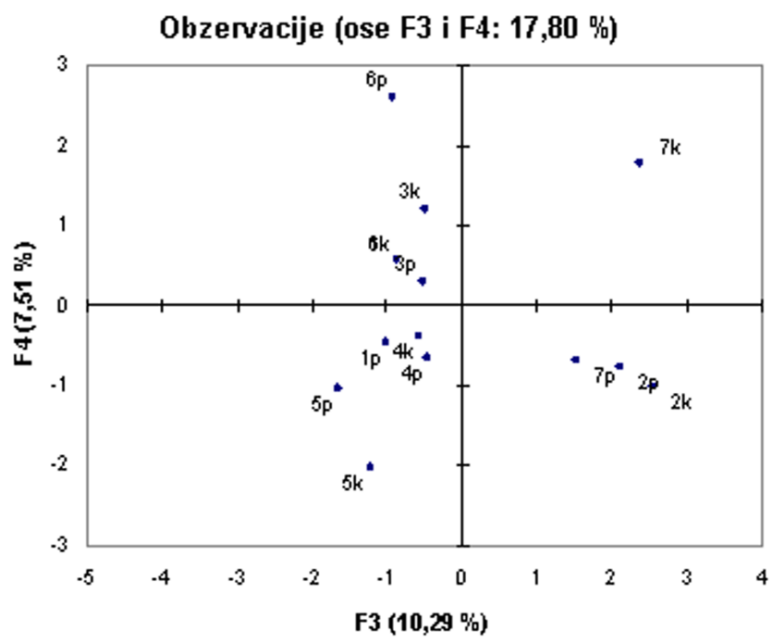
a)



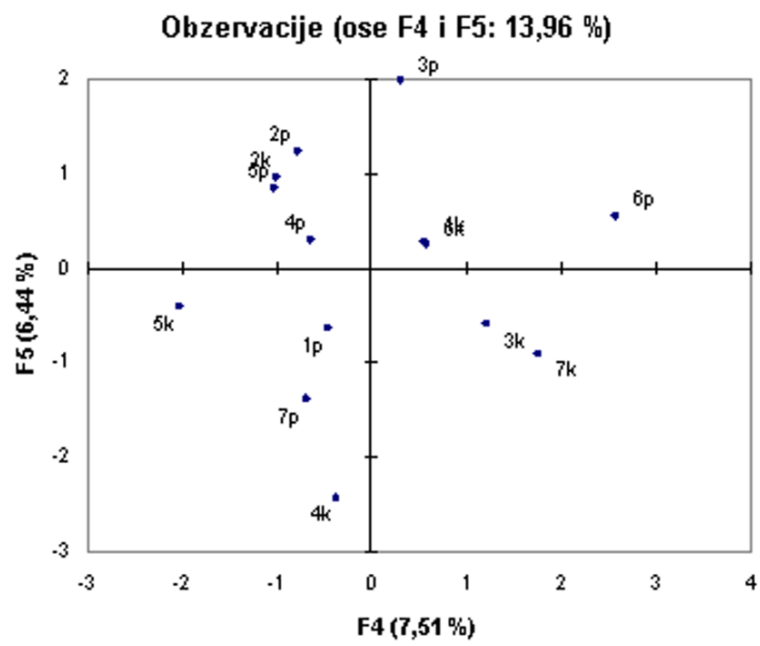
b)



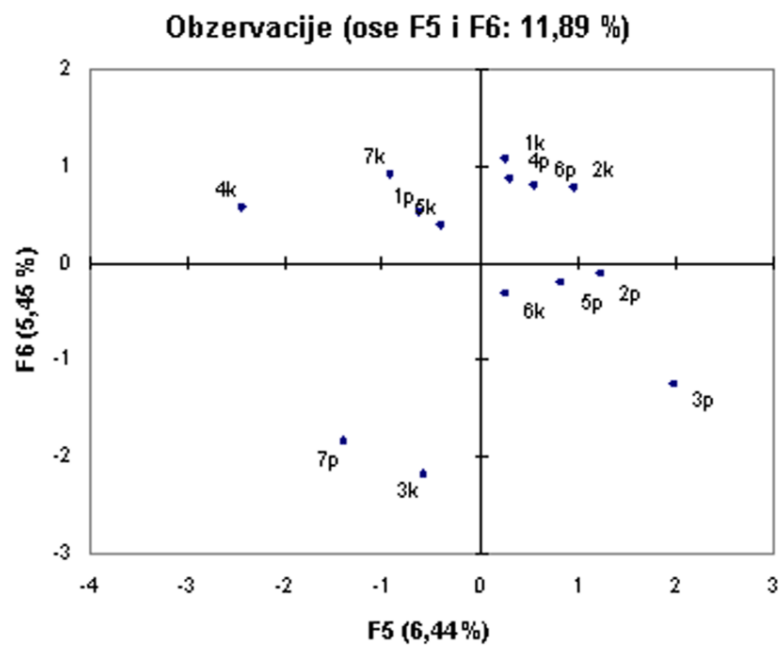
c)



d)



e)



Slika 4.44. Dijagram rasipanja



Na osnovu dijagrama rasipanja (Slike 4.44.a) može se videti da je visok sadržaj aluminijuma prisutan u uzorcima bresaka na desnoj strani grafika a nizak na levoj strani grafika. Takođe, može se zaključiti da je visok sadržaj arsena prisutan u uzorcima bresaka u gornjem delu grafika, a nizak na suprotnoj strani grafika. Slično, Slika 4.44.b pokazuje visok sadržaj arsena na desnoj strani grafika, a nizak na levoj strani grafika. Visok sadržaj bora je prisutan u uzorcima bresaka u gornjem delu grafika, a nizak na suprotnoj strani grafika. Slika 4.44.c potvrđuje informacije o visokom i niskom sadržaju bora, ali takođe pokazuje količinu barijuma; visok sadržaj barijuma je prisutan u uzorcima bresaka u gornjem delu grafika i nizak na suprotnoj strani grafika. Visok sadržaj barijuma je prisutan u uzorcima bresaka na desnoj strani grafika i nizak na levoj strani grafika (Slika 2d). Visoki sadržaj kalcijuma je prisutan u uzorcima bresaka u gornjem delu grafika i nizak na suprotnoj strani grafika (Slika 4.44.d). Slično, visok sadržaj kalcijuma je prisutan u uzorcima bresaka na desnoj strani grafika i nizak na levoj strani grafika (Slika 4.44.e). Visoki sadržaj kobalta je prisutan u uzorcima bresaka u gornjem delu grafika i nizak na suprotnoj strani grafika (Slika 4.44.e).

Dakle, primenom PCA analize, uzorci kore bresaka su uglavnom grupisani u pozitivnom delu faktorskih skorova faktora F1, F4, F6 i F2 što koru čini bogatom sadržajem Al, Ba, Co ali i As. Sadržajem B se izdvaja pulpa nektarine, dok su pulpe bresaka bogatije sadržajem Ca u odnosu na njihovu koru (faktor F5).

### ***Semenke jabuka-Korelaciona analiza***

Na osnovu podataka u Tabelama 4.50, 4.53 i 4.56. urađena je korelaciona analiza između sadržaja mineralnih materija u semenkama sedam sorti jabuka. Korelacioni koeficijenti su dati u Tabeli 8.15. (Prilog). Korelacija sadržaja minerala u semenkama jabuka (Tabela 8.18, Prilog) pokazala je dobru pozitivnu korelaciju ( $r > 0,5$ ) u okviru 9 grupa elemenata:

Grupa 1: Ca, Ba, Cr, Sr, Al

Grupa 2: K, Mg, Na, Cu, Fe, Ni, P, Zn

Grupa 3: Mg, Na, Ba, Cu, Fe, Mn, P, V, Zn, Al, Cd

Grupa 4: Na, Ba, Cu, Fe, Mn, P, Sr, Zn, Al, Cd

Grupa 5: Ba, Co, Cr, Fe, Ni, P, Sr, Zn, Al, Cd

Grupa 6: Co, Cr, Ni, Se, V

Grupa 7: Cr, Cu, Fe, Se, Sr, V, Al

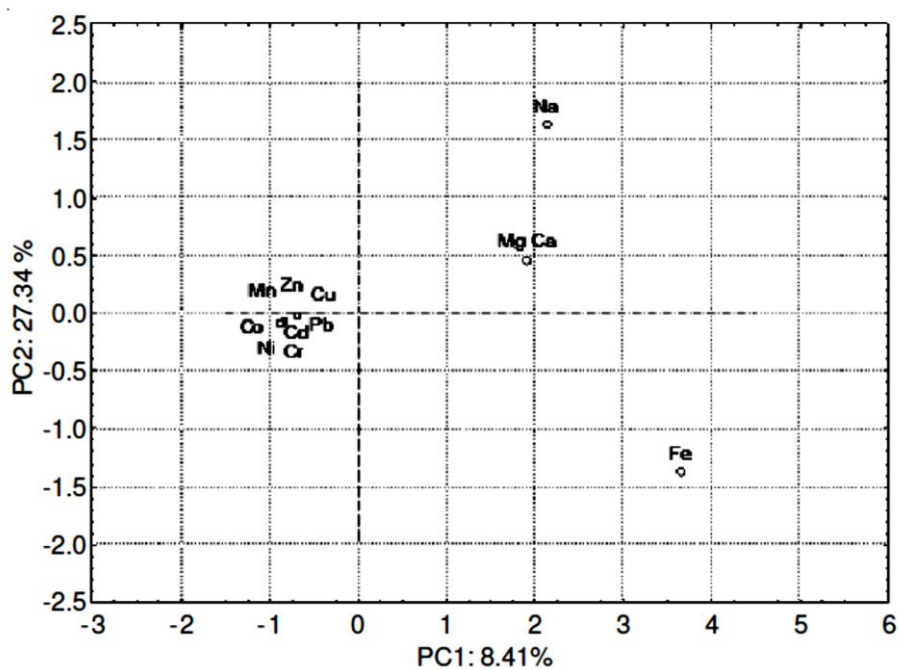
Grupa 8: Cu, Fe, P, Sr, V, Zn, Al, Cd, Pb

Grupa 9: Fe, Ni, P, Sr, V, Zn, Al, Cd.

Nema elementa koji nije u dobroj pozitivnoj korelaciji ni sa jednim ispitivanim elementom.

### *Plod i kora jabuka-PCA analiza*

Najpre smo uradili PCA analizu ploda jabuka na osnovu podataka dobijenih određivanjem odabranih elemenata u jabukama (Tabela 4.48., 4.51. i 4.54. makro, mikro i toksični elementi).



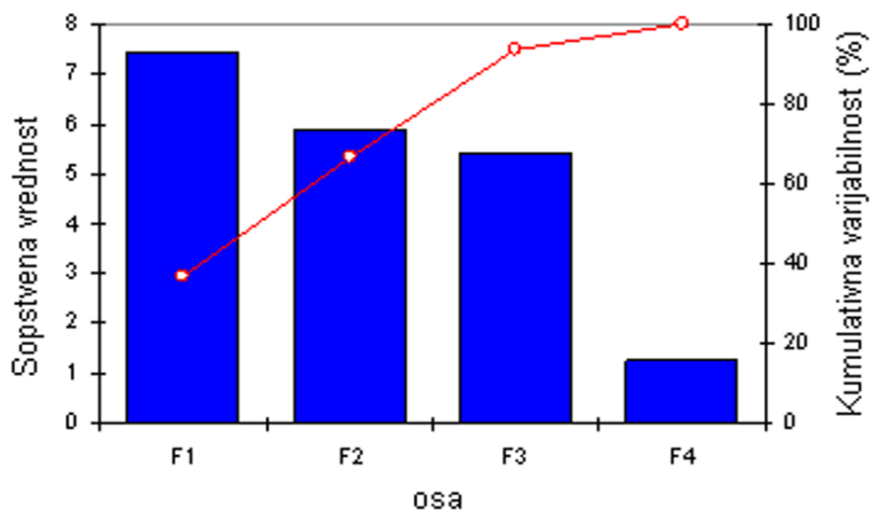
*Slika 4.45. Dijagram rasipanja*

Odnos između PC1 koji objašnjava 8,41% od ukupnih varijansi i PC2 koja objašnjava dalje 27,34% od ukupnih varijansi je prikazan na Slici 4.45. Dve osnovne komponente su pokazale da su najznačajnije i one čini zajedno 35,75% od ukupnih varijanse i povezanih sa koncentracijama metala u svim uzorcima. Elementi na desnoj strani grafika su u

većim koncentracijama od onih na levoj strani. Na gornjoj desnoj strani grafika su najzastupljeniji elementi (Na, Ca, Mg) u svim sortama jabuka, a zatim sledi Fe. Sa druge strane, Ni, Cd, Pb, Co i Cr sa negativnim vrednostima u PC1 i PC2 su povezani sa nižim koncentracijama. Cu, Zn i Mn su elementi sa pozitivnim vrednostima u PC2 i negativnim vrednostima u PC1.

Potom je urađena PCA za kore jabuka na osnovu podataka dobijenih određivanjem odabranih elemenata u uzorcima kore jabuka (Tabele 4.44., 4.47., i 4.50.). PCA je i u ovom slučaju korišćena da bi se napravile razlike u uzorcima kora jabuka. U matriksu, uzorci jabuka (Pink lejdi, Crveni delišes, Ajdared, Breburn i Modi) su korišćeni kao redovi. Kolone su rezultat analize određenih elemenata uzoraka jabuka. Kao rezultat PCA analize, 20 novih varijabli je dobijeno koje su okarakterisane sopstvenim vrednostima. Izvedena statistika sa Pearson korelacionim matriksom na uzorcima jabuka bazirana na sadržaju određenih elemenata pokazuje da postoji jaka pozitivna korelacija između količine aluminijuma i gvožđa (0,935), olova i bora (0,990), mangana i barijuma (0,945), fosfora i barijuma (0,919), stroncijuma i barijuma (0,971), vanadijuma i magnezijuma (1,000), stroncijuma i mangana (0,945), stroncijuma i fosfora (0,919), i jaka negativna korelacija između količine arsena i magnezijuma (-0,894), arsena i vanadijuma (-0,893), seleni i kobalta (-0,978), nikla i gvožđa (-0,881), fosfora i natrijuma (-0,894).

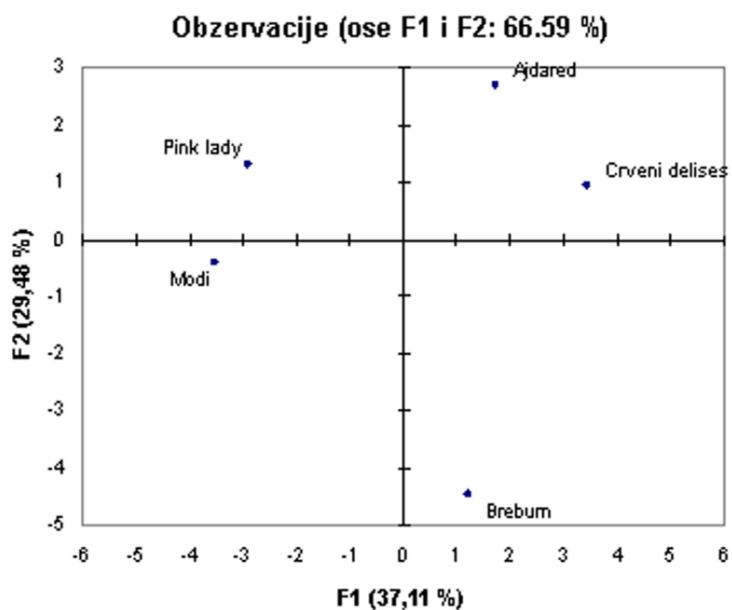
Broj faktora predstavlja ukupan broj varijabli korišćenih u setu podataka. Sopstvene vrednosti prva četiri faktora su više (7,422, 5,896, 5,441, i 1,241, redom) u poređenju sa vrednostima ostalih faktora. Tako, četiri faktora se moraju koristiti za objašnjavanje dobijenih varijabilnosti (37,11 %, 29,48 %, 27,20 % i 6,20 %) (Slika 4.46), odnosno, napraviće se razlike među uzorcima kore jabuka različitih sorti na osnovu sadržaja Al, As, B i Ba.



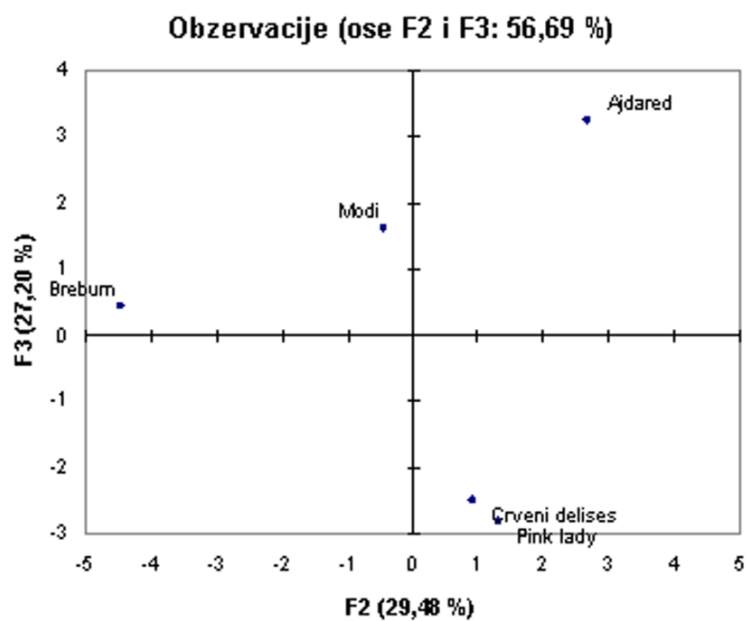
**Slika 4.46.** Važnost faktora i vrednosti kumulativnih varijabilnosti

Neke vrednosti faktora (F1, F2, F3 i F4) su pozitivne, a neke od njih su negativne, grafička prikazivanja bazirana na sadržaju određenih elemenata su predstavljena na Slici 4.47.

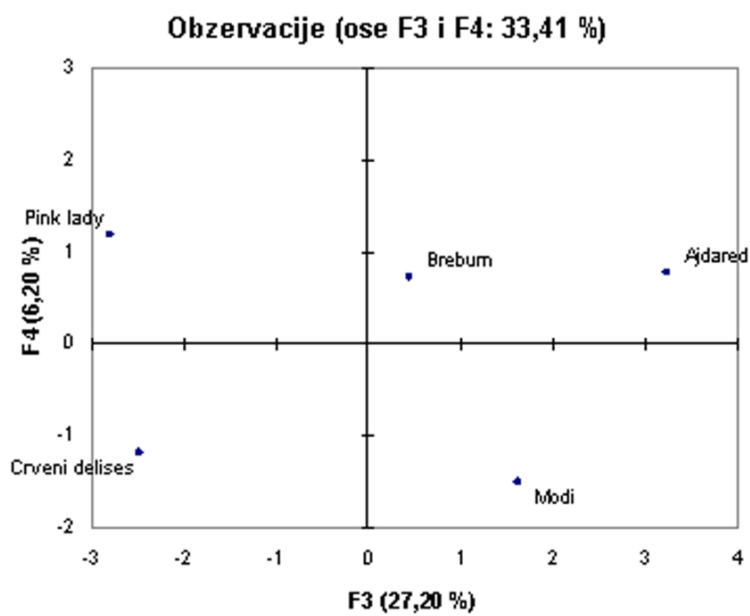
a)



b)



c)



Slika 4.47. Dijagram rasipanja

Sa Slike 4.47.a može se videti da je visok sadržaj aluminijuma prisutan u uzorcima jabuka na desnoj strani grafika a nizak na levoj strani grafika. Takođe, može se zaključiti da je visok sadržaj arsena prisutan u uzorcima jabuka u gornjem delu grafika, a nizak na suprotnoj strani grafika. Slično, Slika 4.47.b pokazuje visok sadržaj arsena na desnoj strani grafika, a nizak na levoj strani grafika. Visok sadržaj bora je prisutan u uzorcima jabuka u gornjem delu grafika, a nizak na suprotnoj strani grafika. Slika 4.47.c potvrđuje informacije o visokom i niskom sadržaju bora, ali takođe pokazuje količinu barijuma; visok sadržaj barijuma je prisutan u uzorcima jabuka u gornjem delu grafika i nizak na suprotnoj strani grafika.

Može se zaključiti da se kore sorti Breburn i Ajdared odlikuju visokim sadržajem Al, B i Ba, dok koru sorte Modi karakteriše nizak sadržaj Al i Ba. U pogledu sadržaja As izdvojile su se kore sorti Pink Lejdi i Crveni Delišes.

Na kraju, urađena je i PCA analiza ekstrakata jabuka na osnovu podataka dobijenih određivanjem njihovog mineralnog sastava (Tabela 4.59 i 4.61).

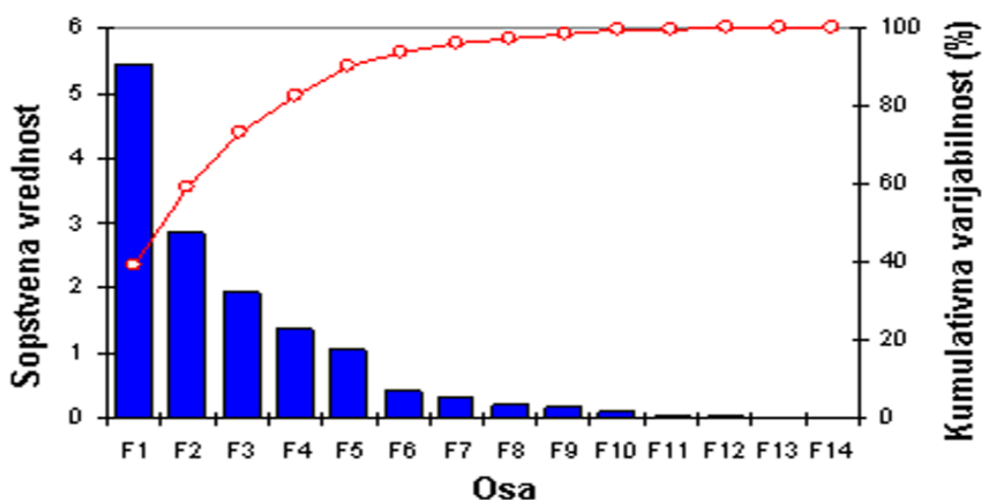
Kora ispitivanih sorti jabuka sadrži od 0,019 do 0,025 mg/kg arsena i od 0,016 do 0,022 mg/kg olova. Međutim, u metanolnim ekstraktima ovi toksični metali nisu detektovani.

Kod mikroelemenata se ne javlja pravilan rast ekstrakcionih koeficijeneta sa povećanjem udela HCl u eksteagensu, kao što je to bio slučaj kod makroelemenata. Kod ekstrakata pojedinih uzoraka (Ajdared, Crveni Delišes i Breburn) nema promene ekstrakcionih koeficijeneta sa promenom udela HCl. Kod ekstrakata sorte Pink Lejdi (E2), sa povećanjem udela HCl od 0,1% na 1% dolazi do porasta ekstrakcionog koeficijenta, dok kod ekstrakata sorte Modi (E4) ovaj porast se uočava kod prelaza sa 0% HCl na 0,1% HCl, dok se sa daljim porastom udela kiseline ekstrakcioni koeficijenti ostaju nepromenjeni.

U matriksu, etanolni ekstrakti uzoraka jabuka sa različitim koncentracijama kiseline su korišćeni kao redovi. Kolone su rezultat analize određenih elemenata uzoraka kora jabuka. Kao rezultat PCA analize, 14 novih varijabli je dobijeno koje su okarakterisane sopstvenim vrednostima. Izvedena statistika sa Pirson korelacionim matriksom na uzorcima kora jabuka bazirana na sadržaju određenih elemenata pokazuje da postoji visoka pozitivna korelacija između količine kalijuma i magnezijuma (0,868), cinka i magnezijuma (0,722), fosfora i mangana (0,755), kalcijuma i mangana (0,733), i aluminijuma i natrijuma (0,760); srednja pozitivna korelacija između količine kalijuma i mangana (0,648), natrijuma i kalijuma

(0,552), cinka i kalijuma (0,523), bora i kalijuma (0,695), kalcijuma i kalijuma (0,493), mangana i kalijuma (0,569), fosfora i magnezijuma (0,468), bora i magnezijuma (0,477), bakra i magnezijuma (0,490), stroncijuma i mangana (0,545), cinka i mangana (0,643), bora i mangana (0,615), bakra i mangana (0,480), bora i natrijuma (0,511), bakra i natrijuma (0,525), stroncijuma i fosfora (0,568), cinka i fosfora (0,612), kalcijuma i fosfora (0,558), bakra i fosfora (0,570), cinka i stroncijuma (0,616), bakra i cinka (0,513), aluminijuma i bakra (0,634), kalcijuma i bora (0,696), bakra i kalcijuma (0,631), srednja negativna korelacija između količine vanadijuma i kalijuma (-0,525), vanadijuma i magnezijuma (-0,600), bakra i nikla (-0,533), i aluminijuma i stroncijuma (-0,528).

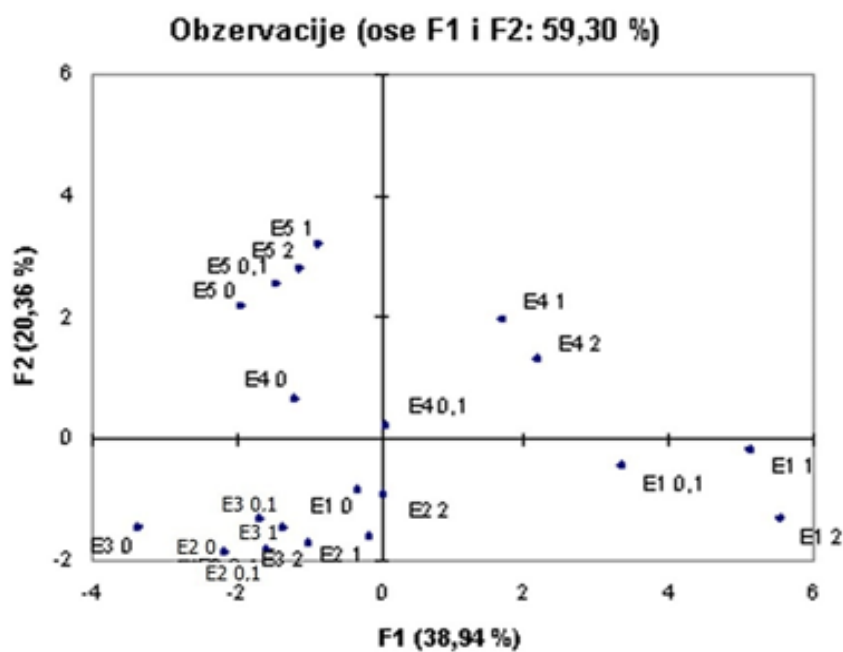
Broj faktora predstavlja ukupan broj varijabli korišćenih u setu podataka. Sopstvene vrednosti prvih pet faktora su više (5,451, 2,851, 1,912, 1,360 i 1,066, redom) u poređenju sa vrednostima ostalih faktora. Tako, pet faktora se moraju koristiti za objašnjavanje dobijenih varijabilnosti (38,94 %, 20,36 %, 13,66 %, 9,72 % i 7,61 %) (Slika 4.48), odnosno pratićmo sadržaje K, Mg, Mn, Na i Ni u metanolnim ekstraktima kore pet crvenih sori jabika.



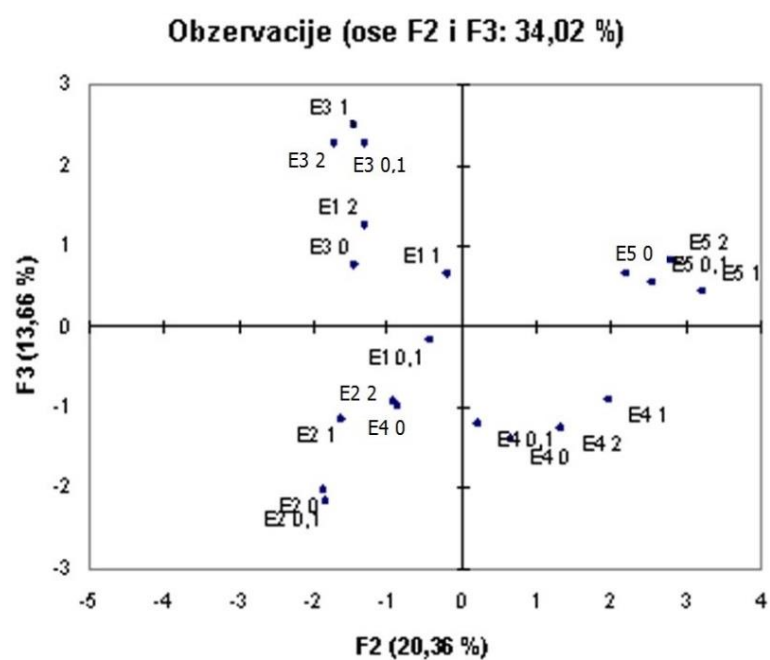
*Slika 4.48. Važnost faktora i vrednosti kumulativnih varijabilnosti*

Neke vrednosti faktora (F1, F2, F3, F4 i F5) su pozitivne, a neke od njih su negativne.

a)

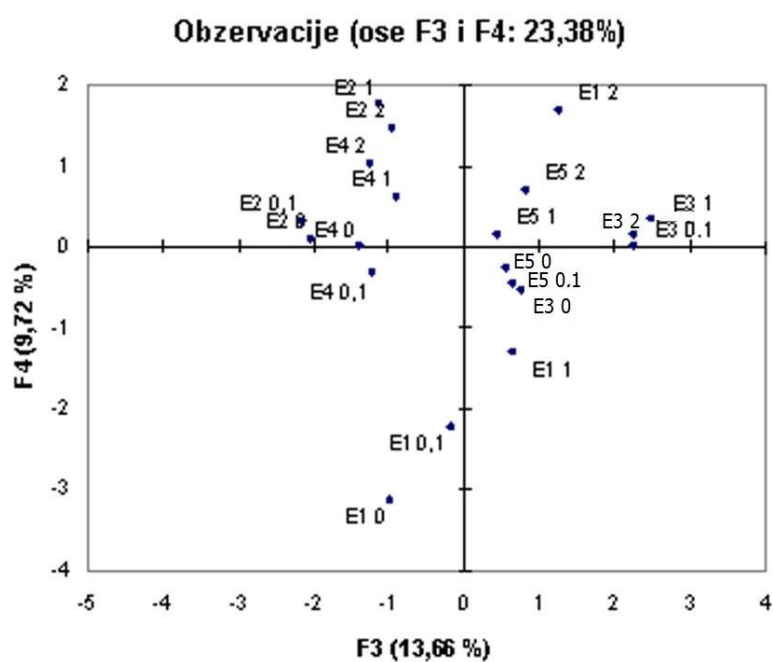


b)

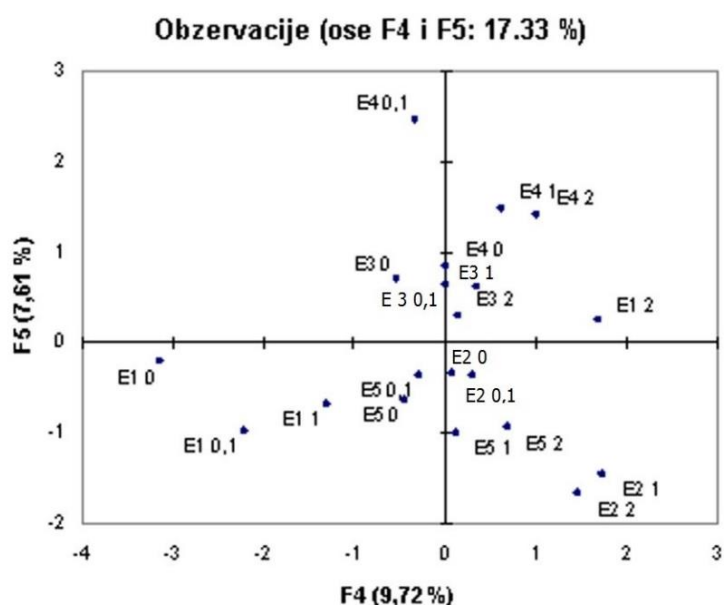




c)



d)



Slika 4.49. Dijagram rasipanja

Sa Slike 4.49.a može se videti da je visok sadržaj kalijuma prisutan u uzorcima jabuka na desnoj strani grafika a nizak na levoj strani grafika. Takođe, može se zaključiti da je visok sadržaj magnezijuma prisutan u uzorcima jabuka u gornjem delu grafika, a nizak na suprotnoj strani grafika. Slično, Slika 4.49.b pokazuje visok sadržaj magnezijuma na desnoj strani grafika, a nizak na levoj strani grafika. Visok sadržaj mangana je prisutan u uzorcima jabuka u gornjem delu grafika, a nizak na suprotnoj strani grafika. Slika 4.49.c potvrđuje informacije o visokom i niskom sadržaju mangana, ali takođe pokazuje količinu natrijuma; visok sadržaj natrijuma je prisutan u uzorcima jabuka u gornjem delu grafika i nizak na suprotnoj strani grafika. Visok sadržaj natrijuma je prisutan u uzorcima jabuka na desnoj strani grafika i nizak na levoj strani grafika (Slika 4.49.d). Visoki sadržaj nikla je prisutan u uzorcima jabuka u gornjem delu grafika i nizak na suprotnoj strani grafika (Slika 4.49.d).

Odnosno, možemo reći da se ekstrakti kore Pink lejdi i Breburna odlikuju visokim sadržajem K, koji se povećava sa povećanjem koncentracije HCl. Ekstrakti kore sorte Modi, za razliku od ostalih, izdvajaju se visokim sadržajem Mg, koji se takođe povećava sa povećanjem koncentracije HCl. Slična situacija je i sa sadržajem Na u ekstraktima kore sorte Crveni delišes i Breburn. Međutim, ovakva zavisnost sadržaja Ni i Mn u ispitivanim ekstraktima nije uočen.

## ***5. Izvod***

U ovom radu je ispitan uticaj rastvarača na sadržaj i sastav fenolnih komponenti ekstrakata kore i pulpe dunja (*Cydonia oblonga* Miller), kore i pulpe sortnih bresaka (*Prunus persica* L.), vinogradarskih bresaka, ploda i kore jabuka (*Malus domestica*) sa područja Jugoistočne Srbije, primenom spekrofotometrijskih metoda određivanja sadržaja ukupnih fenola i flavonoida kao i HPLC-DAD tehnike u cilju identifikacije i kvantifikacije fenolnih komponenti.

U nastavku istraživanja ispitana je antioksidativna aktivnost ekstrakata primenom različitih *in vitro* testova (DPPH, ABTS, FRAP i RP), kao i sastav mineralnih materija primenom ICP-OES metode.

Na osnovu dobijenih rezultata mogu se izvesti sledeći zaključci:

- Najefikasnije ekstrakciono sredstvo za ukupne fenole i flavonoide iz kore i pulpe dunja je 80% aceton, za pulpu sortnih bresaka 80% aceton sa 1% HCl, za koru sortnih bresaka 80% aceton sa 2% HCl, dok je za koru crvenih sorti jabuka najefikasniji metanol sa 2% HCl.
- Poređenjem sadržaja ukupnih fenola i flavonoida u kori i pulpi ispitivanih vrsta voća može se uočiti mnogo veći sadržaj u kori u odnosu na pulpu, pri čemu su kora jabuka (265,45 mg GAE/100 g s.m.) i dunja (165,79 mg GAE/100 g s.m.) bogat izvor prirodnih fenola, odnosno flavonoida (138,40 i 52,17 mg CE/100 g s.m.). Vinogradarske breskve se odlikuju značajnim udelom flavonoida (179,72 mg CE/100 g s.m.) u ukupnom sadržaju polifenola u njima (262,36 mg GAE/100 g s.m.).
- U metanolnim i acetonskim ekstraktima kore i pulpe dunja je identifikovano i kvantitativno određeno šest hidroksicimetnih kiselina: 3-*O*-kafeoilhinska kiselina (3-CQA), 4-*p*-kumaroilhinska kiselina (HC1), 4-*O*-kafeoilhinska kiselina (4-CQA), 5-*O*-kafeoilhinska kiselina (5-CQA), derivat *p*-kumaroilhinske kiseline (HC2) i 3,5-dikafeoilhinska kiselina (3,5-diCQA). Najefikasniji ekstragens je 80% aceton za 3-CQA dok je za derivat *p*-kumaroilhinske kiseline i 3,5-diCQA 80% metanol. Najzastupljenija hidroksicimetna kiselina 5-CQA (hlorogenska kiselina) sa 259,12 – 481,4 mg/kg s.m. za koru i 97,33 – 217,36 mg/kg za pulpu dunja. U ekstraktima kore dunja utvrđeno je prisustvo šest flavonola: kvercetin-3-galaktozid (Q-Ga), kvercetin-3-rutinozid (Q-Ru), kvercetin-3-glukozid (Q-Glu), kemferol-3-rutinozid (K-Ru), kemferol-3-glukozid (K-Glu) i derivat kvercetina koji nastaje reakcijom kvercetin-

glikozida i p-kumarne kiseline (Q-Glu-p-CouA). U pulpi dunja prisutan je samo kvercetin-3-rutinozid. Najveći sadržaji flavonola određeni su u 80% acetonu.

- HPLC analiza acetonskih ekstrakata (sa različitim sadržajem HCl) kore i pulpe sortnih bresaka pokazuje da su iste hidroksicimetne kiseline prisutne u kori i pulpi: 3-O-kafeoilhinska kiselina (3-CQA), 5-O-kafeoilhinska kiselina (5-CQA) i p-kumarna kiselina, pri čemu su najveće vrednosti određene u 80% acetonu sa 1% HCl. Prosečan sadržaj hidroksicimetnih kiselina je znatno veći u kori (198,2 mg/kg s.m.) u odnosu na pulpu (6,45 mg/kg s.m.). U ekstraktima kore sortnih bresaka prisutno je četiri flavonola: kvercetin-3-rutinozid, kvercetin-3-glukozid, kvercetin-3-ramnozid i kemferol-3-rutinozid, dok se njihova koncentracija u 80% acetonu sa 2% HCl kretala od 24,99 do 53,97 mg/kg.
- Rezultati ispitivanja metanolnih ekstrakata ploda pet tipova vinogradarskih bresaka su ukazali na prisustvo tri hidroksicimetne kiseline: (kafena kiselina, p-kumarna kiselina i ferulna kiselina), dva flavonola (kvercetin-3-rutinozid i kvercetin-3-glukozid) i dva antocijana (cijanidin-3-glukozid, cijanidin-3-rutinozid) čiji je sadržaj i kvantitativno određen. Kvantitativno određivanje sadržaja navedenih komponenti je u skladu sa literaturnim podacima.
- Kvantitativnom analizom metanolnih ekstrakata (sa 0%, 0,1%, 1% i 2% HCl) kore crvenih sorti jabuka, utvrdili smo prisustvo: hlorogenske kiseline, p-kumaroil-hinske kiseline, ferulne kiselina, kvercetin-3-galaktozida, kvercetin-3-glukozida, kvercetin-3-ksilozida, kvercetin-3-arabinozida, kvercetin-3-ramnozida, kvercetina, cijanidin-3-galaktozida. Najefikasniji ekstragens za antocijane je metanol sa 0,1% HCl, dok se apsolutni metanol pokazao boljim ekstragensom za hidroksicimetne kiseline, flavonole i flavon-3-ole. Ekstrakt kore jabuke Modi je izuzetno bogat cijanidin-3-galaktozidom (365,42 mg/kg s.m.), epikatehinom (49,15 mg/kg s.m.), hlorogenskom kiselinom (53,27 mg/kg s.m.) i kvercetin-galaktozidom (94,25 mg/kg s.m.).
- Svi ispitivani ekstrakti voća pokazali su jako antioksidativno dejstvo u svim primenjenim *in vitro* testovima (DPPH, ABTS, FRAP i RP), pri čemu su najveće vrednosti dobijene za koru dunja. Postoji vrlo značajan koeficijent korelacije između sadržaja ukupnih fenola, flavonoida, hidroksicimetnih kiselina, flavonola i antioksidativne aktivnosti ekstrakata ispitivanih vrsta voća.

- U uzorcima pripremljenim suvom digestijom ICP-OES metodom određen je sadržaj dvadeset elemenata u kori, pulpi i semenkama dunja, dvadeset elemenata u kori i pulpi sortnih bresaka, četrnaest elemenata u plodu vinogradarskih bresaka, šesnaest elemenata u plodu jabuke, dvadesetjedan element u kori i dvadeset elemenata u semenkama jabuka.
- Dobijeni rezultati ICP-OES određivanja su diskutovani u kontekstu poređenja sa literaturnim podacima dobijenih od strane drugih istraživača na istim tipovima uzoraka; prema dnevnim potrebama organizma ka istim odnosno preporučenim dozama od strane evropskih i svetskih zdravstvenih organizacija; sa aspekta toksičnosti pojedinih metala.
- ICP-OES metodom određen je sadržaj četrnaest elemenata u metanolnim ekstraktima kore crvenih jabuka sa 0%, 0,1%, 1% i 2% HCl, a potom i odgovarajući ekstrakcioni koeficijenti. Kod makroelemenata (Ca, K, Mg, Na i P) uočen je porast ekstrakcionih koeficijenata sa porastom sadržaja HCl u ekstragensu što nije značaj sa mikroelementima (B, Cu, Fe, Mn, Ni, Sr, V, Zn i Al).
- Radi bolje ilustracije rezultata korišćena je korelaciona i PCA analiza.
- Konačno, može se zaključiti da su ispitivane vrste voća: dunja (*Cydonia oblonga* Miller), breskva (*Prunus persica* L.) i jabuka (*Malus domestica*) bogat izvor jedinjenja iz klase fenola. Sve ispitivane vrste voća poseduju antioksidativnu aktivnost, koja se značajno povećava ako se koristi samo kora. Rezultati određivanja mineralnih materija su korisni i u smislu preporuke korišćenja pojedinih vrsta voća kao izvora nutrijenata u svakodnevnoj ljudskoj ishrani.

## ***6. Summary***

In this paper was studied the effect of solvents on the content of phenolic components and composition of peel and pulp extracts of quince (*Cydonia oblonga* Miller), pulp, peel varietal peach and fruit vineyard peaches (*Prunus persica* L.), and fruit and peel of apple (*Malus domestica*) from Southeast Serbia, using spectrophotometric methods for determining the content of total phenolics and flavonoids as well as HPLC-DAD techniques in order to identify and quantify the phenolic components.

Further studies examined the antioxidant activity of the extracts applied various *in vitro* assays (DPPH, ABTS, FRAP and RP), as well as the composition of mineral matter by using ICP-OES method.

Based on obtained results can be derived the following conclusions:

- The most effective extractant for total phenols and flavonoids from peel and pulp of quince is 80% acetone, to the pulp of varietal peaches 80% acetone containing 1% HCl, the peel of varietal peaches 80% acetone with 2% HCl, while to peel of the red apple varieties is efficient methanol with 2% HCl.
- Comparing the content of total phenolics and flavonoids in the peel and pulp studied species can be seen a much higher content in the peel compared to the pulp, where the peel of apple (265.45 mg GAE/100 g fw) and quince (165.79 mg GAE/100 g fw) are rich source of natural phenols or flavonoids (138.40 and 52.17 mg CE/100 g fw). Peach is characterized by a significant proportion of flavonoids (179.72 mg CE/100 g fw) in the total content of polyphenols (262.36 mg GAE/100 g fw).
- In the methanol and acetone extracts of peel and pulp of quince was determined and quantitated six hydroxycinnamic acid: 3-*O*-caffeoylquinic acid (3-CQA), 4-*p*-cumaroylquinic acid (HC1), 4-*O*-caffeoylquinic acid (4-CQA), 5-*O*-caffeoylquinic acid (5-CQA), derivative of *p*-cumaroylquinic acid (HC2), and 3,5-caffeoylquinic acid (3,5-diCQA). The most efficient estragens is 80% acetone for 3-CQA and 80% methanol for derivative of *p*-cumaroylquinic acid 3,5-diCQA. The most common hydroxycinnamic acid is 5-CQA (chlorogenic acid) from 259.12 to 481.4 mg/kg fw for the peel and from 97.33 to 217.36 mg/kg for the pulp of quince. The peel extract of quince revealed the presence of 6 flavonols: quercetin-3-galactoside (Q-Ga), quercetin-3-rutinoside (Q-Ru), quercetin-3-glucoside (Q-Glu), kaempferol-3-rutinoside (K-Ru), kaempferol-3-glucoside (K-Glu), and a derivative formed by



reaction of that of quercetin-glycoside and p-coumaric acid (Q-Glu-p-CouA). The quince pulp is present only quercetin-3-rutinoside. The highest content of flavonols were determined in 80% acetone.

- HPLC analysis of acetone extract (with a different content of HCl), peel and pulp varietal peaches shows that the same hydroxycinnamic acids are present in the pulp and pulp: 3-*O*-caffeoylquinic acid (3-CQA), 5-*O*-caffeoylquinic acid (5-CQA) and p-coumaric acid, with the highest values determined in 80% acetone with 1% HCl. The average amount of the hydroxycinnamic acids in the peel is significantly higher (198.2 mg/kg fw) with respect to the pulp (6.45 mg/kg fw). In the peel extract of varietal peaches is present four flavonols: quercetin-3-rutinoside, quercetin-3-glucoside, quercetin-3-rhamnoside and kaempferol-3-rutinoside, while their concentration in the 80% acetone with 2% HCl, ranging from 24.99 to 53.97 mg/kg.
- Results of the methanol extracts of the fruit of five types of vineyard peaches have indicated the presence of three hydroxycinnamic acids (caffeic acid, p-coumaric acid and ferulic acid), two flavonols (quercetin-3-rutinoside and quercetin-3-glucoside) and two anthocyanins (cyanidin-3-glucoside, cyanidin-3-rutinoside), and whose content is determined quantitatively. Quantitative determination of the mentioned components in accordance with literature data.
- Quantitative analysis of methanol extracts (0%, 0.1%, 1% and 2% HCl) peel red apple varieties showed the presence of chlorogenic acid, p-coumaroylquinic acid, ferulic acid, quercetin-3-galactoside, quercetin-3-glucoside, quercetin-3-xyloside, quercetin-3-arabinoside, quercetin-3-rhamnoside, quercetin, cyanidin-3-galactoside. The most efficient extractant for anthocyanins is methanol with 0.1% HCl, and the absolute methanol is superior extractant for hydroxycinnamic acids, flavonols and flavono-3-ols. Extract peel apples Modi is extremely rich in cyanidin-3-galactoside (365.42 mg/kg fw), epicatechin (49.15 mg/kg fw), chlorogenic acid (53.27 mg/kg fw) and quercetin-galaktoside (94.25 mg/kg fw).
- All analyzed fruit extracts showed strong antioxidant activity in all the performed *in vitro* assays (DPPH, ABTS, FRAP and RP), with the highest values obtained to peel the quince. There is a very significant correlation coefficient between the content of

total phenols, flavonoids, hydroxycinnamic acids, flavonols and antioxidant activity of extracts studied species of fruit.

- In samples prepared by dry digestion ICP-OES method is determined the contents of 20 elements in the peel, pulp and seeds of quince, 20 elements in the peel and pulp of varietal peach, 14 elements in the fruit vineyard peaches, 16 elements in the fruit of apples, 21 element in the peel and 20 elements in apple seeds.
- The results of ICP-OES determinations are discussed in the context of comparison with literature data obtained by other researchers on the same types of samples; according to the daily needs of the organism to the same or recommended doses by the European and international health organizations; in terms of the toxicity of certain metals.
- ICP-OES method is employed for determined the contents of 14 elements in the methanol extracts of the red apple peel with 0%, 0.1%, 1% and 2% HCl, followed by appropriate extraction coefficients. For the macroelements (Ca, K, Mg, Na, and P) is observed increasing extraction coefficients with increasing content of HCl in the extractant which is not to the importance of the microelements (B, Cu, Fe, Mn, Ni, Sr, V, Zn, and Al).
- For better illustration of the results we used correlation analysis and PCA.
- Finally, it can be concluded that the investigated types of fruits: quince (*Cydonia oblonga* Miller), peach (*Prunus persica* L.) and apple (*Malus domestica*) is a rich source of compounds from the class of phenols. All the studied species of fruit possess antioxidant activity, which increases significantly if used only peel. Results determination of mineral substances are useful in terms of recommendations of using certain types of fruits as a source of nutrients in the daily human diet.

## ***7. Literatura***

- Abidi W., Jiménez S., Moreno M.,A., Gogorcena Y., Evaluation of Antioxidant Compounds and Total Sugar Content in a Nectarine [*Prunus persica* (L.) Batsch] Progeny, *International Journal of Molecular Sciences*, 12 (2011) 6919-6935.
- Akpabio U.D., Akpakpan A.E., Enin G.N., Evaluation of Proximate Compositions and Mineral Elements in the Star Apple Peel, Pulp and Seed, *Journal of Basic and Applied Scientific Research*, 2 (2012) 4839-4843.
- Alam M.N., Bristi N.J., Rafiquzzaman M., Review on in vivo and in vitro methods evaluation of antioxidant activity, *Saudi Pharmaceutical Journal*, 21 (2013) 143–152.
- Albu S., Joyce E., Paniwnyk L., Lorimer J.P., Mason T.J., Potential for the use of ultrasound in the extraction of antioxidants from *Rosmarinus officinalis* for the food and pharmaceutical industry, *Ultrasonics Sonochemistry*, 1 (2004) 261–265.
- Al-Farsi M.A., Lee C.Y. Optimization of phenolics and dietary fibre extraction from date seeds. *Food Chemistry*, 108 (2008) 977-985.
- Alonso-Salces R.M., Barranco A., Abad B., Berrueta L.A., Gallo B., Vicente F., Polyphenolic profiles of basque cider apples cultivars and their technological properties, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52 (2004) 2938–52.
- Alonso-Salces R.M., Barranco A., Abad B., Berrueta L.A., Gallo B., Vicente F., Polyphenolic profiles of basque cider apples cultivars and their technological properties, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52 (2004) 2938–2952.
- Allothman M., Bhat R., Karim A.A., Antioxidant capacity and phenolic content of selected tropical fruits from Malaysia, extracted with different solvents, *Food Chemistry*, 115 (2009) 785-788.
- Alshammary S. i Al-Horayess O., Appraisal of Mineral and Heavy Metal Contents in Peach and Grape grown at Some Major Agricultural Companies in Saudi Arabia. *Oriental Journal of Chemistry*, 29 (2013) 1515-1522.
- Amiot M.J., Tacchini M., Aubert S., Nicholas J., Phenolic composition and browning susceptibility of various apple cultivars at maturity, *Journal of Food Science*, 57 (1992) 958–962.

- Anderson T.W., An Introduction to Multivariate Statistical Analysis, 3rd Edn., John Wiley & Sons, New York, USA (2003).
- Andrade P.B., Carvalho A.R.F., Seabra R.M., Ferreira M.A., A previous study of phenolic profiles of quince, pear, and apple purees by HPLC diode array detection for the evaluation of quince puree genuineness, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46 (1998) 968–972.
- Armstrong W.P., 2008. Identification of Major Fruit Types. Life Science Department. San Marcos, CA: Palomar College.
- Awad M.A., De Jager A., Van Westing L.M., Flavonoid and chlorogenic acid levels in apple fruit: Characterization of variation. *Scientia Horticulturae*, 83 (2000) 249–63.
- Ayub Ali M., Inaotombi Devi L., Nayan V., Chanu K.V., Ralte L., Antioxidant Activity of Fruits Available in Aizawl Market of Mizoram, India. *International Journal of Biological & Pharmaceutical Research*, 1 (2010) 76-81.
- Barbosa A.C.L., Pinto M.S., Sarkar D., Ankolekar C., Greene D., Shetty K., influence of varietal and pH variation on antihyperglycemia and antihypertension properties of long-term stored apples using in vitro assay models, *Journal of Food Biochemistry*, 36 (2012) 479–493.
- Basar H., Elemental composition of various peach cultivars, *Scientia Horticulturae*, 107 (2006) 259-263.
- Bellini E., Watkins R., Pomarici E., (1984). Descriptor list for peach (*Prunus Persica*), IBP GR Secretariat, Rome, CEC Secretariat, Brussels.
- Benbrook C.M. (2005): Elevating antioxidant levels in food through organic farming and food processing. An organic center state of science Review [online], [www.organic-center.org](http://www.organic-center.org)
- Bermudez-Soto M., Tomas-Barberan F.A., Evaluation of commercial red fruit juice concentrates as ingredients for antioxidant functional juices. *European Food Research and Technology*, 219 (2004) 133-141.
- Biedrzycka E., Amarowicz R., Diet and health: Apple polyphenols as antioxidants, *Food Reviews International*, 24 (2008) 235–251.

- Bordan D.M., Gergen I., Gogoasa I., Oprea G., Pirvulescu L., Al da L.M., Al da S., Borozan A. B., Harmanescu M., Mathematic model evaluation of heavy metal contamination in vegetables and fruits, *Journal of Food, Agriculture and Enviroment*, 9 (2011) 680-683.
- Borowska E.J., Mazur B., Kopciuch R.G., Buszewski B., Polyphenol, Anthocyanin and Resveratrol Mass Fraction and Antioxidant Properties of Clanberry Cultivars, *Food Technology and Biotechnology*, 47 (2009) 56-61.
- Boyer J., Liu R.H., Apple phytochemicals and their health benefits. *Nutrition Journal*, 3 (2004) 1–15.
- Brand-Williams W., Cuvelier M.E., Berset C., Use of the radical method to evaluate antioxidant activity, *Lebensmittel- Wissenschaft und Technologie*, 28 (1995) 25-30.
- Britton G., Liaaen-Jensen S., Pfander H. (1995), Carotenoids today and challenges for the future. In: Britton, G., S. Liaaen-Jensen, and H. Pfander, Basel: Birkhäuser.
- Bulat Z., Mehanizmi toksičnosti otrova, *Toksikologija sa analitikom*, 2010/11, Beograd.
- Bushway A.A., Hu W., Shupp J.M., Quality characteristics of five disease resistant apple cultivars, *Journal of the American Pomological Society*, 56 (2002) 94–105.
- Cantin C.M., Moreno M.A., Gogorcena Y., Evaluation of the antioxidant capacity, phenolic compounds, and vitamin C content of different peach and nectarine [*Prunus persica* (L.) Batsch] breeding progenies, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57 (2009) 4586-4592.
- Cantin C.M., Tian L., Xiaoqiong Q., Crisosto C.H., Copigmentation Triggers the Development of Skin Burning Disorder on Peach and Nectarina Fruit [*Prunus persica* (L.) Batsch ], *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59 (2011) 2393-2402.
- Cattell R.B., The Scree Test for the Number of Factors, *Multivariate Behavioral Research* 1 (1996) 245-276.
- Čeković Ž., Jedan vek hemije slobodnih radikala 1900 - 2000, *Hemijski pregled* 41 (2000) 4-12.

- Cevallos-Casals D.A., Byrne D., Okie W.R., Cisneros-Zevallos L., Selecting new peach and plum genotypes rich in phenolic compounds and enhanced functional properties, *Food Chemistry*, 96 (2006) 273-280.
- Chang S., Tan K., Francel E.N., Barrett D.M., Low-density lipoprotein antioxidant activity of phenolic compounds and polyphenol oxidase activity in selected Clingstone peach cultivars, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48 (2000) 147-151.
- Chemat F., Tomao V., Viot M. (2008): Ultrasound assisted extraction in food analysis. In: *Handbook of food analysis instruments*, Boca Raton, Florida, USA, Semih Ötles, 85-103.
- Chinnici F., Gaiani A., Natali N., Riponi C., Galassi S., Improved HPLC determination of phenolic compounds in cv. Golden Delicious apples using a monolithic column, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52 (2004) 3-7.
- Chirinos R., Rogez H., Campos D., Pedreschi R., Larondelle Y., Optimization of extraction conditions of antioxidant phenolic compounds from mashua (*Trapaeolum tuberosum* Ruiz and Pavon) tubers, *Separation and Purification Technology*, 55 (2007) 217-225.
- Clifford M.N., Johnston K.L., Knight S., Kuhnevt N., Hierarchical cheme for LC-MS identification of chlorogenic acids, *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 51 (2003) 2900-2911.
- Concalves B., Landbo A.-K., Knudsen D., Silva A. P., Moutinho-Pereira J., Rosa E., Mayer A.S., Effect of ripeness and postharvest storage on the phenolic profiles of cherries (*Prunus avium* L.), *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52 (2004) 523-530.
- Cotelle N., Role of flavonoids in oxidative stress, *Curr. Top. Med. Chem.* 1 (2001), 569-590.
- Cruz L.S., Lima R.Z., de Abreu C.M.P., Corrêa A.D., Pinto L.M.A., Physical and chemical characterization of fractions of fruit atemoya Gefner, *Ciencia Rural*, 43 (2013) 2280-2284.
- Cunningham J.H., Milligan G., Trevisan L., (2001) Minerals in Australian fruits and vegetables - a comparison of levels between the 1980s and 2000, *Food Standards Australia, New Zealand*.

- D'Abrosca B., Pacifico S., Cefarelli G., Mastellone C., Fiorentino A., 'Limocella' apple, an Italian apple cultivar: Phenolic and flavonoid contents and antioxidant activity, *Food Chemistry*, 104 (2007) 1333–1337.
- Dangles O., Chemat F., Ultrasound-assisted extraction of polyphenols (flavanone glycosides) from orange (*Citrus sinensis* L.) peel, *Food Chemistry* 119, (2010) 851–858.
- Delian E., Petre V., Burzo I., Badulescu L., Hoza D., Total phenols and nutrients composition aspects of some apple cultivars and new studied breeding creations lines grown in Vionesti area-Romania, *Romanian Biotechnological Letters*, 16 (2011) 6722-6729.
- Dragović-Uzelac V., Bursać-Kovačević D., Levaj B., Pedlišić S., Mezak M., Tomljenović A., Polyphenols and Antioxidant Capacity in Fruits and Vegetables Common in the Croatian Diet, *Agriculturae Conspectus Scientificus*, 74 (2009) 175-194.
- Drogoudi P.D., Michailidis Z., Pantelidis G., Peel and flesh antioxidant content and harvest quality characteristics of seven apple cultivars, *Scientia Horticulturae*, 115 (2008) 149–153.
- Drogoudi P.D., Tsipouridis C.G., Effects of cultivar and rootstock on the antioxidant content and physical characters of clingstone peaches, *Scientia Horticulturae* 115 (2007) 34–39.
- Dubick M.A., Keen C.L., Influence of nicotine on tissue trace element concentrations and tissue antioxidant defense, *Biological Trace Element Research*, 31 (1991) 97-109.
- Duffus J.H., "Heavy metals" - a meaningless term? (IUPAC Technical Report), *Pure and Applied Chemistry*, 74 (2002) 793-807.
- Duh, P.D., Tu, Y.Y., Yen, G.C., Antioxidant activity of water extract of Harnng Jyur (*Chrysanthemum morifolium* Ramat). *LWT – Food Science and Technology*, 32 (1999) 269-277.
- Eastwood M.A., Interaction of dietary antioxidants in vivo: how fruit and vegetables prevent disease, *Quarterly journal of medicine*, 92 (1999) 527–530.
- Ebringerova A., Hromadkova Z., The effect of ultrasound on the structure and properties of the watersoluble corn hull heteroxylyan, *Ultrasonics Sonochemistry*, 4 (1997) 305-309.



- Elbagermi M.A., Edwards H.G.M., Alajtal A.I. International Scholarly Research Network. ISRN Analytical Chemistry 1- 5 (2012).
- Escarpa A., Gonzalez M.C., Approach to the content of total extractable phenolic compounds from different food samples by comparison of chromatographic and spectrophotometric methods, *Analytica Chimica Acta*, 427 (2001) 119–127.
- EU Directives (Commission of the European Communities; Commission Regulation (EC) No.221/2002 for the 6 February 2002)
- Fatiha B., Khodir M., Farid D., Tiziri R., Karima B., Sonia O., Mohamed C., Optimisation Of Solvent Extraction Of Antioxidants (Phenolic Compounds) From Algerian Mint (*Mentha spicata* L.), *Pharmacognosy Communications*, 2 (2012) 72-86.
- Fattouch S, Caboni P, Coroneo V, Tuberoso C.I., Angioni A., Dessi S., Marzouki N., Cabras P., Antimicrobial activity of Tunisian quince (*Cydonia oblonga* Miller) pulp and peel polyphenolic extracts, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55 (2007) 963-969.
- Ferreira Martins S.L., Bioactive compounds recovery from *Larrea tridentata* leaves and their potential benefits for human health, Universidade do Minho, Maio de 2012.
- Fiorentino A., D'Abrosca B., Pacifico S., Mastellone C., Piscopo V., Caputo R., Monaco P., Isolation and structure elucidation of antioxidant polyphenols from quince (*Cydonia vulgaris*) peels, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56 (2008) 2660–2667.
- Fulker M.J., The role of fruit in the diet, *Journal of Environmental Radioactivity*, 52 (2001) 147–57.
- Gong Y., Liu X., Xu W.H., Yuan F., Gao Y.X., Investigation into the antioxidant activity and chemical composition of alcoholic extracts from defatted marigold (*Tagetes erecta* L.) residue, *Fitoterapia*, 83 (2012) 481-489.
- Gorinstein S, Zachwieja Z, Folta M., Barton H., Piotrowicz J., Zemser M., Weisz M., Trakhtenberg S., Martín-Belloso O., Comparative Contents of Dietary Fiber, Total Phenolics, and Minerals in Persimmons and Apples, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49 (2001) 952–957.

- Gorinstein S., Zachwieja Z., Folta M., Barton H., Piotrowicz J., Zemser M., Weisz M., Trakhtenberg S., Martín-Belloso O., Comparative contents of dietary fiber, total phenolics, and minerals in persimmons and apples, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49 (2001) 952–57.
- Guo C., Yang J., Wei J., Li Y., Xu j., Jiang Y., Antioxidant activities of peel, pulp and seed fractions of common fruits as determined by FRAP assay, *Nutrition Research*, 23 (2003) 1719-1726.
- Guyot S., Marnet N., Laraba D., Sanoner P., Drilleau, J.F. 1998. Reversed-phase HPLC following thiolysis for quantitative estimation and characterization of the four main classes of phenolic compounds in different tissue zones of a french cider apple variety (*Malus domestica* var. Kermerrien). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46 (1998) 1698–1705.
- Halliwell B., Reactive oxygen species in living systems: source, biochemistry, and role in human disease. *American journal of Medicine*, 91 (1991)14S-22S.
- Hamauzu Y., Yasui H., Inno T, Kume C., Omanyuda M., Phenolic Profile Antioxidant Property, and Anti-influenza Viral Activity of Chinese Quince (*Pseudocydonia sinensis* Schneid.), Quince (*Cydonia oblonga* Mill.), and Apple (*Malus domestica* Mill.) fruits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53 (2005) 928-934.
- Hamurcu M., Özcan M.M., Dursun N., Gezgin S., Mineral and heavy metal levels of some fruits grown at the roadsides, *Food and Chemical Toxicology*, 48 (2010) 1767-1770.
- Hegedus A., Balogh E., Engel R., Sipos B.Z., Papp J., Blazovics A., Stefanovits-Banyai E., Comparative Nutrient Element and Antioxidant Characterization of Berry Fruit Species and Cultivars Grown in Hungary, *Horticultural Science*, 43 (2008) 1711-1715.
- Hegheduş-Mîndru R.C., Hegheduş-Mîndru G., Negrea P., Şumălan R., Negrea A., Ştef D., The monitoring of mineral elements content in fruit purchased in supermarkets and food markets in Timisoara, Romania, *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*, 21 (2014) 98-105.

- Hemwimon S., Pavasant P. i Shotipruk, A. Microwave-assisted extraction of antioxidative anthraquinones from roots of *Morinda citrifolia*. *Separation and Purification Technology*, 54 (2007) 44-50.
- Henríquez C., Almonacid S., Chiffelle I., Valenzuela T., Araya M., Cabezas L., Simpson R., Speisky H., Determination of Antioxidant Capacity, Total Phenolic Content and Mineral Composition of Different Fruit Tissue of Five Apple Cultivars Grown in Chile, *Chilean Journal of Agricultural Research*, 70 (2010) 523-536.
- Hertog M.G.L., Feskens E.J.M., Hollman P.C.H., Katan M.B., Kromhout D., Dietary antioxidant flavonoids and risk of coronary heart disease: The Zutphen elderly study, *Lancet* 342 (1993) 1007–1011.
- Hertog M.G.L., Hollman P.C.H., Katan M.B., Content of potentially anticarcinogenic flavonoids of 28 vegetables and 9 fruits commonly consumed in the Netherlands, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 41 (1993) 2379-2383.
- Hismath I., Wan Aida W.M., Ho C.W., Optimization of extraction conditions for phenolic compounds from neem (*Azadirachta indica*) leaves, *International Food Research Journal*, 18 (2011) 931-939.
- Hollman P.C., Katan M.B., Health effects and bioavailability of dietary flavonols, *Free Radical Research* 31 (1999) S75–S80.
- Horel J.D., A rotated principal component analysis of the interannual variability of the Northern Hemisphere 500 mb height field, *Monthly Weather Review* 109 (1981) 2080-2092.
- Horel J.D., Complex principal component analysis: Theory and examples, *Journal of climate and Applied Meteorology*, 23 (1984), 1660-1673.
- Imeh U., Khochar S., Distribution of conjugated and free phenols in fruits: Antioxidant activity and cultivar variations, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50 (2002) 6301-6306.
- Imeh U., Khokhar S., Distribution of Conjugated and Free Phenols in Fruits: Antioxidant Activity and Cultivar Variations, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50 (2002) 6301–6306.

Infante R., Contador L., Rubio P., Aros D., Peña-Neira A., Postharvest sensory and phenolic characterization of 'Elegant Lady' and 'Carson' peaches, *Chilean Journal of Agricultural Research*, 71 (2011) 445-451.

Infante R., Contador L., Rubio P., Aros D., Pena-Nera A., Postharvest sensory and phenolic characterization of 'Elegant Lady' and 'Carson' peaches, *Chilean Journal of Agricultural Research*, 7 (2011) 445-451.

Institute of Medicine, 2001

Institute of medicine, Dietary reference intakes for vitamin A, vitamin K, arsenic, boron, chromium, copper, iodine, manganese, molybdenum, nickel, silicon, vanadium and zinc, National Academy of Science, 2001 ([www.nap.edu](http://www.nap.edu)).

Ishikura N., A survey of anthocyanins in some angiosperms, *Botanical Magazine* 88 (1975) 41-45.

Jovanović J., (2012), Doktorska disertacija: Praćenje efekata hronične intoksikacije teškim metalima (Cd, Pb, Cu) i protektivne uloge suplemenata S-donor liganada preko aktivnosti endonukleaza i sekundarnog produkta lipidne peroksidacije, Prirodno-matematički fakultet, Univerzitet u Nišu.

Jovanović M. (2003). Praktikum iz farmaceutske tehnologije sa biofarmacijom I deo. Prvo izdanje. Zemun.

Kalinovic J.V., Serbula S.M., Kalinovic T.S., Ilic A.A., 16th International Research/Expert Conference ,”Trends in the Development of Machinery and Associated Technology” TMT 2012, Dubai, UAE, 10-12 September 2012

Kamran Khan M., Abert-Vian M., Fabiano-Tixier, Dangles O., Chemat F., Ultrasound-assisted extraction of polyphenols (flavanone glycosides) from orange (*Citrus sinensis* L.) peel, *Food Chemistry*, 119 (2010) 851-858.

Karabegović I., (2010), Kinetika mikrotalasne ekstrakcije i karakterizacija bioaktivnih komponenti iz lovor višnje (*Prunus Laurocerasus* L.), doktorska disertacija, Tehnološki fakultet u Leskovcu, Univerzitet u Nišu

- Karadeniz F., Burdurlu H.S., Koca N., Soyer Y., Antioxidant Activity of Selected Fruits and Vegetables Grown in Turkey, *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 29 (2005) 297-303.
- Karaman S., Tutem E., Baskanb K.S., Apakb R., Comparison of antioxidant capacity and phenolic composition of peel and flesh of some apple varieties, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 93 (2013) 867–875.
- Karaman Ş., Tütem E., Sözgen B.K., Apak R. 2010. Comparison of total antioxidant capacity and phenolic composition of some apple juices with combined HPLC–CUPRAC assay, *Food Chemistry*, 120 (2010)1201–1209.
- Katalinić V., Močina S.S., Sktroza D., Generalić I., Polyphenolic profile antioxidant properties and antimicrobial activity of grape skin extract of 14 *Vitis vinifera* varieties grown in Dalmatia (Croatia), *Food Chemistry* 119 (2010) 715-723.
- Kaur C., Kapoor H.C., Antioxidants in fruits and vegetables-the millennium's health. *International Journal of Food Science and Technology*, 36 (2001) 703-725.
- Kaya, A., Aydın, O., Demirtas, C., and Akgün, M. 2007. An experimental study on the drying kinetics of quince, *Desalination*, 212 (2007) 328–43.
- Khanizadeh S., Tsao R., Rekika D., Yang R., De Ell J., Phenolic composition and antioxidant activity of selected apple genotypes, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 5 (2007) 61–66.
- Khouzama R.B., Pohl P., Lobinski R., Bioaccessibility of essential elements from white cheese, bread, fruit and vegetables, *Talanta* 86 (2011) 425–428.
- Kranl K., Schlesier K., Bitsch R., Hermann H., Rohe M., Bohm V., Comparing antioxidative food additives and secondary plant products – use of different assays, *Food Chemistry*, 93 (2005) 171–175.
- Lata B., Przeradzka M., Kowska M.B., Great Differences in Antioxidant Properties Exist between 56 Apple Cultivars and Vegetation Seasons, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53 (2005) 8970-8978.

- Lea A.G.H (1995) 'Cidermaking' in *Fermented Beverage Production* (1st edition) pp 66–96. Lea AGH and Piggott JR (eds). Blackie, London (2nd edition publ Kluwer Academic, NY, 2003)
- Lee K.W., Kim Y.J., Kim D.O., Lee C.Y., Major phenolics in apple and their contribution to the total antioxidant capacity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51 (2003) 6516–6520.
- Lee K.W., Kim Y.J., Kim D.O., Lee H.J., Lee Ch. Y., Major phenolics in apple and their contribution to the total antioxidant capacity, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51 (2003) 6516–20.
- Leontowicz M., Gorinstein S., Leontowicz H., R. Krzeminski R., Lojek A., Katrich E., Číž M., Martin-Belloso O., Soliva-Fortuny R., Haruenkit R., Trakhtenberg S., Apple and Pear Peel and Pulp and Their Influence on Plasma Lipids and Antioxidant Potentials in Rats Fed Cholesterol-Containing Diets, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51 (2003) 5780-5785.
- Lepojević Ž. (2000). *Praktikum hemije i tehnologije farmaceutskih proizvoda*. Novi Sad: Tehnološki fakultet
- Li L., Li X, Wang A., Jiang Y., Ban Z., Effect of heat treatment on physiochemical, color, antioxidant and microstructural characteristics of apples during storage, *International Journal of Food Science and Technology* 48, (2013) 727–734.
- Lim Y.Y., Quah E.P.L., Antioxidant properties of different cultivars of *Portulaca oleracea*, *Food Chemistry*, 103 (2007) 734-40.
- Lotito S. B., Frei B., Relevance of apple polyphenols as antioxidants in human plasma: Contrasting in vitro and in vivo effects. *Free Radical Biology & Medicine*, 36 (2004) 201–211.
- Lough W.J., Wainer I.W., *High Performance Liquid Chromatography, Fundamental principles and practice*, 1995.
- Macheix J.J., Fleuriet A., Billot J. (1990). *Fruit phenolics*. CRC Press, Boca Raton, Florida USA

- Magalhães A.S., Silva B.M., Pereira J.A., Andrade P.B., Valentão P., Carvalho M., Protective effect of quince (*Cydonia oblonga* Miller) fruit against oxidative hemolysis of human erythrocytes, *Food and Chemical Toxicology*, 47 (2009) 1372-1377.
- Majkić N., *Medicinska biohemija*, 2006, Beograd.
- Mamani-Matsuda M., Kauss T., Al-Kharrat A., Rambert J., Fawaz F., Thiolat D., Moynet D., Coves S., Malvy D., Mossalayi M.D., Therapeutic and preventive properties of quercetin in experimental arthritis correlate with decreased macrophage inflammatory mediators, *Biochemical Pharmacology*, 72 (2006) 1304–1310.
- Manach C., Donovan J.L., Pharmacokinetics and metabolism of dietary flavonoids in humans, *Free Radical Research*, 38 (2004) 771–85.
- Mane C., Souquet J.M., Olle D., Verries C., Veran F., Mazerolles G., Cheynier V., Fulcrand H., Optimization of simultaneous flavanol, phenolic acid, and anthocyanin extraction from grapes using and experimental design: application to the characterization of champagne grape varieties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55 (2007) 7224-7233.
- Manning T.J., Grow W.R., *Inductively Coupled Plasma- Atomic Emission Spectrometry*, 1997, Journals Springer-Verlag New York.
- Manzoor M., Anwar F., Mahmood Z., Rashid U., Ashraf M., Variation in Minerals, Phenolics and Antioxidant Activity of Peel and Pulp of Different Varieties of Peach (*Prunus persica* L.) Fruit from Pakistan, *Molecules* 17 (2012) 6491-6506.
- Matei N., Popescu A., Munteanu M., Radu G.L., The assessment of Cd, Zn, Pb, Cu and vitamin C in peaches, *Scientific Bulletin-University Politehnica of Bucharest, Series B*, 75 (2013) 73-80.
- Mattila P., Hellstrom J., Torronen R., Phenolic acids in berries, fruits, and beverages, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54 (2006) 7193-7199.
- Mayer A.-M., Historical changes in the mineral content of fruits and vegetables, *British Food Journal*, 99 (1997) 207–211.
- Meskin M.S., Bidlack W.R., Davies A.J., Lewis D.S., Randolph R.K., 2003. *Phytochemicals: Mechanisms of Action*. Boca Raton, FL: CRC Press.

- Milić B., Đilas S., Čanadanović-Brunet J., Sakač M., Biljni polifenoli, Univerzitet u Novom Sadu, 2000.
- Miller J.N., Miller J.C., Statistics and Chemometrics for Analytical Chemistry, Prentice Hall, 2005.
- Milovanović G., Hromatografske metode odvajanja, PMF Univerziteta u Beogradu i Jugoslovenski zavod za produktivnost rada i informacione sisteme, Beograd, 1985.
- Mišan, A. (2009): Antioksidantna svojstva lekovitog bilja u hrani. Doktorska disertacija. Univerzitet u Novom Sadu, Prirodno-matematički fakultet, Novi Sad.
- Mišović J., Uvod u hromatografiju, Univerzitet u Beogradu, Tehnološko-metalurški fakultet, 1981.
- Mitić S.S., Obradović M.V, Mitić M.N., Kostić D.A., Pavlović A.N., Tošić S.B., Stojković M.D. Elemental Composition of Various Sour Cherry and Table Grape Cultivars Using Coupled Plasma Atomic Emission spectrometry Method (ICP-OES), Food Analytical Methods, 5 (2012) 279-286.
- Mohdaly A.A., Sarhan M.A., Smetanska I., Mahmoud A., 2010. Antioxidant properties of various solvent extracts of potato peel, sugar beet pulp and sesame cake, Journal of the Science of Food and Agriculture, 90 (2010) 218-226.
- Montaser A., Golightly D.W., Inductively Coupled Plasmas in Analytical Atomic Spectrometry; 1988, VCH Publishers: New York.
- Montevecchi G., Simone G.V., Masino F., Bignami C., Antonelli A., Physical and chemical characterization of Pescabivona, a Sicilian white flesh peach cultivar [*Prunus persica* (L.) Batsch ], Food Research International, 45 (2012) 123-131.
- Nestorović Živković J. (2013), Antioksidativno, antimikrobno i alelopatsko dejstvo tri endemične vrste roda *Nepeta* (*Lamiaceae*), doktorska disertacija, Univerzitet u Beogradu, Biološki fakultet, Beograd.
- Nikolić D., Rakonjac V., Fotirić M., Selekcija tipova vinogradarske breskve za stonu potrošnju i preradu, Voćarstvo, 39 (2005) 161-169.



- Nour V., Trandafir I., Ionica M.E., Compositional Characteristics of Fruits of several Apple (*Malus domestica* Borkh.) Cultivars, *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj*, 38 (2010) 228-233.
- Okoye C.O.B., Trace metal concentrations in Nigerian fruits and vegetables, *International Journal of Environmental Studies*, 58 (2001) 501–509.
- Oliveira A., Pintado M., Domingos P., Almeida F., Phytochemical composition and antioxidant activity of peach as affected by pasteurization and storage duration, *LWT - Food Science and Technology*, 49 (2012) 202-207
- Oliveira A.P., Pereira J.A., Andrade P.B., Valentão P., Seabra R.M., Silva B.M., Phenolic profile of *Cydonia oblonga* Miller leaf, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55 (2007) 7926–30.
- Omaye S.T., Bidlack W.R., Meskin M.S., Topham D.K.W., 2000. *Phytochemicals as Bioactive Agents*. Lancaster, PA: Technomic Pub.
- Orazem P., Stamper F., Hudina M., Fruit quality of Redhaven and Royal Glory peach cultivars on seven different rootstocks, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59 (2011) 9394-9401.
- Oszmianski J., Lee, C.Y. 1990. Enzymatic oxidative reaction of catechin and chlorogenic acid in a model system, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 38 (1990) 1202–1204.
- Oszmianski J., Wojdylo A., Polyphenol content and antioxidative activity in apple purees with rhubarb juice supplement, *International Journal of Food Science and Technology*, 43 (2008) 501–509.
- Oyaizu M., Studies on product of browning reaction prepared from glucose amine. *Japanese Journal of Nutrition*, 44 (1986) 307-315.
- Oyaizu M., Studies on products of browning reaction: antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine, *Japan Journal of Nutrition*, 44 (1986) 307–315.

- Özcan M.M., Harmankaya M., Gezgin S., Mineral and heavy content of the outer and inner tissues of commonly used fruits, *Environmental Monitoring and Assessment*, 184 (2012) 313-320.
- Ozgen M., Resse R.N., Tulio A.Z.J., Scheerens J.C., Miller A.R., Modified 2,2-azino-bis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid (ABTS) method measure antioxidant capacity of selected small fruits and comparison to ferric reducing antioxidant power (FRAP) and 2,2'-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) methods, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54 (2006) 1151-1157.
- Ozturk I., Ercisli S., Kalkan F., Demir B., Some chemical and physico-mechanical properties of pear cultivars, *African Journal of Biotechnology*, 8 (2009) 687-693.
- Parveen Z., Khuhro M.I., Rafiq N, *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, Market Basket Survey for Lead, Cadmium, Copper, Chromium, Nickel, and Zinc in Fruits and Vegetables, 71 (2003) 1260-1264.
- Peach and Grape Grown at Some Major Agricultural Companies in Saudi Arabia, *Oriental Journal of Chemistry*, 29 (2013) 1515-1522.
- Pekić B., Miljković D. (1980). *Hemija i tehnologija kardi toničnih glikozida*. Tehnološki fakultet, Novi Sad.
- Pharmacopoea Jugoslavica editio quarta, (Ph. Jug. IV). Savezni zavod za zaštitu zdravlja. Beograd. 1984.
- Popescu V., Soceanu A., Dobrinas S., Birghila S., Magearu V., Physico-chemical and analytical characterization of some extracts, macerates and fresh fruits from *Rosaceae* family, *Scientific study & research*, 7 (2006) 779-784.
- Radojević M., Bashkin V., *Practical Environmental Analysis*, The Royal Society of Chemistry, Cambridge, UK, 1999.
- Radwan M.A., Salama A.K., Market basket survey for some heavy metals in Egyptian fruits and vegetables, *Food and Chemical Toxicology*, 44 (2006) 1273-1278.
- Reig G., Iglesias I., Gatius F., Alegre S., Antioxidant capacity, quality, and anthocyanin and nutrient content of several peach cultivars [*Prunus persica* (L.) Batsch] grown in Spain, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61 (2013) 6344-6357.

- Reinders R.D., Biesterveld S., Bijker P.G., Survival of *Escherichia coli* O157:H7 ATCC 43895 in a model apple juice medium with different concentrations of praline and caffeic acid, *Applied and Environmental Microbiology*, 67 (2001) 2863–6.
- Remorini D., Tavarini S., Degl’Innocenti E., Loreti F., Massai R., Guidi L., Effect of rootstocks and harvesting time on the nutritional quality of peel and flesh of peach fruit, *Food Chemistry*, 110 (2008) 361-367.
- Rice-Evans C., Miller N.J., Paganga G., Antioxidant properties of phenolic compounds, *Trends in plant science*, 2 (1997) 152-159.
- Rieger M., Basra A., 2007. *Introduction to Fruit Crops*. Boca Raton, FL: CRC Press.
- Robbins R.J., Phenolic acids in foods: An overview of analytical methodology, *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 51 (2003) 2866-2887.
- Rop O., Balík J., Rezníček V., Juríková T., Škardová P., Salaš P., Sochor J., J. Mlček J., Kramářová D., Chemical Characteristics of Fruits of Some Selected Quince (*Cydonia oblonga* Mill.) Cultivars, *Czech Journal of Food Sciences*, 29 (2011) 65–73.
- Rop O., Jurikova T., Sochor J., Mlcek J., Kramarova D., Antioxidant capacity, scavenging radical activity and selected chemical composition of native apple cultivars from central Europe, *Journal of Food Quality*, 34 (2011) 187–194.
- Rotelli A.E., Guardia T., Juárez A.O., De la Rocha N.E., Pelzer L.E., Comparative study of flavonoids in experimental models of inflammation, *Pharmacological Research*, 48 (2003) 601-606.
- Rotelli, A.E., Guardia, T., Juárez, A.O., De la Rocha N.E., Pelzer, L.E., Comparative study of flavonoids in experimental models of inflammation, *Pharmacological Research*, 48 (2003) 601-606.
- Salunkhe D.K., Desai B.B., 1984. *Postharvest Biotechnology of Fruits*, 168. Boca Raton, FL: CRC Press.
- Sanoner P., Guyot S., Marnet N., Molle D., Drilleau J.F., Polyphenol profiles of French cider apple varieties (*Malus domestica* sp.), *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47 (1998) 4847–53.

- Sarkadi B.,I., Study upon the impact of chemical thinning with ethephon on the quality of two peach varieties cultivated in the Western part of Romania, *International Research Journal of Agricultural Science and Soil Science*, 2 (2012) 413-420.
- Scherz H., Senser F., (eds). 1994. Food composition and nutrition tables 1989/90. Medpharm, GmbH Scientific Publishing, Stuttgart.
- Scordino M., Sabotano L., Muratole A., Belligno A., Gagliano G., Phenolic characterization of Sicilian yellow flesh peach (*Prunus persica* L.) cultivars of different ripening stages, *Journal of Food Quality*, 35 (2012) 255-262.
- Scordino M., Sabotano L., Muratole A., Belligno A., Gagliano G., Phenolic characterization of Sicilian yellow flesh peach (*Prunus persica* L.) cultivars of different ripening stages, *Journal of Food Quality*, 35 (2012) 255-262.
- Šeatović S., Istorijat antioksidanasa, *Hemijski pregled* 46 (2005) 109-111.
- Shi H., Noguchi N., Niki E., Introducing naturale antioxidants. U *Antioxidants in food*. J. Pokorny, N. Yanishlieva, M. Gordon (ur.), Woodhead Publishing Ltd, (2001) 147-158.
- Sies H, *Oxidative stressII*, Ac.Press, London 1991.
- Silva B.M., Andrade P.B., Seabra R.M., Oliveira M.B., Ferreira M.A., Ferreres F., Composition of quince (*Cydonia oblonga* Miller) seeds: Phenolics, organic acids and free amino acids, *Natural Products Research*, 19 (2005) 275–81.
- Silva B.M., Andrade P.B., Valenta P.O., Ferreres F., Seabra R.M., Ferreira M.A.2004. Quince (*Cydonia oblonga* Miller) Fruit (Pulp, Peel, and Seed) and Jam: Antioxidant Activity, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52 (2004) 4705-4712.
- Silva B.M., Valentão P., Seabra R.M., Andrade P.B. 2008. Quince (*Cydonia oblonga* Miller): An interesting dietary source of bioactive compounds. In *Food Chemistry Research Developments*, ed. K. N. Papadopoulos, 243–66. New York: Nova Science Publishers.
- Silva, B. M., P. B. Andrade, F. Ferreres, A. L. Dominiques, R. M. Seabra, M. A. Ferreira, A Phenolic profile of quince fruit (*Cydonia oblonga* Miller) (pulp and peel). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50 (2002) 4615-4618.

- Singleton V.L., Rossi J., Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagents, *American Journal of Enology and Viticulture* 16 (1965) 144-158.
- Skupien K., Oszmainski J., Comparison of six cultivars of strawberries (*Fragaria x ananassa* Duch.) grown in northwest Poland. *European Food Research and Technology*, 219 (2004) 66-70.
- Spigno G., Tramelli L., De Faveri D.M. 2007. Effects of extraction time, temperature and solvent on concentration and antioxidant activity of grape marc phenolics. *Journal of Food Engineering*, 81 (2007) 200 – 208.
- Springett B. (2001): Effect of agronomic factors on grape quality for wine production. In: *Raw Ingredient Quality in Processed Foods*, Springett, M.B. (Ed.), Maryland: Aspen Publishers, 125–146.
- Stalović B. i Đorđević S. Optička emisiona spektroskopija sa induktivno kuplovanom plazmom (ICP/OES) kao analitička tehnika za detekciju teških metala u biološkom materijalu, *Medical Data*, 5 (2013) 53-57.
- Stratil P., Klejdus B., Kuban V., Determination of phenolic compounds and their antioxidant activity in fruits and cereals, *Talanta* 71 (2006) 1741-1751.
- Sun J., Chu Y.F., Wu X. Liu, R.H., Antioxidant and antiproliferative activities of common fruits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50 (2002) 7449–7454.
- Szymczycha-Madeja A., Welna M., Pohl P., Elemental analysis of teas and their infusions by spectrometric methods. *Trends in Analytical Chemistry*, 35 (2012) 165-181.
- Tabart J., Kevers C., Sipel A., Pincemail J., Defraigne J.O., Dommes, J., Optimisation of extraction of phenolics and antioxidants from black currant leaves and buds and of stability during storage. *Food Chemistry*, 105 (2007) 1268-1275.
- Tan M.C., Tan C.P., Ho C.W. Effects of extraction solvent system, time and temperature on total phenolic content of henna (*Lawsonia inermis*) stems, *International Food Research Journal*, 20 (2013) 3117-3123.

- Teng H., Jo I.H., Choi Y.H., Optimization of ultrasonic-assisted extraction of phenolic compounds from Chinese quince (*Chaenomeles sinensis*) by response surface, *Journal of the Korean Society for Applied Biological Chemistry*, 53 (2010) 618-625.
- Thomas M.J., The role of free radicals and antioxidants: how do we know that they are working? *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 35 (1995) 21-39.
- Todorović M., Optičke metode instrumentalne analize, Hemijski fakultet, Beograd, 1997.
- Tokahoglu S., Gürbüz F., Selective determination of copper and iron in various food samples by the solid phase extraction, *Food Chemistry*, 123 (2010) 183–187.
- Tokaliglu S., Gürbüz F., Selective determination of copper and iron in various food samples by the solid phase extraction, *Food Chemistry*, 123 (2010) 183-187.
- Tomas-Barberan F.A., Gill M.I., Cremin P., Waterhouse L.A., Hess Pierce B., Kader A.A., HCLP-DAD-ESIM analysis of phenolic compounds in nectarines, peaches, and plums, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49 (2001) 4748-4760.
- Tsao R., Yang R., Young J.C., Zhu H., 2003. Polyphenolic profiles in eight apple cultivars using High Performance Liquid Chromatography (HPLC), *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51 (2003) 6347–6353.
- Tzanakis E., Kalogeropoulos T., Tzimas S., Chatzilazarou A., Katsoyannos E., Phenols and antioxidant activity of apple, quince, pomegranate, bitter orange and almond-leaved pear methanolic extracts. *e-Journal of Science & Technology (e-JST)*, 1 (2006) 16-28.
- Uma D.B., Ho C.W., Wan Aida W.M., Optimization of Extraction Parameters of Total Phenolic Compounds from Henna (*Lawsonia inermis*) Leaves, *Sains Malaysiana* 39 (2010) 119–128.
- Valavanidis A, Vlachogianni T., Psomas A., Zavoiili A., Siatis V., Polyphenolic profile and antioxidant activity of five apple cultivars grown under organic and conventional agricultural practices, *International Journal of Food Science & Technology* 44 (2009) 1167- 1175.
- Van der Sluis A.A., Dekker M., De Jager A., Jongen W.M.F. 2001. Activity and concentration of polyphenolic antioxidants in apple: Effect of cultivar, harvest year,

- and storage conditions, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 49 (2001) 3606–13.
- Veljković J., Pavlović A., Mitić S., Tošić S., Stojanović G., Kaličanin B., Stanković D., Stojković M., Mitić M., Brčanović J., Evaluation of individual phenolic compounds and antioxidant properties of black, green, herbal and fruit tea infusions consumed in Serbia: spectrophotometrical and electrochemical approaches, *Journal of Food and Nutrition Research* 52 (2013) 12–24.
- Versari A., Castellari M., Parpinello G.P., Riponi C., Galassi S., Characterisation of peach juices obtained from cultivars Redhaven, Suncrest and Maria Marta grown in Italy, *Food Chemistry* 76 (2002) 181–185.
- Vieira F.G., Borges Gda S., Copetti C., Gonzaga L.V., Nunes Eda C., Fett R., Gracieli F., Activity and contents of polyphenolic antioxidants in the whole fruit, flesh and peel of three apple cultivars. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición* 59 (2009) 101-106.
- Vieira F.G.K., Borges G.S.C., Copetti C., Pietro P.F., Nunes E.C., Fett R., Phenolic compounds and antioxidant activity of the apple flesh and peel of eleven cultivars grown in Brazil, *Scientia Horticulturae* 128 (2011) 261–266.
- Vilkhu K., Mawson R., Simons L., Bates D. (2008): Applications and opportunities for ultrasound assisted extraction in the food industry -A review, *Innovative Food Science and Emerging Technologies* 9 (2008) 161–169.
- Vinatoru M., An overview of the ultrasonically assisted extraction of bioactive principles from herbs, *Ultrasonics Sonochemistry* 8 (2001) 303-313.
- Vinson J.A., Su X., Zubik L., Bose P., Phenol antioxidant quantity and quality in foods: Fruits, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 49 (2001) 5315–21.
- Vizzotto M., Cisneros-Zevallos L., Byrne D.H., Large Variation Found in the Phytochemical and Antioxidant Activity of Peach and Plum Germplasm, *Journal of the American Society for Horticultural Science* 132 (2007) 334–340.
- Vrhovsek U., Rigo A., Tonon D., Mattivi F. 2004. Quantitation of polyphenols in different apple varieties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 52 (2004) 6532–38.

- WHO; *World Health Organization*: Evaluation of certain food additives and contaminants, Technical report series et al. 1993.
- Wojdylo A., Oszmianski J., Bielicki P., Polyphenolic Composition, Antioxidant Activity, and Polyphenol, Oxidase (PPO) Activity of Quince (*Cydonia oblonga* Miller) Varieties, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61 (2013) 2762-2772.
- Wolfe K., Liu R.H., Apple peels as a value-added food ingredient, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51 (2003) 76–83.
- Wolfe K., Wu X., Liu R., Antioxidant activity of apple peels, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51 (2003) 609-614.
- Wolfe K., Wu X., Liu R.H., Antioxidant activity of apple peels, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51 (2003) 609–14.
- World Health Organisation, 2001, Mental health resources in the world, Initial results of Project Atlas. Geneva, World Health Organization (Fact Sheet No. 260).
- Wright J.S., Johnson E.R., DiLabio G.A. (2001). Predicting the activity of phenolic antioxidants: Theoretical method, analysis of substituent effects, and application to major families of antioxidants, *Journal of the American Chemical Society* (2001) 1173-1183.
- Xu L., Diosady L.L. (2010). *Fats and Oils from Plant Materials, U: Extraction Optimization in Food Engineering*, Tzia, C., Liadakis, G. (Eds), Marcel Dekker Inc., USA.
- Yu L., Haley S., Perret J., Harris M., Wilson J., Qian M., Free radical scavenging properties of wheat extracts, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50 (2002) 1619-1624.



## ***8. Prilog***

**Tabela 8.1. Sadržaj ukupnih fenola (TP) i flavonoida (TF) metanolnih i acetonskih ekstrakata pulpe i kore dunja**

Lokacija	Deo voća	TP (mg GAE/100g s.m.) <sup>1</sup>				TF (mg CE/100g s.m.) <sup>2</sup>			
		60% metanol	80% metanol	60% aceton	80% aceton	60% metanol	80% metanol	60% aceton	80% aceton
Sícevo	kora	65,00±0,78 <sup>3</sup>	74,86±0,57	97,95±0,76	152,56±1,12	17,01±0,15 <sup>3</sup>	20,23±0,16	27,20±0,16	41,23±0,17
	pulpa	33,42±0,06	42,43±0,35	54,74±0,67	71,03±0,74	8,35±0,09	10,60±0,06	13,93±0,11	17,28±0,14
Niš (Vinik)	kora	89,47±0,35	93,09±0,87	159,68±0,99	163,43±1,09	25,56±0,16	27,16±0,16	46,96±0,19	48,39±0,18
	pulpa	53,11±1,00	75,87±0,46	129,49±1,07	158,89±1,11	13,28±0,07	20,36±0,11	37,02±0,19	44,65±0,18
Knjaževac	kora	102,45±0,45	131,85±0,96	181,72±1,00	202,92±1,18	31,04±0,17	41,20±0,18	55,06±0,20	63,41±0,22
	pulpa	58,83±1,01	69,24±0,98	137,31±1,08	153,69±1,06	15,90±0,08	19,23±0,09	39,40±0,18	43,91±0,17
Matejevac	kora	74,27±0,63	110,88±0,92	127,02±0,93	166,80±1,02	24,26±0,16	35,61±0,17	40,99±0,16	53,12±0,19
	pulpa	39,76±1,03	44,56±1,09	88,02±0,86	101,79±0,99	10,74±0,07	12,66±0,08	25,66±0,14	27,50±0,12
Kamenica	kora	85,26±0,59	97,67±0,87	140,17±0,95	174,26±1,06	25,83±0,15	31,52±0,14	46,21±0,17	59,08±0,18
	pulpa	36,99±0,94	51,84±0,99	80,29±0,77	102,92±0,95	9,56±0,06	15,24±0,10	25,32±0,11	32,27±0,15
Zaječar	kora	79,88±0,62	92,63±0,56	147,39±0,89	160,47±1,09	24,32±0,14	28,07±0,13	47,05±0,17	53,76±0,17
	pulpa	48,54±0,93	61,05±1,01	91,44±0,90	99,36±0,86	12,86±0,08	17,01±0,13	24,39±0,12	29,38±0,14
Vranje	kora	76,96±0,84	104,98±0,59	119,68±0,91	140,12±1,04	25,04±0,15	32,80±0,15	39,60±0,16	46,19±0,18
	pulpa	29,89±1,08	39,77±0,85	70,61±0,73	95,98±0,88	9,68±0,07	13,05±0,10	21,39±0,09	29,99±0,14

<sup>1</sup>mg ekvivalenta galne kiseline /100 g sveže mase; <sup>2</sup>mg katehin ekvivalenta/100 g sveže mase; <sup>3</sup>srednja vrednost±SD (n=3)

*Tabela 8.2. Sadržaj ukupnih fenola (TP) i flavonoida (TF) acetonskih ekstrakata pulpe i kore sortnih bresaka*

Sorta	Deo voća	TP (mg GAE/100g s.m.) <sup>1</sup>				TF (mg CE/100g s.m.) <sup>2</sup>			
		0% HCl	0,1% HCl	1% HCl	2% HCl	0% HCl	0,1% HCl	1% HCl	2% HCl
Radmilovčanka	kora	135,59±1,32 <sup>3</sup>	142,46±1,02	151,70±1,31	211,43±1,11	28,05±0,53 <sup>3</sup>	58,56±0,49	89,09±0,91	94,95±1,03
	pulpa	62,29±0,77	90,41±0,82	128,49±1,32	92,68±0,77	66,15±0,78	46,104±0,81	58,88±0,97	51,86±0,37
Junsko Zlato	kora	89,08±0,81	108,45±0,93	143,46±1,35	131,69±1,21	42,72±0,41	74,36±0,63	58,32±0,52	68,12±0,74
	pulpa	67,05±0,11	67,72±0,51	81,41±1,01	71,01±0,62	31,36±0,71	32,83±0,65	35,64±0,32	36,21±0,27
Blejk	kora	41,61±0,54	46,37±0,56	52,34±0,53	60,69±0,75	22,14±0,25	25,31±0,39	28,61±0,41	34,2±0,43
	pulpa	17,36±0,13	19,11±0,16	21,33±0,17	22,01±0,18	9,35±0,23	10,26±0,31	11,13±0,28	11,66±0,37
Hala	kora	39,52±0,31	42,81±0,38	45,01±0,41	47,21±0,35	21,84±0,58	21,48±0,54	25,21±0,59	26,32±0,37
	pulpa	8,14±0,13	8,88±0,25	11,08±0,28	10,94±0,26	4,05±0,09	4,99±0,19	6,12±0,11	5,81±0,23
Vesna	kora	45,33±0,49	48,73±0,43	63,79±0,58	69,74±0,72	22,85±0,57	27,35±0,38	33,77±0,46	35,04±0,29
	pulpa	42,15±0,71	50,59±0,66	55,94±0,61	53,70±0,55	22,63±0,68	28,62±0,71	29,93±0,65	29,93±0,78
Adria	kora	32,41±0,60	33,77±0,62	47,86±0,84	44,18±0,81	16,93±0,18	18,56±0,12	24,66±0,21	23,87±0,19
	pulpa	22,95±0,62	34,36±0,83	41,71±0,82	38,24±0,71	15,04±0,29	13,13±0,11	19,98±0,14	18,46±0,15
Nektarina	kora	33,02±0,49	35,01±0,27	47,04±0,5	42,67±0,54	13,32±0,13	17,12±0,15	25,09±0,21	21,89±0,19
	pulpa	12,34±0,43	14,56±0,57	20,91±0,62	21,92±0,48	7,05±0,11	8,86±0,13	12,59±0,12	12,37±0,13

<sup>1</sup>mg ekvivalenta galne kiseline /100 g sveže mase; <sup>2</sup>mg katehin ekvivalenta/100 g sveže mase; <sup>3</sup>srednja vrednost±SD (n=3)

**Tabela 8.3.** Sadržaj ukupnih fenola (TP) i flavonoida (TF) metanolnih ekstrakata kore jabuka

Sorta	TP (mg GAE/100g s.m.) <sup>1</sup>				TF (mg CE/100g s.m.) <sup>2</sup>			
	0% HCl	0,1% HCl	1% HCl	2% HCl	0% HCl	0,1% HCl	1% HCl	2% HCl
<b>Pink lejdi</b>	121,05±0,87 <sup>3</sup>	147,81±0,97	170,47±0,96	205,26±1,13	49,61±0,35	72,42±0,72	86,93±0,83	110,82±1,89
<b>Crveni delišes</b>	221,46±1,11	245,32±1,26	253,65±1,44	324,21±2,33	106,31±1,72	144,73±1,84	148,54±1,76	181,32±2,07
<b>Ajdared</b>	244,32±1,66	269,98±3,01	305,68±2,85	370,46±3,03	124,59±1,88	135,68±1,07	174,23±1,82	178,58±1,68
<b>Breburn</b>	106,72±1,13	110,23±1,02	131,87±1,45	169,29±1,26	48,76±0,53	50,82±0,82	68,12±0,43	75,44±0,65
<b>Modi</b>	209,01±1,16	226,37±2,02	239,49±2,11	258,02±2,01	93,54±0,80	103,31±1,04	128,79±0,99	145,82±1,51

<sup>1</sup>mg ekvivalenta galne kiseline /100 g sveže mase; <sup>2</sup>mg katehin ekvivalenta/100 g sveže mase; <sup>3</sup>srednja vrednost±SD (n=3)

*Tabela 8.4. Sadržaj hidroksicimetnih kiselina i flavonola metanolnih i acetonkih ekstrakata kore dunja (mg/kg)*

Geografsko područje	Ekstrakt	3-CQA	HCA1	5CQU	4CQA	HCA2	3,5-diCQA	Q-Ga	Q-Ru	Q-Glu	K-Glu	K-Ru	Q-Glu-P-CouA	Σ(mg/kg)
Sícevo	M60	58,88	2,22	133,05	7,09	19,11	94,79	60,37	144,46	31,28	6,34	5,69	3,02	566,30
	M80	69,55	7,72	155,55	10,69	28,62	127,94	61,77	166,58	42,27	12,68	11,67	4,65	699,69
	A60	116,57	5,99	207,66	17,23	11,14	97,85	68,45	200,29	47,68	8,14	4,54	5,56	791,10
	A80	168,14	8,46	264,43	19,09	8,53	107,28	87,95	254,16	56,35	13,33	9,15	6,08	1002,95
Niš	M60	158,64	12,55	181,44	45,22	17,48	105,04	29,12	87,38	36,79	22,25	9,88	3,32	709,11
	M80	191,26	13,45	223,47	45,74	19,54	117,36	31,27	92,73	40,11	24,10	10,55	2,84	812,72
	A60	305,51	15,66	368,46	50,78	13,45	75,80	35,79	121,45	42,73	28,42	13,27	12,75	1084,07
	A80	344,59	23,80	420,54	68,80	14,99	89,10	43,84	141,58	48,81	33,39	20,82	17,42	1267,68
Knjaževac	M60	168,06	6,47	331,44	19,86	39,34	151,18	24,18	138,98	24,96	17,84	8,19	8,13	938,63
	M80	170,08	5,98	332,34	20,92	43,94	206,34	30,66	188,55	33,14	24,38	9,12	11,11	1076,56
	A60	281,44	17,43	444,39	64,45	40,32	141,43	38,49	240,06	42,67	30,67	10,24	15,77	1367,36
	A80	348,89	20,87	481,84	71,57	43,72	149,45	48,16	253,23	45,36	33,19	10,72	16,83	1523,88
Matejevac	M60	105,61	6,88	216,78	25,93	56,63	145,34	6,35	76,07	18,58	19,58	8,25	tr	619,27
	M80	158,63	7,61	302,33	29,36	57,79	149,45	6,81	89,77	20,79	20,90	7,86	tr	783,14
	A60	208,39	14,51	378,63	34,42	45,56	89,68	8,24	98,86	26,63	19,22	9,06	9,34	1009,27
	A80	293,66	16,96	418,64	55,76	50,54	109,44	15,47	144,14	34,47	21,29	11,87	9,51	1228,99
Kamenica	M60	161,87	10,59	198,12	49,37	69,50	72,52	9,51	94,35	28,47	12,66	9,76	tr	716,72
	M80	173,38	12,24	213,08	48,52	80,51	77,38	10,39	96,70	31,44	11,56	10,07	tr	770,17
	A60	314,28	13,62	361,82	51,88	55,82	54,76	13,02	110,48	33,01	14,56	12,34	tr	1035,61
	A80	347,76	16,96	443,69	70,79	59,16	67,43	13,56	123,50	36,09	16,16	12,88	tr	1207,98
Zaječar	M60	138,55	6,44	111,07	20,22	41,40	188,55	10,32	124,74	38,22	21,04	13,36	5,94	270,99
	M80	131,11	6,62	169,99	22,17	49,19	193,36	14,94	147,51	44,92	23,46	14,85	6,75	294,29
	A60	152,60	7,45	210,09	28,13	39,24	167,96	17,37	157,35	46,06	24,89	15,49	7,70	347,71
	A80	176,85	7,77	285,32	31,39	40,14	170,42	17,66	165,99	48,16	25,95	18,09	8,81	386,43
Vranje	M60	65,20	3,58	155,13	9,23	20,20	98,70	72,38	82,65	38,51	25,20	11,20	3,58	585,47
	M80	70,32	6,23	160,28	12,58	30,18	105,30	69,25	98,25	42,73	26,30	11,50	3,16	636,08
	A60	118,52	6,08	212,52	18,32	23,58	76,38	75,89	131,72	45,08	25,90	13,72	7,58	755,29
	A80	172,30	9,00	259,12	19,95	25,72	82,50	85,35	148,52	52,37	30,10	15,83	9,73	910,49
<b>srednja vrednost</b>		184,67	10,47	272,90	34,62	37,33	118,31	35,95	140,00	38,49	21,20	11,43	6,41	911,78
<b>maksimalna vrednost</b>		348,89	23,80	481,84	71,57	80,51	206,34	87,95	253,23	52,37	33,39	20,82	17,42	1329,24
<b>minimalna vrednost</b>		58,88	2,22	111,07	7,09	8,53	54,76	6,35	76,07	18,58	6,34	4,54	2,84	298,39

*Tabela 8.5. Sadržaj hidroksicimetnih kiselina i flavonola metanolnih i acetonskih ekstrakata pulpe dunja (mg/kg)*

Geografsko područje	Ekstrakt	3-CQA	HCA1	5CQU	4CQA	HCA2	3,5-diCQA	Q-Ru	Σ(mg/kg)
Sićevo	M60	20,11	1,68	82,56	4,61	5,54	46,12	2,92	163,54
	M80	24,57	1,93	92,28	6,06	3,90	52,83	3,05	184,62
	A60	41,78	2,07	129,06	6,36	1,87	28,63	3,37	213,14
	A80	62,35	2,18	132,51	7,94	2,87	32,09	3,65	243,59
Niš	M60	102,63	2,35	67,16	12,20	7,99	46,26	2,92	241,51
	M80	110,27	2,48	87,65	15,91	10,09	47,44	3,11	276,95
	A60	134,82	7,25	153,23	42,96	5,22	16,45	2,70	362,63
	A80	151,93	6,88	170,74	49,20	5,65	20,94	6,54	411,88
Knjaževac	M60	108,27	3,49	128,33	8,14	8,85	61,97	4,99	324,04
	M80	126,93	4,01	149,92	9,49	10,57	73,87	6,32	381,11
	A60	134,24	4,32	164,08	12,07	2,64	53,53	6,13	377,01
	A80	173,27	5,16	217,36	6,56	4,83	59,67	6,67	483,52
Matejevac	M60	42,16	2,66	99,75	11,85	9,27	61,86	2,59	230,14
	M80	46,52	3,00	104,83	14,70	11,39	70,67	2,65	253,76
	A60	48,39	3,04	154,40	15,88	4,06	39,65	2,75	268,17
	A80	55,51	3,49	180,82	21,37	4,83	45,14	3,86	315,02
Kamenica	M60	62,60	5,32	72,47	11,02	40,15	37,52	2,62	231,70
	M80	71,24	4,71	84,32	9,52	37,88	39,70	2,70	250,07
	A60	124,25	7,93	145,26	31,06	36,69	32,64	3,13	351,49
	A80	143,36	9,99	161,62	39,27	42,16	37,17	2,94	431,98
Zaječar	M60	50,85	tr	55,71	9,82	4,14	142,51	7,96	270,99
	M80	81,98	tr	44,81	11,32	4,25	144,31	7,62	294,99
	A60	106,09	6,58	80,78	21,62	3,16	120,59	7,96	347,71
	A80	110,44	6,95	97,37	22,29	4,85	136,08	8,45	386,43
Vranje	M60	19,52	2,05	92,15	5,07	5,82	35,72	2,35	162,68
	M80	25,18	2,00	102,30	5,95	6,75	45,18	3,12	109,48
	A60	40,38	2,25	115,72	6,38	4,38	17,38	3,28	189,77
	A80	65,17	2,30	140,05	8,02	9,25	21,52	3,50	249,81
<b>srednja vrednost</b>		96,39	5,83	131,85	26,91	22,02	80,85	5,40	369,25
<b>maksimalna vrednost</b>		173,27	9,99	217,36	49,20	42,16	144,31	8,45	644,74
<b>minimalna vrednost</b>		19,52	1,68	44,81	4,61	1,87	17,38	2,35	92,22

*Tabela 8.6. Sadržaj hidroksicimetnih kiselina i flavonola acetonskih ekstrakata kore sortnih bresaka (mg/kg)*

<b>Sorta breskve</b>	<b>HCl, %</b>	<b>Q-Ru</b>	<b>Q-Glu</b>	<b>Q-Rha</b>	<b>K-Ru</b>	<b>Σ flav.</b>
<b>Radmilovčanka</b>	0	13,85	8,47	2,47	7,04	31,83
	0,1	17,99	10,43	2,97	8,88	40,27
	1	18,56	11,24	3,05	11,38	44,23
	2	20,30	13,45	5,21	15,01	53,97
<b>Junsko Zlato</b>	0	14,12	8,69	2,93	8,60	34,34
	0,1	17,27	10,49	3,34	8,08	35,84
	1	7,71	4,28	3,42	6,88	22,29
	2	17,66	12,14	3,43	9,39	42,61
<b>Blejk</b>	0	9,83	7,45	2,05	4,79	24,12
	0,1	10,84	6,85	1,99	4,72	24,40
	1	10,92	5,47	1,78	5,10	23,27
	2	12,52	9,08	2,50	6,72	30,82
<b>Hala</b>	0	10,01	4,28	2,35	7,24	23,97
	0,1	10,29	5,25	2,77	7,05	25,36
	1	11,16	5,39	2,89	5,13	24,57
	2	11,67	5,67	3,89	8,15	29,38
<b>Vesna</b>	0	6,64	3,93	4,62	4,20	19,39
	0,1	6,19	3,81	4,79	4,26	19,05
	1	11,24	4,17	5,08	5,26	25,75
	2	13,30	6,66	5,71	5,92	31,59
<b>Adria</b>	0	10,56	4,32	1,69	7,50	24,07
	0,1	11,21	3,98	1,43	9,65	26,27
	1	11,91	4,70	1,73	8,50	26,84
	2	12,49	7,91	1,90	9,91	32,24
<b>Nektarina</b>	0	9,65	6,29	1,63	5,12	22,69
	0,1	7,83	5,31	1,35	2,82	17,31
	1	8,45	6,51	1,53	3,61	20,10
	2	10,01	7,33	1,73	5,92	24,99

*Tabela 8.7. Sadržaj pojedinačnih hidroksicinamičnih kiselina (mg/kg) u kori i pulpi sortnih bresaka*

Sorta breskve	HCl, %	kora				pulpa			
		3-CQA	5-CQA	p-CouA	∑ acid	3-CQA	5-CQA	p-CouA	∑ acid
Radmilovčanka	0	63,00	242,34	3,83	309,17	29,46	81,66	2,44	113,56
	0,1	83,11	273,89	4,61	361,61	30,08	81,16	2,55	113,79
	1	84,53	299,61	5,08	389,22	34,85	89,18	3,29	127,32
	2	74,95	279,55	4,44	358,94	26,61	64,25	1,96	92,82
Junsko Zlato	0	21,79	76,10	2,13	100,02	25,9	16,02	0,72	42,64
	0,1	32,74	123,35	2,87	160,96	22,39	18,38	0,68	41,45
	1	75,18	280,45	4,45	360,08	27,05	24,39	0,96	52,40
	2	25,76	80,43	2,42	108,61	25,92	22,49	0,81	49,22
Blejk	0	22,54	50,38	2,50	75,42	11,29	11,58	0,51	23,40
	0,1	15,08	55,33	2,87	73,28	13,59	13,19	0,49	27,27
	1	27,04	115,29	3,39	145,72	19,19	23,51	0,54	43,23
	2	15,59	107,81	2,03	125,43	17,59	20,33	0,45	38,37
Hala	0	13,74	29,88	1,20	44,82	2,58	6,30	/	8,88
	0,1	14,48	32,51	1,15	48,14	3,12	8,53	/	11,65
	1	16,14	39,76	1,67	57,57	4,82	9,08	/	13,93
	2	13,85	35,16	1,49	50,50	2,06	6,40	/	8,46
Vesna	0	57,84	126,15	1,25	185,24	45,31	79,97	1,23	126,51
	0,1	57,39	184,67	1,36	243,42	44,85	77,72	1,12	123,70
	1	73,05	226,31	2,32	301,68	65,10	99,70	1,05	165,85
	2	50,87	169,11	1,98	221,96	51,05	77,42	2,16	130,63
Adria	0	7,48	20,20	0,69	28,37	9,14	12,21	0,31	21,66
	0,1	9,09	23,20	0,92	33,21	10,91	12,34	0,38	23,63
	1	23,07	58,28	0,99	82,34	15,69	17,49	0,65	33,83
	2	10,09	28,82	0,72	39,63	15,03	16,64	0,59	32,26
Netarina	0	8,89	31,26	0,93	41,08	5,59	5,03	0,24	10,86
	0,1	10,50	23,25	0,76	34,51	5,69	5,44	0,23	11,36
	1	16,93	32,96	1,03	50,92	7,32	7,41	0,44	15,17
	2	13,80	27,37	0,72	41,89	5,78	4,47	0,34	10,59



**Tabela.8.8. Sadržaj cijanidin-3-galaktozida, flavan-3-ola, flavonola i hidroksicimetnih kiselina metanolnih ekstrakata kore jabuka (mg/kg)**

% HCl	Cy-Ga	C	EC	Σ flavon-3-ol	5-CQA	p-CouA	FerA	Σ kiselina	Q-Ga	Q-Glu	Q-Xi	Q-Ar	Q-Rh	Q	Σ flavonola	Σ svih jedinjenja
<b>Pink lejdi</b>																
0	62,61	3,37	24,68	28,05	25,16	1,73	2,65	29,54	22,32	5,62	10,21	10,22	19,73	2,82	70,56	190,76
0,1	72,61	2,88	25,89	28,77	22,42	1,64	2,61	26,67	25,06	5,54	9,90	9,78	17,84	3,09	71,21	199,26
1	58,84	/	15,32	15,32	15,36	1,56	12,51	29,43	18,57	4,75	6,35	6,62	12,42	18,39	67,10	170,69
2	50,62	3,26	18,20	21,46	14,18	1,11	12,22	27,51	13,02	5,06	3,81	5,13	8,55	22,14	57,71	157,01
<b>Crveni delišes</b>																
0	117,11	17,39	27,51	44,90	22,83	1,24	2,50	26,57	10,84	11,12	14,89	10,65	22,72	17,64	87,86	278,44
0,1	119,86	16,41	26,20	42,61	22,94	1,16	3,04	27,14	13,26	10,21	13,57	10,84	21,51	17,35	86,74	274,35
1	103,52	8,15	12,34	20,49	14,48	0,37	4,45	19,30	5,44	9,12	11,65	8,81	15,46	36,47	86,95	230,26
2	96,26	9,40	14,80	24,20	15,05	0,37	4,23	19,63	5,40	9,22	9,57	6,86	13,26	37,86	82,17	222,26
<b>Ajdared</b>																
0	120,54	16,21	45,21	61,42	36,55	6,03	18,27	61,25	61,87	14,73	19,61	17,09	42,94	20,08	176,32	419,53
0,1	128,22	14,69	43,40	58,09	37,17	5,60	19,07	61,84	71,69	14,48	17,67	14,45	37,51	24,92	180,72	428,87
1	127,31	5,94	36,92	42,86	8,15	2,48	22,50	33,13	53,86	13,76	13,91	14,17	11,01	44,52	151,23	354,53
2	121,15	8,97	36,36	45,33	4,10	2,25	24,42	30,77	54,09	10,16	10,25	5,92	9,10	59,40	148,92	346,17
<b>Breburn</b>																
0	47,82	/	23,22	23,22	20,31	/	/	20,31	22,04	4,77	11,13	8,66	4,36	16,08	67,04	158,39
0,1	48,62	/	28,21	28,21	18,82	/	2,88	21,70	25,69	5,43	10,57	8,14	4,16	18,66	72,65	171,18
1	41,42	/	14,75	14,75	3,78	/	9,74	13,52	25,55	3,92	5,78	5,16	2,77	37,86	81,04	150,73
2	46,05	/	23,41	23,41	2,42	/	11,32	13,74	23,03	3,54	5,35	2,71	2,92	47,30	84,85	168,05
<b>Modi</b>																
0	364,20	13,61	59,15	72,76	53,27	6,48	7,85	67,60	94,25	15,11	25,78	55,64	21,16	20,06	232,00	736,56
0,1	365,42	13,03	55,87	68,90	53,48	6,37	8,12	57,97	81,06	14,55	25,04	53,65	20,81	27,13	222,24	724,53
1	355,52	8,32	54,34	62,66	27,39	6,03	19,81	53,23	89,54	13,92	19,07	26,88	12,57	56,63	218,61	690,02
2	357,65	13,46	18,53	31,99	21,95	5,75	28,64	56,34	64,62	9,77	12,72	11,33	9,50	71,94	178,88	625,86

Skraćenice: Cy-Ga, cijanidin-3-galaktozid; C, katehin; EC, epikatehin; 5-CQA, 5-O-kafeolihinska kiselina; p-CouA, p-kumarna kiselina; FerA, ferulna kiselina; Q-Ga, kvercetin-3-galaktozid; Q-Glu, kvercetin-3-glukozid; Q-Xi, kvercetin-3-ksilozid; Q-Ar, kvercetin-3-arabinozid; Q-Rh, kvercetin-3-ramnozid; Q, kvercetin.

*Tabela 8.9. Antioksidativna aktivnost metanolnih i acetonskih ekstraktata kore i pulpe dunje određena DPPH i ABTS metodom*

Lokacija	Deo voća	DPPH (mmol TE/100g s.m.) <sup>1</sup>				ABTS (mmol TE/100g s.m.) <sup>1</sup>			
		60% metanol	80% metanol	60% aceton	80% aceton	60% metanol	80% metanol	60% aceton	80% aceton
Sićevo	kora	0,235±0,001 <sup>2</sup>	0,264±0,001	0,281±0,002	0,299±0,002	0,388±0,002	0,408±0,004	0,461±0,003	0,530±0,004
	pulpa	0,158±0,001	0,184±0,001	0,199±0,001	0,213±0,001	0,283±0,003	0,301±0,004	0,335±0,004	0,349±0,002
Niš (Vinik)	kora	0,279±0,002	0,289±0,002	0,307±0,002	0,314±0,003	0,618±0,005	0,558±0,004	0,769±0,006	0,829±0,007
	pulpa	0,187±0,001	0,269±0,001	0,283±0,002	0,301±0,002	0,434±0,004	0,489±0,004	0,637±0,004	0,722±0,006
Knjaževac	kora	0,284±0,002	0,294±0,002	0,332±0,002	0,388±0,003	0,552±0,004	0,660±0,005	0,727±0,006	0,797±0,005
	pulpa	0,201±0,001	0,239±0,001	0,289±0,002	0,300±0,002	0,448±0,004	0,486±0,004	0,684±0,006	0,673±0,005
Matejevac	kora	0,265±0,002	0,278±0,002	0,289±0,002	0,312±0,002	0,461±0,003	0,562±0,005	0,724±0,006	0,746±0,006
	pulpa	0,187±0,001	0,188±0,001	0,279±0,002	0,293±0,002	0,433±0,004	0,493±0,004	0,640±0,005	0,696±0,006
Kamenica	kora	0,270±0,002	0,280±0,002	0,298±0,002	0,332±0,003	0,626±0,004	0,653±0,004	0,677±0,005	0,752±0,006
	pulpa	0,167±0,001	0,198±0,001	0,254±0,002	0,260±0,002	0,337±0,002	0,351±0,004	0,470±0,004	0,636±0,005
Zaječar	kora	0,264±0,002	0,289±0,002	0,299±0,002	0,301±0,003	0,478±0,003	0,547±0,004	0,699±0,006	0,764±0,007
	pulpa	0,208±0,001	0,257±0,002	0,278±0,002	0,285±0,002	0,359±0,002	0,382±0,003	0,523±0,004	0,650±0,005
Vranje	kora	0,213±0,001	0,271±0,002	0,245±0,001	0,280±0,002	0,425±0,003	0,554±0,004	0,438±0,004	0,486±0,004
	pulpa	0,130±0,001	0,170±0,001	0,209±0,001	0,224±0,001	0,273±0,001	0,278±0,002	0,317±0,003	0,356±0,003

<sup>1</sup>mmol ekvivalenta troloksa/100 g sveže mase; <sup>2</sup>srednja vrednost±SD (n=3)

*Tabela 8.10. Antioksidativna aktivnost metanolnih i acetonskih ekstrakata kore i pulpe dunje određena FRAP i RP metodom*

Lokacija	Deo voća	FRAP (mmol Fe/100g s.m.) <sup>1</sup>				RP (mg GAE/100g s.m.) <sup>2</sup>			
		60% metanol	80% metanol	60% aceton	80% aceton	60% metanol	80% metanol	60% aceton	80% aceton
Sićevo	kora	0,321±0,003 <sup>3</sup>	0,357±0,004	0,459±0,004	0,770±0,005	22,337±0,237	27,625±0,248	34,859±0,284	58,228±0,435
	pulpa	0,177±0,001	0,226±0,002	0,279±0,002	0,353±0,004	10,612±0,149	13,176±0,172	18,943±0,246	26,906±0,249
Niš (Vinik)	kora	0,448±0,004	0,463±0,004	0,755±0,006	0,769±0,006	28,404±0,327	30,227±0,418	56,424±0,586	61,907±0,574
	pulpa	0,318±0,003	0,396±0,004	0,670±0,005	0,816±0,006	17,644±0,206	24,958±0,311	45,437±0,499	57,359±0,582
Knjaževac	kora	0,505±0,004	0,644±0,005	0,855±0,006	0,941±0,008	33,265±0,392	44,849±0,392	67,056±0,524	76,865±0,581
	pulpa	0,317±0,004	0,368±0,004	0,711±0,007	0,774±0,007	17,720±0,257	21,705±0,337	46,704±0,582	50,892±0,662
Matejevac	kora	0,374±0,003	0,552±0,005	0,610±0,006	0,783±0,006	24,922±0,361	38,633±0,502	46,188±0,582	62,945±0,663
	pulpa	0,215±0,003	0,237±0,003	0,464±0,005	0,520±0,006	11,977±0,295	14,146±0,337	29,241±0,409	35,967±0,335
Kamenica	kora	0,432±0,005	0,479±0,004	0,675±0,005	0,834±0,007	27,327±0,335	32,449±0,345	50,420±0,709	65,514±0,729
	pulpa	0,200±0,004	0,279±0,005	0,420±0,006	0,553±0,006	11,277±0,336	16,832±0,441	27,215±0,392	36,627±0,423
Zaječar	kora	0,397±0,004	0,450±0,004	0,700±0,005	0,768±0,006	25,603±0,418	31,084±0,498	52,452±0,850	59,653±0,525
	pulpa	0,261±0,003	0,321±0,004	0,467±0,006	0,500±0,005	15,073±0,392	19,259±0,354	29,688±0,392	34,145±0,418
Vranje	kora	0,377±0,003	0,507±0,005	0,566±0,006	0,657±0,007	24,986±0,335	36,836±0,491	43,999±0,577	53,074±0,586
	pulpa	0,161±0,003	0,212±0,004	0,370±0,006	0,490±0,006	9,002±0,177	12,745±0,278	23,152±0,307	32,982±0,466

<sup>1</sup>mmol gvožđa/100 g sveže mase; <sup>2</sup>mg ekvivalenta galne kiseline/100 g sveže mase; <sup>3</sup>srednja vrednost±SD (n=3).

*Tabela 8.11. Antioksidativna aktivnost acetonskih ekstraktov kore i pulpe sortnih bresaka određena DPPH i ABTS metodom*

Sorta	Deo voća	DPPH (mmol TE/100g s.m.) <sup>1</sup>				ABTS (mmol TE/100g s.m.) <sup>1</sup>			
		0% HCl	0,1% HCl	1% HCl	2% HCl	0% HCl	0,1% HCl	1% HCl	2% HCl
Radmilovčanka	kora	0,274±0,003 <sup>2</sup>	0,285±0,003	0,343±0,003	0,388±0,004	0,518±0,004	0,532±0,007	0,659±0,012	0,746±0,004
	pulpa	0,242±0,002	0,254±0,003	0,278±0,003	0,257±0,002	0,426±0,010	0,492±0,007	0,520±0,006	0,501±0,008
Junsko Zlato	kora	0,256±0,004	0,329±0,004	0,259±0,002	0,268±0,002	0,491±0,007	0,642±0,008	0,509±0,006	0,528±0,004
	pulpa	0,244±0,002	0,231±0,001	0,242±0,002	0,248±0,003	0,438±0,004	0,439±0,005	0,473±0,006	0,465±0,005
Blejk	kora	0,184±0,003	0,198±0,002	0,213±0,003	0,249±0,003	0,312±0,007	0,358±0,004	0,384±0,003	0,424±0,009
	pulpa	0,133±0,001	0,141±0,003	0,136±0,002	0,148±0,003	0,212±0,003	0,226±0,004	0,231±0,007	0,236±0,006
Hala	kora	0,188±0,002	0,193±0,002	0,201±0,003	0,214±0,003	0,301±0,003	0,314±0,004	0,321±0,004	0,345±0,005
	pulpa	0,121±0,001	0,124±0,002	0,138±0,003	0,132±0,001	0,186±0,002	0,193±0,003	0,218±0,004	0,214±0,003
Vesna	kora	0,219±0,002	0,221±0,002	0,236±0,003	0,257±0,003	0,361±0,002	0,368±0,006	0,425±0,003	0,462±0,005
	pulpa	0,185±0,002	0,228±0,002	0,233±0,003	0,222±0,003	0,314±0,001	0,386±0,003	0,392±0,002	0,374±0,005
Adria	kora	0,165±0,002	0,166±0,002	0,203±0,003	0,198±0,002	0,281±0,002	0,283±0,001	0,368±0,003	0,352±0,005
	pulpa	0,138±0,001	0,168±0,001	0,173±0,003	0,167±0,002	0,235±0,002	0,286±0,003	0,312±0,004	0,301±0,003
Nektarina	kora	0,153±0,003	0,189±0,003	0,212±0,004	0,193±0,003	0,237±0,002	0,301±0,003	0,344±0,002	0,328±0,001
	pulpa	0,136±0,002	0,138±0,001	0,142±0,003	0,147±0,003	0,198±0,001	0,212±0,002	0,227±0,003	0,229±0,003

<sup>1</sup>mmol ekvivalenta troloksa/100 g sveže mase; <sup>2</sup>srednja vrednost±SD (n=3)

*Tabela 8.12. Antioksidativna aktivnost acetonskih ekstraktata kore i pulpe sortnih bresaka određena FRAP i RP metodom*

Sorta	Deo voća	FRAP (mmol Fe/100g s.m.) <sup>1</sup>				RP (mg GAE/100g s.m.) <sup>2</sup>			
		0% HCl	0,1% HCl	1% HCl	2% HCl	0% HCl	0,1% HCl	1% HCl	2% HCl
Radmilovčanka	kora	0,725±0,014 <sup>3</sup>	0,751±0,015	0,889±0,016	0,977±0,018	43,73±0,42	46,75±0,66	48,95±0,63	70,47±0,43
	pulpa	0,596±0,015	0,713±0,012	0,754±0,010	0,701±0,012	21,48±0,41	32,28±0,47	42,83±0,68	34,32±0,31
Junsko Zlato	kora	0,704±0,015	0,893±0,016	0,713±0,011	0,749±0,016	27,83±0,27	43,47±0,58	44,83±0,51	42,48±0,62
	pulpa	0,603±0,016	0,608±0,013	0,639±0,014	0,631±0,012	22,35±0,34	23,35±0,33	25,44±0,28	22,90±0,24
Blejk	kora	0,436±0,010	0,483±0,009	0,549±0,008	0,580±0,007	13,42±0,09	15,99±0,09	17,44±0,10	19,57±0,11
	pulpa	0,291±0,006	0,316±0,007	0,324±0,007	0,332±0,008	5,60±0,09	6,37±0,08	6,88±0,07	7,33±0,05
Hala	kora	0,430±0,006	0,449±0,007	0,446±0,005	0,483±0,005	12,75±0,07	13,37±0,08	13,64±0,06	13,89±0,12
	pulpa	0,269±0,004	0,274±0,003	0,309±0,006	0,303±0,004	2,91±0,03	3,28±0,04	3,82±0,05	3,77±0,05
Vesna	kora	0,487±0,006	0,501±0,007	0,573±0,007	0,619±0,010	14,62±0,15	16,24±0,17	20,58±0,27	21,79±0,31
	pulpa	0,430±0,004	0,536±0,005	0,533±0,005	0,516±0,004	13,17±0,12	15,33±0,15	16,45±0,21	16,27±0,19
Adria	kora	0,393±0,004	0,404±0,005	0,533±0,007	0,499±0,008	10,80±0,10	10,89±0,12	14,50±0,19	14,25±0,21
	pulpa	0,329±0,006	0,391±0,004	0,408±0,005	0,415±0,006	7,40±0,10	10,74±0,09	12,64±0,15	11,95±0,13
Nektarina	kora	0,327±0,007	0,412±0,009	0,478±0,008	0,451±0,010	11,01±0,09	11,29±0,08	14,70±0,04	13,76±0,11
	pulpa	0,279±0,003	0,303±0,004	0,315±0,007	0,313±0,008	3,98±0,04	4,55±0,06	6,33±0,06	6,85±0,05

<sup>1</sup>mmol gvožđa/100 g sveže mase; <sup>2</sup>mg ekvivalenta galne kiseline/100 g sveže mase; <sup>3</sup>srednja vrednost±SD (n=3).

*Tabela 8.13. Antioksidativna aktivnost acetonskih ekstrakata kore jabuka određena DPPH i ABTS metodom*

Sorta	DPPH (mmol TE/100g s.m.) <sup>1</sup>				ABTS (mmol TE/100g s.m.) <sup>1</sup>			
	0% HCl	0,1% HCl	1% HCl	2% HCl	0% HCl	0,1% HCl	1% HCl	2% HCl
<b>Pink lejdi</b>	0,253±0,002 <sup>2</sup>	0,262±0,001	0,267±0,004	0,273±0,003	0,369±0,007	0,454±0,007	0,477±0,003	0,542±0,007
<b>Crveni delišes</b>	0,291±0,002	0,326±0,005	0,331±0,004	0,423±0,006	0,536±0,005	0,598±0,007	0,607±0,004	0,623±0,007
<b>Ajdared</b>	0,321±0,003	0,375±0,002	0,406±0,005	0,482±0,006	0,589±0,003	0,635±0,005	0,716±0,008	0,724±0,009
<b>Breburn</b>	0,239±0,003	0,241±0,002	0,263±0,003	0,269±0,004	0,289±0,002	0,314±0,003	0,415±0,006	0,452±0,006
<b>Modi</b>	0,277±0,002	0,298±0,003	0,319±0,003	0,328±0,004	0,539±0,004	0,543±0,006	0,561±0,008	0,609±0,008

<sup>1</sup>mmol ekvivalenta troloksa/100 g sveže mase; <sup>2</sup>srednja vrednost±SD (n=3).

*Tabela 8.14. Antioksidativna aktivnost acetonskih ekstrakata kore jabuka određena FRAP i RP metodom*

Sorta	FRAP (mmol Fe/100g s.m.) <sup>1</sup>				RP (mg GAE/100g s.m.) <sup>2</sup>			
	0% HCl	0,1% HCl	1% HCl	2% HCl	0% HCl	0,1% HCl	1% HCl	2% HCl
<b>Pink lejdi</b>	0,674±0,009 <sup>3</sup>	0,683±0,009	0,739±0,008	0,856±0,008	69,78±0,78	84,97±0,87	95,5±0,89	113,88±1,04
<b>Crveni delišes</b>	1,003±0,012	1,112±0,011	1,124±0,013	1,457±0,016	121,43±1,31	132,43±1,23	136,75±0,99	166,15±1,45
<b>Ajdared</b>	1,109±0,014	1,123±0,007	1,356±0,016	1,681±0,019	119,13±1,09	155,78±1,34	159,68±1,07	196,84±1,48
<b>Breburn</b>	0,491±0,007	0,523±0,008	0,654±0,006	0,728±0,009	58,98±0,63	60,07±0,72	74,38±0,58	93,24±0,81
<b>Modi</b>	0,861±0,009	1,006±0,013	1,111±0,017	1,127±0,018	93,24±0,81	127,65±1,00	130,11±1,15	135,49±0,98

<sup>1</sup>mmol gvožđa/100 g sveže mase; <sup>2</sup>mg ekvivalenta galne kiseline/100 g sveže mase; <sup>3</sup>srednja vrednost±SD (n=3).











## ***9. Biografija sa bibliografijom***

**Branka T. Stojanović** je rođena 11.03.1981. godine u Nišu. Završila je prirodno-matematički smer gimnazije „Stevan Sremac”. Osnovne studije, na Odseku za hemiju Prorodno-matematičkog fakulteta u Nišu, upisala je školske 2000/01 i diplomirala na istom 09.05.2007. prosečnom ocenom 8,76 (osam, sedamdeset šest) i odbranjenim diplomskim radom „Enzimsko-kinetička metoda za određivanje streptomicina” sa ocenom 10. Školske 2008/2009. godine upisala je doktorske studije na Odseku za hemiju Prirodno-matematičkog fakulteta u Nišu. Položila je sve ispite i odbranila sve Studijske istraživačke radove sa prosečnom ocenom 9,38.

Stipendista je Ministarstva prosvete, nauke i tehnološkog razvoja od 2008. do 2012. godine. U periodu 2008-2010. godine bila je angažovana kao mladi istraživač-doktorand na projektu „Razvoj i primena metoda za praćenje kvaliteta industrijskih proizvoda i životne sredine“, (evidencioni broj projekta – 142015) a od decembra 2011. godine zasniva radni odnos kao istraživač-saradnik na naučno-istraživačkom projektu pod nazivom: „Prirodni proizvodi biljaka i lišajeva: izolovanje, identifikacija, biološka aktivnost i primena” (evidencioni broj 172047) finansiran od strane Ministarstva prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije.

Od 2012. godine, angažovana je u izvođenju vežbi na Katedri za analitičku hemiju iz predmeta: Fizičko-hemijski procesi u životnoj sredini i Fizička hemija I.

Koautor je tri rada iz doktorata, koja su prihvaćena za objavljivanje u časopisima međunarodnog značaja (M23).

*Objavljeni radovi u međunarodnim časopisima M23 (3 boda):*

1. Milan N. Mitić, Marijana V. Obradović, Snežana S. Mitić, Aleksandra A. Pavlović, Jovana Pavlović, Branka T. Stojanović, Activity and Phenolic Profile Of Serbian Red fruit Wines, *Revisita de Chimie Vol. 64, No. 1, 2013, 68-73*
2. S.S. Mitić, M. B. Stojković, J. Lj. Pavlović, M. N. Mitić, B. T. Stojanović, Antioxidant activity, phenolic and mineral content of *Stachys germanica* L., *Oxidation Communications Book 4, No 35, 1011-1021, 2012*
3. S.S. Mitić, B.T. Stojanović, M. B. Stojković, M.N. Mitić, J. Lj. Pavlović, Total phenolic, flavonoids and antioxidant activity of different apple cultivars from Serbia, *Bulgarian Chemical Cummunications*, 45 (3), 326–331, 2013

4. Snežana S. Mitić, Aleksandra N. Pavlović, Snežana S. Tošić, Branka T. Stojanović, Milan N. Mitić, Milan B. Stojković, Elemental Composition of Various Apple Cultivars Grown in Serbia, *Asian Journal of Chemistry* 25 (11), 6027-6032, 2013.
5. Snežana S. Mitić, Branka T. Stojanović, Aleksandra N. Pavlović, Milan N. Mitić, Milan B. Stojković, The phenol content, antioxidant activity and metal composition of Serbian vineyard peach, *Revue Roumanie de Chimie*, 58 (6), 533-541, 2013.
6. Dušan Đ. Paunović, Snežana S. Mitić, Aleksandra N. Pavlović, Danijela A. Kostić, Milan N. Mitić, Branka T. Stojanović, Multielement determination and characterisation of beers consumed in Serbia, *Oxidation Communications*, 37 (2), 605-618, 2014.
7. M. N. Mitic\*, D. A. Kostic, D. D. Paunovic, B. T. Stojanovic, J. Lj. Pavlovic, A New Kinetic Spectrophotometric Method for Total Polyphenols Determination in White Wines, *South African journal of chemistry*, 67, 104-108, 2014

*Objavljen rad u domaćem časopisu M53 (1 bod)*

8. Milan B. Stojković, Snežana S. Mitić, Jovana Lj. Pavlović, Branka T. Stojanović, Dušan Đ. Paunović, Antioxidant potential of *Tanacetum vulgare* L. extracts, *Biologica Nyssana* 5 (1), 47-51, 2014.

#### **Radovi saopšteni na naučnim skupovima:**

*M33 - Radovi saopšteni na naučnim skupovima međunarodnog značaja štampani u celini (1 bod)*

1. Snežana S. Mitić, Snežana B. Tošić, Aleksandra A. Pavlović, Milan B. Stojković, Milan N. Mitić, Branka T. Stojanović, Alkali and Alkaline Earth Metal Content of Early Season Vegetables of Souther Serbian Regions, 10<sup>th</sup> International Multidisciplinary Scientific Geoconferences: SGEM, Vol II, 665-667, Albena, Bulgaria, 2010

*M34 - Radovi saopšteni na skupovima međunarodnog značaja štampani u izvodu (0,5 bodova)*

2. Snežana Mitić, Branka Stojanović, Milan Stojković, Determination of total phenolic content in apple juices, First international congress engineering, materials and management in the processing industry, Book Of Abstracts, 168, Jahorina, 2009.
3. Snežana S. Mitić, Snežana B. Tošić, Aleksandra A. Pavlović, Milan B. Stojković, Milan N. Mitić, Branka T. Stojanović, Alkali and Alcaline Earth Metal Content of Early Season Vegetables of Souther Serbian Regions, 10<sup>th</sup> International Multidisciplinary Scientific Geoconferences: SGEM, Vol II, 665-667, Albena, Bulgaria, 2010.
4. B. T. Stojanović, S. S. Mitić . M. B. Stojković, M. N. Mitić, J.LJ. Pavlović, I. D. Rašić-Misić, Heavy metal content determination in domestic peaches, 13<sup>th</sup> Annual Conference, YUCOMAT, Book Of Abstracts, 157, Herceg Novi, 2011.
5. Rasić-Mišić, G. Miletić, S. Mitić, E. Pecev-Marinković, B. Stojanović, Spectrophotometric thetrodynamic Stdy of histidine catalytic impact on ampicilline determination in the presence of Ni(II) ions, Euranalysis XVI, Belgrade, 2011.
6. Jovana Pavlović, Snežana Mitić, Milan Mitić, Branka Stojanović, Dusan Paunović, Evalution of DPPH, FRAP, FRP antyohidant activity of thirteen diferent strawberry cultivars, XXII Congress of Chemists ond Technologist of Macedinia, Book Of Abstracts BFT-29, Septebar 5-9, Ohrid, Macedonia, 2012.
7. Dusan Đ. Paunović, Milan N. Mitić, Milan B. Stojković, Branka T. Stojanović, Danica S. Dimitrijević, Phenolic profiles of commercial dark beers from Serbia, nologist of Macedinia, Book Of Abstracts BFT-30, Septebar 5-9, Ohrid, Macedonia, 2012.
8. Snežana Mitić, Milan Mitić, Branka Stojanović, Milan Stojković, Dušan Paunović, Jovana Pavlović, Antioxidant activity of six apple cultivars in Serbia, nologist of Macedinia, Book Of Abstracts BFT-31, Septebar 5-9, Ohrid, Macedonia, 2012.
9. Jovana N. Veljković, Jelena M. Brcanović, Aleksandra N. Pavlović, Snežana B. Tošić, Milan B. Stojković, Dušan Đ. Paunović, Branka T. Stojanović, Total Polyphenol, Flavonoid Contents and Antioxidant Capacity of Chokeberry, 15<sup>th</sup> JCF-Frühjahrssymposium, march 6<sup>th</sup> -9<sup>th</sup>, 2013, Berlin, Germany.

*M64 – Radovi saopšteni na skupovima nacionalnog značaja štampani u izvodu (0,2 boda)*

10. Milan B. Stojković, Snežana S. Mitić, Branka T. Stojanović, Milan N. Mitić, Hidroksicimetne kiseline u vinogradarskim breskvama, XLVIII Savetovanje Srpskog hemijskog društva, Novi Sad, AH15, 2010.
11. Milan B. Stoilković, Jovana Lj. Pavlović, Branka T. Stojanović, Dusan Dj. Paunović, Aleksandra N. Pavlović, Antioxidant Power of *Geranium macrorrhizum* L. Extract, Prva konferencija mladih hemičara Srbije, Knjiga izvoda radova, XA P 26, 37, 19-20. Oktobar Beograd, 2012.
12. Aleksandra N. Pavlović, Jelena M. Brcanović, Jovana N. Krstić, Snežana S. Mitić, Ružica J. Micić, Milan B. Stoilković, Branka T. Stojanović, Correlation of antioxidative activity with total and individual polyphenolic compounds of dark chocolate, Druga konferencija mladih hemičara Srbije, Knjiga izvoda radova, HTH O 01, 5-7. juni, Niš 2014.



Прилог 1.

### ИЗЈАВА О АУТОРСТВУ

Изјављујем да је докторска дисертација, под насловом Хемијски састав и антиоксидативна активност метанолних и ацетонских екстраката пулпе и коре одабраних врста воћа са подручја Југоисточне Србије

- резултат сопственог истраживачког рада,
- да предложена дисертација, ни у целини, ни у деловима, није била предложена за добијање било које дипломе, према студијским програмима других високошколских установа,
- да су резултати коректно наведени и
- да нисам кршио/ла ауторска права, нити злоупотребио/ла интелектуалну својину других лица.

У Нишу, 17.11.2014.

Аутор дисертације: Бранка Т. Стојановић

Потпис докторанда:

Стојановић Бранка





---

Прилог 2.

**ИЗЈАВА О ИСТОВЕТНОСТИ ШТАМПАНЕ И ЕЛЕКТРОНСКЕ ВЕРЗИЈЕ ДОКТОРСКЕ  
ДИСЕРТАЦИЈЕ**

Име и презиме аутора: Бранка Т. Стојановић

Студијски програм: хемија

Наслов рада: Хемијски састав и антиоксидативна активност метанолних и ацетонских екстраката пулпе и  
коре

Ментор: Снежана Митић

Изјављујем да је штампана верзија моје докторске дисертације истоветна електронској верзији, коју сам предао/ла за уношење у **Дигитални репозиторијум Универзитета у Нишу**.

Дозвољавам да се објаве моји лични подаци, који су у вези са добијањем академског звања доктора наука, као што су име и презиме, година и место рођења и датум одбране рада, и то у каталогу Библиотеке, Дигиталном репозиторијуму Универзитета у Нишу, као и у публикацијама Универзитета у Нишу.

У Нишу, 17.11.2014.

Аутор дисертације:

Бранка Т. Стојановић

Потпис докторанда:

Стојановић Бранка



**Прилог 3.**

**ИЗЈАВА О КОРИШЋЕЊУ**

Овлашћујем Универзитетску библиотеку „Никола Тесла“ да, у Дигитални репозиторијум Универзитета у Нишу, унесе моју докторску дисертацију, под насловом: Хемијски састав и антиоксидативна активност метанолних и ацетонских екстраката пулпе и коре одабраних врста воћа са подручја Југоисточне Србије која је моје ауторско дело.

Дисертацију са свим прилозима предао/ла сам у електронском формату, погодном за трајно архивирање.

Моју докторску дисертацију, унету у Дигитални репозиторијум Универзитета у Нишу, могу користити сви који поштују одредбе садржане у одабраном типу лиценце Креативне заједнице (Creative Commons), за коју сам се одлучио/ла.

1. Ауторство
2. Ауторство – некомерцијално
3. Ауторство – некомерцијално – без прераде
4. Ауторство – некомерцијално – делити под истим условима
5. Ауторство – без прераде
6. Ауторство – делити под истим условима

(Молимо да подвучете само једну од шест понуђених лиценци; кратак опис лиценци је у наставку текста).

У Нишу, 17.11. 2014.

Аутор дисертације: Бранка Т. Стојановић

Потпис докторанда:

Бранка Т. Стојановић