

УНИВЕРЗИТЕТ У БЕОГРАДУ
ФАРМАЦЕУТСКИ ФАКУЛТЕТ

Урош Д. Чакар

**ПОЛИФЕНОЛНИ САСТАВ И
АНТИОКСИДАТИВНА СВОЈСТВА ВОЋНИХ
ВИНА И ЊИХОВ УТИЦАЈ НА ЕНЗИМСКЕ
СИСТЕМЕ *IN VITRO***

докторска дисертација

Београд, 2020

UNIVERSITY OF BELGRADE
FACULTY OF PHARMACY

Uroš D. Čakar

**PHENOLIC PROFILE AND ANTIOXIDANT
PROPERTIES OF FRUIT WINES AND THEIR
INFLUENCE ON ENZYMATIC SYSTEMS
*IN VITRO***

Doctoral Dissertation

Belgrade 2020

КОМИСИЈА ЗА ОДБРАНУ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ:

Др sci Брижита Ђорђевић – ментор, редовни професор
Катедра за броматологију, Фармацеутски факултет,
Универзитет у Београду

Др sci Александар Петровић – ментор, доцент
Катедра за технологију врења и конзервирање
Пољопривредни факултет, Универзитет у Београду

Др sci Иван Станковић – редовни професор
Катедра за броматологију, Фармацеутски факултет
Универзитет у Београду

Датум _____

ЗАХВАЛНИЦА

Током рада на својој докторској дисертацији због јединствене теме и начина приступа у обради имао сам велику част да сарађујем са људима из различитих области науке и струке.

Изузетну захвалност дугујем мом поштованом ментору и професору Брижити Ђорђевић, на великој помоћи, сугестијама у раду, разумевању и сталној подршци.

Неизмерно се захваљујем мом поштованом ментору доценту Александру Петровићу, на идеји за ову докторску дисертацију која је настала након нашег првог разговора као и изузетној сарадњи, анализи резултата и подршци када год је то било потребно.

Велику захвалност дугујем и поштованом професору Ивану Станковићу на његовим сугестијама, разумевању и безграничној подршци у сваком тренутку.

Посебну захвалност дугујем професорки Влатки Вајс која је својим сугестијама несебично помогла и омогућила да се примени најсавременија доступна аналитика у експерименталном раду у оквиру ове дисертације. Такође, велику захвалност дугујем др sci Маријани Живковић и мастер хемичару Милану Јанковићу који су ми помогли у експерименталном делу и обради резултата.

Захвалност дугујем и др sci Александри Конић - Ристић на несебичним сугестијама везаним за експериментални рад. Такође се захваљујем и научном саветнику Татјани Станојковић и истраживачу сараднику Нађи Гроздних за помоћ током експерименталног рада. Посебно се захваљујем научном саветнику Весни Васић и научном сараднику Браниславу Настасијевићу на вредним саветима током обраде резултата.

Велику захвалност дугујем и ванредном професору Данијели Крстић, научном сараднику Мирјани Чоловић и доценту Бранислави Медић на изузетној сарадњи током заједничког експерименталног рада и сугестијама.

Захваљујем се винарији Панајотовић и власнику инжењеру прехранбене технологије Владимиру Панајотовићу на помоћи и саветима током производње узорака воћних вина.

Најновија научна достигнућа се не могу замислити без статистичке обраде података где велику захвалност за решавање нејасноћа и непознаница из ове области дугујем ванредном професору Јелени Векић и магистру математике Данијели Миленковић.

Да ова докторска дисертација као део светског научног блага буде још доступнија заслужни су моји пријатељи и колеге из Србије и целог света који су сажетак превели на 10 различитих светских језика. Тако се захваљујем мом пријатељу професору руског језика и књижевности Николи Ливади за превод на руски и италијански језик, колегама из Швајцарске Лионелу Видудезу (Lionel Vidoudez) и Флоријану Саркару (Florian Sarkar) за превод на француски и немачки језик, колеги и пријатељу из Шпаније Паблу Мартију Андресу (Pablo Martí Andrés) за превод на шпански језик, колеги и пријатељу Лоренсу Ксавијеру (Lawrence Xavier) из Бразила за превод на португалски. Такође захвалност дугујем и колегама и пријатељима са далеког истока и то Томију Чену (Tommy Chen) из Кинеског Тајпеја за превод на мандарински, професору Јошиту Замамију (Yoshito Zamami) и професорки Кајоко Такеди (Kayoko Takeda) за превод на јапански језик и доктору медицине Ким Јонгсоу (Kim Youngsoo) из Републике Кореје за превод на корејски језик.

Захваљујем се свима који су на директан и индиректан начин допринели да се ова докторска дисертација уради.

Такође, посебно се захваљујем мојој породици на стрпљењу, помоћи и подршци током лепих и тешких тренутака, због чега им посвећујем ову докторску дисертацију.

Ако желиш да те по нечему запамте или напиши нешто вредно читања или уради нешто вредно писања.

Бенџамин Френклин

ПОЛИФЕНОЛНИ САСТАВ И АНТИОКСИДАТИВНА СВОЈСТВА ВОЋНИХ ВИНА И ЊИХОВ УТИЦАЈ НА ЕНЗИМСКЕ СИСТЕМЕ *IN VITRO*

САЖЕТАК

Воћна вина испитивана у оквиру ове докторске дисертације произведена су од аутохтоних и успешно интродукованих сорти воћа, углавном, пореклом из Србије.

У производњи вина коришћено је бобичасто (аронија, боровница, малина, купина), јагодичасто (јагода), коштичаво (вишња, трешња, шљива, брескав, кајсија) и јабучасто воће (јабuka). Дата вина добијена су контролисаним поступком микровинификације - чиста култура одговарајућег квасца додата је да се започне алкохолно врење. Сем тога шећер и ензимски препарат гликозидаза (ЕПГ) додати су у половину узорака пре почетка алкохолног врења.

Праћено је како поступак производње поменутих воћних вина утиче на њихов хемијски састав (полифеноли) и биолошку активност (антиоксидативни потенцијал и анти α -глукозидазну активност). Поред тога одређени су и основни параметри квалитета воћних вина.

Добијени експериментални подаци указују да додаток шећера и ЕПГ (појединачно и заједно) доводи до повећања садржаја, како квантификованих полифенола, тако и антиоксидативног потенцијала узорака воћних вина. Са друге стране, употреба различитих квасаца није условила статистички значајну разлику. По садржају квантификованих полифенола истакла су се вина од боровнице и ароније. Узорци вина од ароније и вишње предњачили су по садржају укупних полифенола. Бољу анти α -глукозидазну активност показала су вина са додатком шећера и ЕПГ-а. Као најактивнији истакли су се узорци вина од боровнице и ароније, између осталог, због садржаја хлорогене, кафеинске и протокатехуинске киселине. Молекуларном докинг студијом потврђена је дата био-активност одабраних појединачних полифенола. Коначно, иста група узорака вина (са додатком шећера и ЕПГ), активирала је ензиме антиоксидативне заштите. Узорци вина од купине и боровнице највише су активирали дате ензиме, док се вино од ароније истакло по степену снижења липидне пероксидације.

Свеукупно посматрано, дата вина могу се посматрати као потенцијално нова функционална намирница.

Кључне речи: воћно вино, полифеноли, антиоксидативност, анти α -глукозидазна активност, ензими антиоксидативне заштите

Научна област: Медицинске науке

Ужа научна област: Броматологија

PHENOLIC PROFILE AND ANTIOXIDANT PROPERTIES OF FRUIT WINES AND THEIR INFLUENCE ON ENZYMATIC SYSTEMS *IN VITRO*

ABSTRACT

Fruit wines analyzed in this doctoral dissertation were produced from autochthonous and successfully introduced fruit species mainly originating from Serbia.

For wine production were used berry (black chokeberry, blueberry, raspberry, blackberry, strawberry), drupe (cherry, sweet cherry, plum, peach, apricot) and pome (apple) fruit. The wines were obtained by the controlled process of microvinification - pure culture of selected yeasts was added to start alcoholic fermentation. Beside it in the half of the samples before the start of the fermentation were added sugar and enzymatic preparation glycosidase (EPG).

It was followed in which way the production process of the above mentioned fruit wines influence on chemical composition (polyphenols) and biological activity (antioxidant potential and anti α -glucosidase activity). Beside it the basic parameters of the wine quality have also been determined.

Obtained experimental data indicated that the addition of sugar and EPG (individually and together) lead to the increased content of quantified polyphenols and antioxidant potential of fruit wine samples. The usage of different yeasts did not show any significant statistical difference. By the content of quantified polyphenols blueberry and black chokeberry wines were highlighted. The wine samples of black chokeberry and cherry can be emphasized by the total phenolic content. Better anti α -glucosidase activity have shown wines with addition of sugar and EPG. The most active were blueberry and black chokeberry wine samples due to its content of chlorogenic, caffeic and protocatehuic acids. Molecular docking study confirmed bioactivity of selected polyphenols. Finally, the same group of wine samples (with sugar and EPG addition) activated the enzymes of antioxidant protection. Blackberry and blueberry wine samples activated the most of those enzymes, while black chokeberry wine stood out by the lowering of lipid peroxidation degree.

Overall fruit wines can be observed as a potential new functional food.

Key words: fruit wine, polyphenols, antioxidant, anti α -glucosidase activity, enzymes of antioxidant protection

Academic Expertise: Medical science

Field of Academic Expertise: Bromatology

СОСТАВ ПОЛИФЕНОЛА И АНТИОКСИДАТИВНЫЕ СВОЙСТВА ФРУКТОВЫХ ВИН И ИХ ВЛИЯНИЕ НА ФЕРМЕНТНЫЕ СИСТЕМЫ *IN VITRO*

РЕЗЮМЕ

Фруктовые вина, проанализированные в этой докторской диссертации, были произведены из автохтонных и успешно внедренных сортов фруктов, в основном из Сербии.

В производстве вина были использованы ягоды (черноплодная рябина, черника, малина, ежевика, клубника), фрукты с косточкой (вишня, черешня, слива, персик, абрикос) и семечковые (яблочных) фрукты. Вина были получены путём контролируемого процесса микровинификации - чистая культура отборных дрожжей была добавлена для начала алкогольной ферментации. Помимо этого в половину образцов перед началом ферментации добавляли сахар и ферментный препарат гликозидазу (EPG).

Отслеживалось, как процесс производства вышеупомянутых фруктовых вин влияет на химический состав (полифенолы) и биологическую активность (антиоксидантный потенциал и анти-α-гликозидазная активность). Кроме того, были определены основные параметры качества вина.

Полученные экспериментальные данные показали, что добавление сахара и EPG (по отдельности и вместе) приводит к увеличению содержания количественно выраженных полифенолов и антиоксидантного потенциала образцов фруктовых вин. Использование разных дрожжей не показало какой-либо существенной статистической разницы. По содержанию количественно выраженных полифенолов выделялись черничные и черноплодные вина. Образцы вина из черноплодной рябины и вишни могут быть подчеркнуты общим содержанием фенолов. Лучшую анти-α-гликозидазную активность показали вина с добавлением сахара и EPG. Наиболее активными были образцы ежевики и черники из-за содержания в них хлорогеновой, кофейной и протокатехойной кислот. Молекулярное док-исследование подтвердило биоактивность выбранных полифенолов. В конце концов, та же группа образцов вина (с добавлением сахара и EPG) активировала ферменты антиоксидантной защиты. Образцы вин из ежевики и черники активировали большинство этих ферментов, в то время как чёрное черноплодное вино выделялось снижением степени перекисного окисления липидов.

В целом фруктовые вина могут рассматриваться как потенциальные новые функциональные продукты питания.

Ключевые слова: фруктовое вино, полифенолы, антиоксидант, анти-α-гликозидазная активность, ферменты антиоксидантной защиты.

Академическая экспертиза: медицинские науки

Область академической экспертизы: Броматология

PROFIL PHÉNOLIQUE ET PROPRIÉTÉS ANTIOXYDANTES DES VINS DE FRUITS ET LEUR INFLUENCE SUR LES SYSTÈMES ENZYMATIQUES *IN VITRO*

RÉSUMÉ

Les vins de fruits utilisés dans cette dissertation doctorale ont été produits à partir d'espèces de fruits autochtones introduites de manière réussie et étant surtout originaires de Serbie.

Des baies (aronia, fraise, framboise, myrtille, et mûre), de la pulpe (cerise, cerise douce, prune, pêche et abricot) et des pommes ont été utilisées pour la production de vin. Les vins ont été obtenus grâce à un procédé contrôlé de micro-vinification – une culture pure de levures sélectionnées a été ajoutée pour commencer la fermentation alcoolique. En aparté, du sucre et une préparation enzymatique de glycosidase (EPG) ont été ajoutés à la moitié des échantillons.

La manière dont le procédé de production des vins de fruits susmentionnés influence la composition chimique (polyphénols) et l'activité biologique (par potentiel antioxydant, et activité de l'anti- α glucosidase) a été étudié. De plus les paramètres de base de la qualité du vin ont aussi été déterminés.

Les données expérimentales obtenues indiquent que l'addition de sucre et d'EPG (de manière indépendante et ensemble) montrent une augmentation du contenu des polyphénols quantifiés et du potentiel antioxydant dans les échantillons de vin de fruit. L'utilisation de différentes levures n'a pas démontré de différence statistiquement significative. La myrtille et l'aronia ont été mises en avant, grâce à la quantification du contenu en mis en avant. Une meilleure activité de l'anti- α -glucosidase a été détectée dans les vins où il y a eu addition de sucre et d'EPG. Les échantillons les plus actifs étaient ceux du vin de myrtille et d'aronia, du à leur contenu en acides chlorogénique, caféique et protocatechique. Une étude d'arrimage moléculaire a confirmé la bioactivité des polyphénols sélectionnés. Finalement le même groupe d'échantillons de vins (avec addition de sucre et d'EPG) a activé les enzymes de protection anti-oxydante. Les échantillons de vin de myrtille et de mûre ont activés la plus part de ces enzymes, tandis que le vin d'aronia ressortait de par son abaissement du degré de peroxydation lipidique.

De manière générale, les vins de fruits peuvent être considérés comme un potentiel de nouvelle nourriture fonctionnelle.

Mots clés: vin de fruit, polyphénols, antioxydant, activité de l'anti- α -glucosidase, enzymes de protection anti-oxydante.

Expertise Académique: Science médicale

Champ d'expertise académique: Bromatologie

PHENOLISCHES PROFIL UND ANTIOXIDIERENDE EIGENSCHAFTEN VON FRUCHTWEINEN UND IHR EINFLUSS AUF ENZYMATISCHE SYSTEME *IN VITRO*

SYNOPSIS

In dieser Dissertation wurden Fruchtwine analysiert, welche aus der Produktion einheimischer unterfolgreich etablierter Obstbauern der Region Serbien stammen.

Für die Weinherstellung wurden verwendet Beeren (Aroniabeeren, Heidelbeere, Himbeere, Brombeere, Erdbeere), Steinobst (Kirsche, Wildkirsche, Pflaume, Pfirsich, Aprikose) und Kernobst (Äpfel). Die Weine wurden in Kleinkellereien produziert, wobei die Vergärung zu Alkohol durch die Zugabe von Reinzuchthefen erfolgte. Zusätzlich wurde in der Hälfte der Proben vor der Gärung Zucker und eine enzymatische Enzymatische-Glucosidase-Zubereitung (EGZ) hinzugefügt.

Es wurde untersucht, wie die Herstellungsprozesse der oben genannten Fruchtwine die chemische Zusammensetzung (Polyphenole) und die biologische Aktivität (antioxidatives Potential und Anti- α -Glucosidase-Aktivität) beeinflussen. Zudem wurden auch Grundparameter der Weinqualität bestimmt..

Die gewonnenen experimentellen Daten legen nahe, dass der Zusatz von Zucker und EGZ (sowohl einzeln als auch kombiniert) den Gehalt quantifizierter Polyphenole und das antioxidative Potential der Fruchtwineproben erhöht. Der Gebrauch unterschiedlicher Hefen zeigte keinen statistisch signifikanten Unterschied. Gemessen am Gehalt quantifizierter Polyphenole, sind Heidel- und Aroniabeere besonders hervorzuheben. Aroniabeere und Kirsche zeichneten sich durch den höchsten Gehalt an Gesamtpolyphenolen aus. Eine höhere Anti- α -Glucosidase-Aktivität konnte in den Weinen mit zugesetztem Zucker und EGZ gezeigt werden. Die höchste Aktivität zeigten Brombeer- und Heidelbeerwein wegen ihres Gehalts an Chlorogen-, Kaffee- und Protocatechusäure. Untersuchungen des molekularen Dockings bestätigte die Bioaktivität ausgewählter Polyphenole. Die gleiche Gruppe von Weinproben (mit Zucker- und EGZ-Zusatz) aktivierte Enzyme mit oxidativer Schutzfunktion. Brombeer- und Heidelbeerweinproben aktivierten diese Enzyme am stärksten, während Aroniabeerenwein sich durch die Reduktion der Lipidperoxidation auszeichnete.

Zusammenfassend bieten Fruchtwine ein Potential als neues Functional Food..

Suchbegriffe: Wein, Fruchtwine, Antioxidanz, Anti- α -Glucosidase-Aktivität, Antioxidative Enzyme

Bereich: Medizinische Wissenschaften

Fachgebiet: Bromatologie

PERFIL FENÓLICO Y PROPIEDADES ANTIOXIDANTES DE LOS VINOS DE FRUTAS Y SU INFLUENCIA EN LOS SISTEMAS ENZIMÁTICOS *IN VITRO*

RESUMEN

Los vinos de frutas analizados en esta tesis doctoral se produjeron a partir de frutos procedentes de cultivos autóctonos y cultivos introducidos con éxito en Serbia.

Para la producción de vino se utilizaron (aronia negra, arándano, frambuesa, mora, fresa), drupáceas (cereza, cereza dulce, ciruela, durazno, albaricoque) y frutas de pepita (manzana). Los vinos se obtuvieron por un proceso controlado denominado microvinificación, consistente en la adición de cultivos puros seleccionados de levaduras para iniciar el proceso de fermentación alcohólica. Asimismo, se añadió azúcar y glucosidasa en la mitad de las muestras antes del inicio de la fermentación.

Se estudió cómo el proceso de producción de los vinos de frutas mencionados anteriormente influye en su composición química (polifenoles) y actividad biológica (potencial antioxidante y actividad anti- α glucosidasa). Además, también se determinaron parámetros básicos de calidad del vino.

Los datos experimentales obtenidos indican que la adición de azúcar y glucosidasa (individualmente y juntos) conduce a un mayor contenido de polifenoles cuantificados en las muestras, así como a un aumento del potencial antioxidante de los vinos de frutas. El uso de diferentes levaduras no mostró ninguna diferencia estadística significativa. Los vinos de arándano y aronia negra destacaron por su contenido en polifenoles. Los vinos de aronia negra y cereza se resaltaron por el contenido fenólico total. Aquellos vinos en cuya elaboración se adicionó azúcar y glucosidasa fueron los que presentaron mejor actividad anti- α glucosidasa. En este aspecto, los vinos que presentaron mejor actividad anti- α glucosidasa fueron los de mora y arándanos debido a su alto contenido en ácido clorogénico, cafeico y protocatéquico. Se confirmó la actividad biológica de ciertos polifenoles seleccionados mediante estudios de acoplamiento molecular. Finalmente, los vinos de frutas a los que se les añadió glucosa y glucosidasa activaron las enzimas antioxidantes. Las muestras de vino que produjeron una mayor activación de dichas enzimas fueron los vinos de mora y arándanos, mientras que el vino de aronia negra destacó por su capacidad de disminuir el grado de peroxidación lipídica.

En general, los vinos de frutas pueden ser considerados como un potencial nuevo alimento funcional.

Palabras clave: vino de frutas, polifenoles, antioxidante, actividad anti- α -glucosidasa, enzimas antioxidantes

Experiencia académica: Ciencias de la Salud

Área de especialización académica: Bromatología

PROFILO FENOLICO E PROPRIETÀ ANTIOSSIDANTI DEI VINI DI FRUTTA E LORO INFLUENZA SUI SISTEMI ENZIMATICI *IN VITRO*

ASTRATTO

I vini di frutta analizzati in questa tesi di dottorato sono stati prodotti dalle autoctone e con successo introdotte varietà di frutta principalmente di origine serba.

Nella produzione del vino erano usate bacche (aronia nera, mirtillo, lampone, mora, fragola), drupa (ciliegia, prugna, pesca, albicocca) e pomacee (mela). I vini sono stati ottenuti dal processo controllato di microvinificazione: ci è stata aggiunta la coltura pura di lieviti selezionati per iniziare la fermentazione alcolica. Inoltre zucchero e l'allestimento enzimatico glicosidasi (EPG) sono stati aggiunti in una metà dei campioni prima dell'inizio della fermentazione.

Così è stato seguito in quale modo il processo di produzione dei vini di frutta soprannominati ha un effetto sulla loro composizione chimica (polifenoli) e l'attività biologica (potenziale antiossidante e attività anti- α glucosidasi). Inoltre sono stati determinati i parametri di base della qualità del vino.

I dati sperimentali ottenuti hanno indicato che l'aggiunta di zucchero ed EPG (individualmente e insieme) porta ad un aumento del contenuto sia di polifenoli quantificati che alla potenziale antiossidante dei campioni di vino di frutta. L'uso di lieviti diversi non ha mostrato alcuna differenza statistica significativa. Dal contenuto di polifenoli quantificati si distinguono i vini di mirtillo e di aronia nera. I campioni di vino di aronia nera e ciliegia sono preceduti dal contenuto fenolico totale. I vini con l'aggiunta di zucchero ed EPG hanno mostrato una migliore attività anti- α della glucosidasi. I più attivi sono stati i campioni di vino di mora e mirtillo a causa del suo contenuto di acidi clorogenico, caffeico e protocatechuico. Lo studio di docking molecolare ha confermato la bioattività di polifenoli selezionati. Infine, lo stesso gruppo di campioni di vino (con l'aggiunta di zucchero e EPG) ha attivato gli enzimi di protezione antiossidante. I campioni di vino di mora e mirtillo hanno attivato la maggior parte di quegli enzimi, mentre il vino di aronia nera si è distinto per l'abbassamento del grado di perossidazione lipidica.

Tutto sommato, i vini di frutta possono essere considerati un potenziale nuovo alimento funzionale.

Parole chiavi: vino di frutta, polifenoli, antiossidante, attività anti- α glucosidasi, enzimi di protezione antiossidante

Competenza accademica: scienze mediche

Campo di competenza accademica: Bromatologia

PERFIL FENÓLICO E PROPRIEDADES ANTIOXIDANTES DE VINHOS DE FRUTA E SUA INFLUÊNCIA EM SISTEMAS ENZIMÁTICOS *IN VITRO*

RESUMO

Vinhos de frutas analisados nesta dissertação de doutorado foram produzidos de forma autóctone e sucessivamente introduzidos em cultivos de frutas em sua maioria originada da Sérvia.

Para a produção do vinho foram utilizadas frutas de baga (mirtilo, mirtilo negro, framboesa, amora, morango), drupa (cereja, doce de cereja, ameixa, pêssêgo, damasco) e pomo (maçã). Os vinhos foram obtidos pelo processo controlado de microvinificação e foi adicionado cultura pura de leveduras selecionadas para iniciar a fermentação alcoólica. Além disto, na metade das amostras antes do início da fermentação, foram adicionados açúcar e preparação enzimática glicosidade (PEG).

Foi seguido como o processo de produção dos vinhos de frutas acima mencionados, influenciando na composição química (polifenóis) e na atividade biológica (potencial antioxidante e atividade anti α glicosidase). Além disso, também foram determinados parâmetros básicos da qualidade do vinho.

Os dados experimentais obtidos indicaram a adição de açúcar e PEG (individualmente e em conjunto), levaram ao aumento do conteúdo de polifenóis quantificados e ao potencial antioxidante das amostras de vinho de frutas. O uso de leveduras diferentes não mostrou diferença estatística significativa. Pelo conteúdo de polifenóis quantificados, foram destacados os vinhos de mirtilo e arônia. As amostras de vinho de arônia e cereja podem ser enfatizadas pelo conteúdo fenólico total. Melhor atividade anti α glicosidase mostrou-se em vinhos com adição de açúcar e PEG. As que apresentaram maior atividade foram as amostras de vinho de amora e mirtilo, devido ao seu teor de ácidos clorogênico, cafeico e protocatehuico. O estudo de acoplamento molecular confirmou a bioatividade de polifenóis selecionados. Finalmente, o mesmo grupo de amostras de vinho (com adição de açúcar e PEG) ativou as enzimas de proteção antioxidante. Amostras de amora e vinho de mirtilo ativaram a maioria dessas enzimas, enquanto o vinho de arônia se destacou pela diminuição do grau de peroxidação lipídica.

De modo geral vinhos de frutas podem ser observados como um potencial novo alimento funcional.

Palavras-chave: vinho de frutas, polifenóis, antioxidante, atividade anti α glicosidase, enzimas de proteção antioxidante

Especialização Acadêmica: Áreas Médicas

Área de Especialização Acadêmica: Bromatologia

水果酒的酚类特征和抗氧化剂特性及其对体外酶体系的影响

摘要

本篇博士论文分析之水果酒原料主要来自本土原生水果与自塞尔维亚成功引进之水果品种。水果酒的制造原料包括莓果（野樱莓、蓝莓、蔓越莓、黑莓与草莓）、核果（樱桃、甜樱桃、李子、桃子与杏桃）与梨果（苹果）。并且透过微酿造控制程序—使用指定酵母品种纯化培养后进行酒精发酵—的过程获得水果酒。此外，半数的样本在酒精发酵前有加入糖以及酶制剂葡萄糖苷酶（enzymatic preparation glucosidase, EPG）。

随后，本研究将透过上述方式获得的水果酒品样本进行化学组成（多酚）与生物活性（抗氧化能力与抗 α 葡萄糖苷酶活性）比较，以了解制程的影响。此外，研究针对酒品质量基本指针进行评估。

分析获得的实验数据指出所有酒品样本中，加入糖以及EPG（分别加入与同时加入）者之多酚含量与具抗氧化能力成分均上升，但使用不同品种之酵母菌无统计上显著差异。原料方面，蓝莓与野樱莓为原料之酒品样本在多酚含量显著较多；而以野樱莓与樱桃为原料之样本则有较多总酚含量。加入糖与EPG之酒品样本有较佳的抗 α 葡萄糖苷酶活性，而活性最强的样本为以蓝莓与野樱莓为原料者，因其样本中含有漂木酸（chlorogenic acid）、咖啡酸（caffeic acid）与原儿茶酸（protocatechuic acid）等成分。分子嵌合研究确认了指定多酚成分的生物活性。最后，研究使用同组的酒品样本（是否加入糖与EPG）活化抗氧化保护性的酵素，黑莓与蓝莓的酒品样本能够活化最多的酵素，而野樱莓的酒品样本在降低脂质过氧化程度方面特别有效。

整体而言，水果酒可被视为具潜力的功能性食品。

关键词：水果酒、多酚、抗氧化、抗 α 葡萄糖苷酶活性、抗氧化保护性酵素

学术专业：医学科学

学术专业领域：食品学

フルーツワインのフェノール性プロファイルと抗酸化特性、およびそれらがVITROの酵素システムに及ぼす影響

要旨

この博士論文では、主にセルビアを起源とする自生の果実品種から生産されたフルーツワインを分析しました。

ワインの生産には小果、ベリー（ブラックチョークベリー、ブルーベリー、ラズベリー、ブラックベリー、ストロベリー）、核果（チェリー、スイートチェリー、プラム、ピーチ、アプリコット）、およびナシ状果（リンゴ）フルーツを使用した。これらのフルーツワインは、特定の酵母を用いたアルコール発酵の管理プロセスで醸造されたものです。発酵開始前のサンプルの半分には、砂糖と酵素調製グルコシダーゼ（EPG）を加えました。

フルーツワインへの砂糖やEPGの添加が化学組成（ポリフェノール類）と生物活性（抗酸化能と抗 α グルコシダーゼ活性）にどのように影響するかを分析しました。それに加えて、ワインの品質に関する基本的なパラメータも測定しました。

得られた実験データから、砂糖とEPGを（それぞれ個別に、もしくは同時に）添加すると、ポリフェノール類の含有量が増加し、フルーツワインの抗酸化能が増強することが示されました。一方、異なる酵母の使用は、これらの結果に有意な影響は与えませんでした。ブルーベリーやブラックチョークベリーを原料とするワインでは、特にポリフェノール類が多く含まれていました。また、ブラックチョークベリーやチェリーを原料とするワインには、フェノール類が多く含まれていました。砂糖やEPGを加えたワインでは、抗 α グルコシダーゼ活性が増強することも示されました。最も抗 α グルコシダーゼ活性が高いのは、クロロゲン酸、コーヒー酸、プロトカテク酸が多く含まれるブラックベリーやブルーベリーを原料とするワインでした。分子ドッキングスタディによっても、一部のポリフェノール類の生物活性が確認されました。最終的に、砂糖やEPGを添加したワインでは、酸化に関連する酵素の活性が増強していることが示されました。ブラックベリーやブルーベリーを原料とするワインで、酸化酵素の活性が最も高く、ブラックチョークベリーを原料とするワインでは脂質過酸化度の抑制作用が際立って高いことが明らかになりました。フルーツワイン全般は、潜在的な新しい機能性食品として利用できる可能性があ。

キーワード：フルーツワイン、ポリフェノール類、抗酸化剤、抗 α グルコシダーゼ活性、酸化酵素

専門領域：医学

学問分野：食品学

과일 와인의 페놀 프로파일 및 항산화 특성 및 생체 외의 효소 시스템에 대한 영향

초록

이 박사논문은 주로 세르비아로부터 성공적으로 유래된 자생종으로 생산된 과일 와인을 분석했다.

와인 생산을 위해, 베리류(블랙 초크베리, 블루베리, 라즈베리, 블랙베리, 딸기), 핵과(체리, 양앵두, 자두, 복숭아, 살구) 및 품(사과)가 사용되었다. 와인은 무균으로 배양된 선별된 효모를 이용하여 소량 포도주 양조방법으로 제조했다. 나머지 샘플 절반에는 발효 전 설탕과 효소 조제 글리코시다제(EPG)를 첨가했다.

앞서 언급한 과일 와인 생산 과정이 화학적 구성(폴리페놀)과 생물학적 활성(항산화제 전위 및 항 α -글루코시다아제 활성)에 어떤 영향을 미치는지 추적했다. 이는 또한 와인 품질의 기본적인 매개변수에 의해서도 좌우된다.

실험 데이터에 따르면 설탕과 EPG(각각 그리고 함께)를 첨가한 것이 정량적인 폴리페놀 함량을 증가시키고 과일 와인 샘플의 항산화 잠재성을 높인 것으로 나타났다. 다른 효모의 사용은 통계적으로 유의미한 차이를 보이지 않았다. 정량화된 폴리페놀 함량에서 블루베리와 블랙 초크베리 와인이 높았다. 블랙 초크베리와 체리 와인 샘플은 총 페놀 함량에서도 강점이 있었다. 설탕과 EPG를 첨가한 와인에서 항 α -글루코시다아제가 더 활성화된 것으로 나타났다. 가장 활성화된 것은 블랙베리와 블루베리 와인 샘플로, 이는 염소성 산, 카페인 산, 프로카테츄 산(Protocatechuic acid)함유 때문이었다. 분자 연결 연구를 통해 선택된 폴리페놀의 생체 활성을 확인했다. 마지막으로 같은 그룹의 와인 샘플(설탕 및 EPG 첨가)이 항산화제 효소를 활성화시켰다. 블랙 베리와 블루 베리 와인 샘플이 이러한 효소를 가장 활성화시켰으며, 블랙 초크 베리 와인은 지질 과산화 정도를 낮춰 눈길을 끌었다.

종합적으로 과일 와인은 새로운 기능성 식품으로서의 가능성이 있다.

주요 단어 : 과일 와인, 폴리페놀, 항산화제, 항 α -글루코시다아제 활성, 항산화제 보호 효소

학술적 전문성 : 의료 과학

학문적 전문 분야 : 식품학

САДРЖАЈ

1. УВОД	1
2. ОПШТИ ДЕО	3
2.1. ВОЋНА ВИНА	3
2.2. ВОЋЕ КАО СИРОВИНА ЗА ПРОИЗВОДЊУ ВИНА	4
2.2.1. Услови који утичу на гајење квалитетног воћа	4
2.2.2. Бобичасто и јагодичасто воће	4
2.2.3. Јабука	5
2.2.4. Вишња	5
2.2.5. Трешња	5
2.2.6. Шљива	5
2.2.7. Бресква	6
2.2.8. Кајсија	6
2.3. ПОЛИФЕНОЛНА ЈЕДИЊЕЊА У ВОЋНИМ ВИНИМА	6
2.3.1. Фенолне киселине	7
2.3.2. Флавоноиди	8
2.4. БИОСИТЕЗА ПОЛИФЕНОЛНИХ ЈЕДИЊЕЊА У БИЉКАМА	12
2.5. УНОС ПОЛИФЕНОЛА ВОЋЕМ И ВОЋНИМ ВИНИМА	14
2.6. ЕНЗИМИ АНТИОКСИДАТИВНЕ ЗАШТИТЕ И ЛИПИДНА ПЕРОКСИДАЦИЈА	15
2.7. ПОЗИТИВАН УТИЦАЈ ВОЋНИХ ВИНА НА ЗДРАВЉЕ	19
3. ЦИЉЕВИ ИСТРАЖИВАЊА	21
4. МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ	22
4.1. УЗОРЦИ ВОЋА	22
4.2. МИКРОВИНИФИКАЦИЈА	22
4.3. СТАНДАРДИ, РАСТВОРАЧИ И ХЕМИЈСКИ РЕАГЕНСИ	23
4.4. КОРИШЋЕНА ОПРЕМА	23
4.5. ОДРЕЂИВАЊЕ ФИЗИЧКО ХЕМИЈСКИХ ПАРАМЕТАРА ВОЋНИХ ВИНА	24
4.6. ПРИПРЕМА УЗОРКА	25
4.7. ОДРЕЂИВАЊЕ ХЕМИЈСКОГ САСТАВА И БИОЛОШКЕ АКТИВНОСТИ ВОЋНИХ ВИНА	26
4.7.1. Антиоксидативна активност (метода FRAP)	26
4.7.2. Анти-DPPH радикалска активност	26
4.7.3. Садржај укупних полифенола (метода по FOLIN-CIUCALTEU)	26
4.7.4. Полифенолни профил	26
4.7.4.1. Систем UPLC-TQ-MS/MS (експеримент 1 и 2)	26
4.7.4.2. Линеарна регресиона анализа, лимити детекције (LOD) и лимити квантификације (LOQ) за изабрана полифенолна једињења (експеримент 1 и 2)	33
4.7.5. Анти α -глукозидазна активност	34
4.7.6. Параметри оксидативног стреса	35
4.7.6.1. Изоловање синаптозома из мозга пацова	35
4.7.6.2. Третман синаптозома	35
4.7.6.3. Каталаза (CAT)	35
4.7.6.4. Глутатион пероксидаза (GPx)	36
4.7.6.5. Супероксид дисмутаза (SOD)	36
4.7.6.6. Садржај малон-диалдехида (MDA)	36
4.7.6.7. Концентрација протеина	36
4.7.7. Молекуларни докинг	37
4.8. СТАТИСТИЧКА ОБРАДА РЕЗУЛТАТА	37

5. РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЈА	38
5.1. ФИЗИЧКО-ХЕМИЈСКИ ПАРАМЕТРИ ВОЋНИХ ВИНА	38
5.1.1. Укупне киселине	38
5.1.2. рН вредност	39
5.1.3. Количина сумпор(IV)-оксида (SO ₂)	40
5.1.4. Количина укупне суве материја (шећера)	47
5.1.5. Садржај алкохола	47
5.2. РЕЗУЛТАТИ АНАЛИЗЕ СИСТЕМОМ UPLC-TQ-MS/MS	54
5.2.1. Експеримент 1 - вина од бобичастог, јагодичастог воћа и јабуке	54
5.2.2. Експеримент 1 - вина од коштичавог воћа	58
5.2.3. Експеримент 2 - вина од бобичастог воћа, вишње и јабуке	66
5.3. СПЕКТРОФОТОМЕТРИЈСКЕ МЕТОДЕ	77
5.3.1. FRAP	77
5.3.2. Анти-DPPH радикалска активност	83
5.3.3. Метода по FOLIN-CIUCALTEU	84
5.4. АНТИ α -ГЛУКОЗИДАЗНА АКТИВНОСТ	90
5.4.1. Воћна вина	90
5.4.2. Допринос појединачних полифенолних једињења вредностима IC ₅₀ узорака	98
5.4.3. Молекуларна докинг студија	104
5.4.4. Нутритивни значај воћних вина	109
5.5. УТИЦАЈ ВОЋНИХ ВИНА НА ПАРАМЕТРЕ ОКСИДАТИВНОГ СТРЕСА	110
5.5.1. Експериментални подаци	110
5.5.2. Здравствени ефекат	120
6. ЗАКЉУЧАК	123
7. ЛИТЕРАТУРА	125
8. БИОГРАФИЈА	141

КОРИШЋЕНЕ СКРАЋЕНИЦЕ

- PAL - *енгл.* Phenylalanine ammonia-lyase
CA4H - *енгл.* *trans*-Cinnamic acid 4-hydroxylase
4CL - *енгл.* Hydroxycinnamate:CoA ligase
COMT - *енгл.* Catechol-O-methyltransferase
CHS - *енгл.* Chalcone synthase
SOD - *енгл.* Superoxide dismutase
Cu-Zn-SOD - *енгл.* Copper zinc superoxide dismutase
Mn-SOD - *енгл.* Manganese superoxide dismutase
EC-SOD - *енгл.* Extracellular superoxide dismutase
TNF- α - *енгл.* Tumor necrosis factor alpha
GSH-Px - *енгл.* Glutathione peroxidase
GSH - *енгл.* Glutathione
GSSG - *енгл.* Glutathione disulfide
NADP - *енгл.* Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate
NAD - *енгл.* Nicotinamide adenine dinucleotide
CAT - *енгл.* Catalase
MDA - *енгл.* Malondialdehyde
LDL - *енгл.* Low-density lipoprotein
HDL - *енгл.* High-density lipoprotein
DMSO - *енгл.* Dimethyl sulfoxide
EDTA - *енгл.* Ethylenediaminetetraacetic acid
SPE - *енгл.* Solid phase extraction
LOD - *енгл.* Limit of detection
LOQ - *енгл.* Limit of quantification
PCA - *енгл.* Principal component analysis
HCA - *енгл.* Hierarchical cluster analysis
PEA - *срп.* Релативна ензимска активност
ЕПГ - *срп.* Ензимски препарат гликозидаза

1. УВОД

Историја вина је у веома тесној вези са људском цивилизацијом. Као културолошки феномен вино је имало важно место током историје. Овоме у прилог иде и чињеница да је технологија прераде грозђа и воћа у вино један од најстаријих поступака који људи данас користе. У Европи и Азији гајење грозђе и производња вина су пореклом са планине Кавказ (области данашњих држава Јерменије и Грузије), где су забележени трагови о виноградарској производњи још од 6000 године п.н.е. (McGovern, 2003). Поред овога и у Старом Египту, у долини Нила и Сумерији су још у 3. миленијуму п.н.е. производили вино. У Индији, један од најстаријих сачуваних текстова Чарка Самхита из 1500. године п.н.е. говори о значају вина у свакодневной исхрани, где чак истиче како вино позитивно утиче на људски организам тако што отклања умор, даје снагу и енергију, али и ствара осећај задовољства (Grivetti, 1991). Од давнина су се воћна вина производила истовремено са онима од грозђа. Коришћење грозђа или неког другог воћа за производњу вина зависило је од много чинилаца, где се посебно истичу географски положај и ондашњи климатски услови.

Поступцима укљученим у производњу вина добија се крајњи производ који има додатну вредност у односу на почетни. Вино показује потенцијална терапеутска својства, чему доприносе природна активна једињења као што су полифеноли, али и друга која показују позитиван ефекат на здравље. Воће и производи од њега у балансираној и разноврсној исхрани имају важно место тако да је потребно да се конзумирају редовно. Управо због овога, вино било да је произведено од грозђа или било ког другог воћа, заузима важно место у исхрани. Количине другог воћа (које није грозђе) произведеног у развијеним државама и државама у развоју расту сваке године. Србија значајно доприноси светским и европским статистикама везаним за производњу воћа. Томе у прилог иде податак да је Србија у врху као европски и светски произвођач малине и купине, али и коштичавог воћа као што је шљива (Strik et al., 2007). Најзначајније државе света произвођачи воћа су Кина, Индија, Бразил, САД, Италија, Мексико, Чиле, Јужноафричка Република и Нови Зеланд (Clarke et al., 2011). Данас се знатно више, у односу на грозђе произведе другог воћа као што су јабуке, коштичаво воће (трешње, вишње, брескве, шљиве), јагодичасто воће (јагоде), агруми (поморанце, мандарине), али и тропско воће као што су манго, ананас и банане. Део те велике произведене количине воћа, који није грозђе, се користи као сирово у исхрани, а остатак се прерађује. Један од производа који се тим путем добија је и воћно вино, које по својим нутритивним особинама и садржају природних активних једињења уопште не заостаје за онима произведеним од грозђа.

Поступак производње воћних вина се не разликује од онога који се примењује за производњу вина од белог и црног грозђа. Воћно вино се дефинише као производ који се добија алкохолним врењем воћног сока или концентроване воћне каше уз примену технолошких поступака за производњу вина. Од воћних вина се данас у свету највише производи сидер или вино од јабуке.

Савремена производња воћних вина, данас је веома развијена. Томе најбоље сведоче следеће бројке где је од 2004. године производња са 22,4 милијарде литара порасла на 24 милијарде литара у 2009. години. Европа се истиче као континент који је уједно и највећи потрошач воћних вина и то са 15,8 милијарди литара (док учествује у 70% укупне светске производње), Северна и Јужна Америка учествују са 4,6 милијарди, док Азија свега са 1,1 милијарду литара. У Европи се потроши око 14 милијарди литара сидера годишње, које произведе преко 180 званичних произвођача сидера и воћних вина (Association of the Cider and Fruit Wine Industry of the European Union, 2010). Последњих година добар светски и европски положај наше државе, као произвођача воћа, је утицао да се у Србији развије и производња воћних вина.

Производња воћних вина је данас раширена по целом свету, где је веома интересантно истаћи Јужну Америку и Азију познате по великом броју различитих воћних врста које су

искључиво везане за те делове света, а користе се за производњу вина. Управо ове биљне врсте, како свеже тако и прерађене у виду сока и воћног вина, због свог пријатног укуса, али и високог садржаја витамина, минерала и других нутријената имају важно место у исхрани. Још један разлог због чега је вино изузетно богат извор нутријената је и чињеница да се вино не дестилише. Због тога се термолабилна једињења као што су полифеноли, који показују значајне позитивне здравствене ефекте, не разлажу, у односу на жестока алкохолна пића. (Joshi et al., 1999). Управо умерено конзумирање вина, било да је од гроздја или воћа, може да заштити људски организам од могућности за настанак многих хроничних незаразних болести као што су кардиоваскуларне болести, карцином, мождани удар, дијабетес, хипертензија, пептички улкус и камен у бубрегу (Jindal, 1990; Joshi et al., 1999; Stockley, 2011). Због свих позитивних ефеката конзумирање ових вина као потенцијалних функционалних намирница постаје све чешће (Heinonen et al., 1998; Negi and Dey, 2009; Scalbert et al., 2005).

Производња воћних вина је јединствена са мултидисциплирног аспекта, јер у себи обједињује знања и вештине из физике, хемије и биотехнологије, која су практично усмерена на решавање проблема и добијање што бољег крајњег производа.

2. ОПШТИ ДЕО

2.1. ВОЋНА ВИНА

Вино је намирница према Codex Alimentarius-у који истиче да је намирница све што људи прерађено, полупрерађено и сирово конзумирају, а ту се убрајају и пића (Burlingame, 2008). Поред тога велики научници, међу којима се посебно истиче Луј Пастер, сматрали су да је вино најздравије и најчистије пиће на свету, те га је и често називао хемијском симфонијом.

Вино је производ настао потпуним или делимичним алкохолним врењем свежег грожђа, шире (сока од грожђа) или кљука (измуљаног грожђа) сорти винове лозе чије је гајење дозвољено у Републици Србији (Правилник о квалитету и другим захтевима за вино, Службени гласник РС, 26/2015, 2015) или неког другог воћа као што су јабука, шљива, бресква, кајсија, јагода, малина, боровница и аронија. Изузев истакнутог свако друго воће може се користити за производњу вина. Алкохолно врење или ферментација је сложен биохемијски процес у којем се, под дејством ензима ћелија квасца, из шећера добијају етил алкохол (етанол), CO_2 као главни и низ других производа које сврставамо у примарне и секундарне нуспроизводе врења. Воћна вина су ферментисани производи воћа који се могу добити од било ког плода воћа чији сок подлеже алкохолном врењу.

Поред тога што је намењено уживању, вино, било да је реч о ономе произведеном од грожђа или било ког другог воћа, показује позитивне утицаје на људски организам што је било и предмет проучавања многих аутора. Један од феномена који то потврђује, а односи се на вино од грожђа је и француски парадокс (Gronbaek et al., 1995; Klatsky and Armstrong, 1993). Вино је богат извор минерала, витамина (витамин Ц и витамини Б групе - B_1 , B_2 , B_{12}), воћних киселина и фенолних једињења. Разлог за то је чињеница да се вино не дестилише као друга алкохолна пића при чему се термолабилни нутријенти уништавају. Током производње вина велики број биоактивних једињења се ослобађа из воћа у етанолно - водени раствор чиме она постају боље биоискористљива (Shahidi, 2009). Позитиван здравствени утицај вина на људски организам је везан и за чињеницу да етанол показује антимицробни ефекат, док су фенолна једињења та која су одговорна за антиоксидативне особине вина. Из ове групе једињења посебно се истиче резвератрол чији су садржај и биолошка активност проучавани у винима од грожђа (Nijveldt et al., 2001). Већина вина, било да су од грожђа или неког другог воћа се производе да буду негазирана, што није случај са онима која су пенушава и која имају одређену количину угљен диоксида. Према његовом садржају вина се деле на мирна (притисак у боци на 20°C до 0,5 bara) и пенушава. Веома је интересанто објаснити појам сидер, који се у Великој Британији и Француској дефинише као вино од јабуке или ферментисани сок од јабуке. Са друге стране океана, у САД-у, сидер се дефинише као ферментисани или неферментисани сок од јабуке који може да буде без или до 1,5% алкохола. Такође, може да садржи и од 5 до 8% алкохола. Вино од јабуке садржи преко 8% алкохола, а може да буде и до 14%. Сорте воћа су, такође, битне тако да и поред тога што се сидер може произвести од било које сорте јабуке постоје ипак оне које се истичу по високом садржају шећера и полифенола и које дају најбољи крајњи производ. Поред сидера у Француској се производи воћно вино од крушке које се зове "poire" (Belitz, 1987). Нека воћа као што су јабуке, вишње, шљиве, брескве, кајсије, јагоде и бобичасто воће се знатно чешће користе у производњи вина и то чак у различитим деловима света (Joshi, 2009). Република Кореја има дугу традицију производње вина од купине и шљиве (Cho et al., 2013; Kang et al., 2008). Интересанто је истаћи да постоје и медицинска вина која садрже у себи неколико лековитих биљака и показују здравствени ефекат, често су слатког укуса и садрже од 18 до 20% алкохола (Joshi, 2009).

Поступак винификације укључује велики број биохемијских реакција које се одвијају захваљујући ензимима различитих квасаца и то на првом месту из рода *Saccharomyces cerevisiae* који имају главну улогу током алкохолног врења (Moreno-Arribas and Polo, 2005). Производња вина од грозђа је један поступак који је током векова до данас доведен до савршенства, поготово у државама где то има важну улогу у друштвеном производу.

Производња воћних вина је у основи иста као и оних од грозђа (Joshi, 2009). Поред тога постоје специфичности у производњи воћних вина, а то су: да је веома тешко у поређењу са грозђем екстраховати шећере и друге материје из плодова неких воћки и да сок добијен од већине воћки има низак садржај шећера, а висок садржај киселина у поређењу са грозђем (Swami et al., 2014; Joshi, 2009).

2.2. ВОЋЕ КАО СИРОВИНА ЗА ПРОИЗВОДЊУ ВИНА

2.2.1. Услови који утичу на гајење квалитетног воћа

Посматрајући воћно вино као крајњи производ, најпре је потребно истаћи сировину од које се оно производи, воће. Под воћем се подразумевају плодови различитих врсти воћака умерено топлог, суптропског и тропског подручја као и самониклих вишегодишњих дрвенастих биљака које се користе у исхрани у сировом стању. За добијање квалитетног и здравствено безбедног воћног вина битно је да се користи воће које је, такође, квалитетно. На воће утичу фактори средине у којој расте, али и они који су везани за саму биљку. Фактори средине познати су под француским појмом, *тероар*, који дефинише утицај земљишта, сорте, подлоге на коју се калема биљка, микроклиме и људског фактора на биљку. Утицај земљишта на квалитет воћа, па самим тим и вина је најважнији у старим воћњацима који немају наводњавање, већ количина воде и минерала које биљка добија зависе од типа подлоге. Воћарске културе које успевају у сувим климатским зонама имају потребу за наводњавањем кап по кап чиме се обезбеђује довољно влаге, а кроз исту некад могу да се обезбеде и минералне материје. Клима је, такође, битан фактор. Тако разлика између дневне и ноћне температуре, сунчево зрачење, влажност ваздуха и ваздушна струјања спадају у оно што ствара такозвану макроклиму, док на микроклиму може да утиче непосредно управљање и сам начин на који се брине о воћњаку. На првом месту ту је најважније истаћи коришћење вештачког ђубрива које може у великој мери да утиче на принос и квалитет воћа (Strik et al., 2007).

Садржај нутријената у воћу зависи од зрелости и начина узгајања. Прво што утиче на квалитет воћа јесте температура средине, док неки од осталих утицаја подразумевају количину падавина, осунчаност, влажност ваздуха, ветар, земљиште, али и комбинацију свих њих. Различит начин гајења, такође, утиче на састав воћа, па тако и коришћење вештачког ђубрива утиче на зрелост и то посебно на садржај шећера који је веома битан за садржај етанола у вину. Чињеница која охрабрује произвођаче воћних вина је да је годишња производња воћа 1996. године у свету била 469 милиона тона и наставља да расте сваке године у просеку за 1,6% (Barbosa-Canovas et al., 2003). На основу изгледа плодова воће се може поделити на бобичасто (боровница), јагодичасто (јагода), коштичаво (трешња, кајсија), јабучасто (јабука, крушка), језграсто (орех, лешник), цитрусе (лимун, поморанџа), егзотично (банане, манго) и диње.

2.2.2. Бобичасто и јагодичасто воће

Бобичасто и јагодичасто воће чине многе самоникле и гајене биљке. Тако у ову групу спадају купине, боровнице, малине, рибизле, јагоде... Род *Vaccinium* (у кога спада боровница) чини преко 100 врсти листопадних и зимзелених жбунастих биљака и ниског дрвенастог растиња. Неке од тих биљака су и од великог економског значаја у одређеним деловима света (Северна Америка) где се боровнице, рибизле и бруснице производе на земљишту које није много плодно и које би без ових култура било некоришћено (Jackson and Looney, 1999).

Род *Rubus* чине малине које спадају у подрод *Idaeobatus* који се разликује од купина чији је подрод *Eubatus*. Европска малина има назив *Rubus idaeus* и као једна од 400 врсти у оквиру рода може да се нађе у већини европских држава као и у Северној Америци. Томе у прилог иде и чињеница да је Србија водећи европски и међу пет светских произвођача овог воћа веома високог квалитета (Strik et al., 2007; FAO, 2012). Јагода је воће које је широко заступљено у умереном и континенталном климатском појасу и употребљава се чешће као сирова него прерађена. Производња јагоде у Србији је била 30 106 t (FAO, 2017). Погодна је за производњу вина.

2.2.3. Јабука

Јабука, *Malus domestica*, Borkh., је воће које се гаји у већем делу света са умереном климом, док се у суптропском климатском појасу гаји у пределима веће надморске висине. Основна је сировина за производњу сидера. Постоје посебне сорте јабука од којих се добија сидер, али у неким државама је могуће да се он произведе од мешавина сорти, тј. оних намењених за сидер и оних сорти намењених за конзумирање. Јабука је друга најзначајнија воћка по производњи у Србији и као таква учествује у укупној производњи воћа са 19%. Производња јабука у Србији је 2017 године према званичним подацима била 378 644 t, што Србију сврстава у групу од 20 водећих светских произвођача (FAO, 2017). Управо производњи доприносе погодни природни услови, али и поред тога просечан принос по становнику је низак. Разлог за то је тај што више од половине засада је у брдско-планинским пределима, где се гаје аутохтоне сорте које имају различиту родност и квалитет. Овај проблем је препознат у Србији и решава се увођењем нових висококвалитетних сорти отпорних на стрес и подизањем савремених засада са наводњавањем чиме се повећава принос.

2.2.4. Вишња

Вишња, *Prunus cerasus*, је воће кога карактерише укус који је киселији него код трешња. У Србији се вишња гаји у предпланинским крајевима са благим нагибом, најчешће оријентисаних источно и југоисточно, и на земљишту умерене влажност. Вишња се користи сирова, али већи део произведен у Србији се преради. За производњу вина вишња је веома захвална, јер даје крајњи производ који има изузетно лепу арому. Србија је шести светски произвођач вишње и то са 91 659t се налази испред САД-а (FAO, 2017).

2.2.5. Трешња

Трешња, *Prunus avium*, је воће које се конзумира свеже, али и у прерађеном облику (компоти и џемови). Порекло овог воћа се везује за планину Кавказ и средњи исток. Трешња се веома брзо проширила светом захваљујући птицама којима су плодови били веома укусни па је и због тога трешња добила назив *Prunus avium*. У Србији се гаји у брдовитим крајевима у условима који одговарају вишњама. За разлику од вишње, производња трешње у Србији је знатно нижа и износила је 27 323t (FAO, 2017).

2.2.6. Шљива

Шљива, *Prunus domestica*, је воће које се разликује од другог коштичавог воћа као што су брескве, трешње и вишње према изгледу пупољка. Укус шљиве може да буде слadak или горак и зависи од степена зрелости. Воће је веома сочно и може да се једе свеже или прерађено у џем и алкохолно пиће. Шљива је најзначајније воће у пољопривредној производњи Србије где са 330 582 t обезбеђује нашој земљи треће место на свету и то испред јаким пољопривредних држава као што су Чиле, Турска, Иран, Италија и САД (FAO, 2017). Већи део произведене шљиве у Србији се суши или користи за производњу ракије.

2.2.7. Бресква

Бресква, *Prunus persica*, је листопадно дрво које води порекло из северо-западног дела Кине где је први пут почела да се гаји. Даје јестиви сочни плод који је веома погодан за прераду у вино. Кина је први светски произвођач овог воћа, а у томе је прати и Индија. Бресква има мање киселина него друго коштичаво воће (шљива и кајсија), али високи садржај пектина и других полисахарида што захтева додаток воде да би вино било прихватљиво и са сензорне стране (Joshi et al., 2005). Србија има климатске услове који су веома погодни за узгајање овог воћа и то посебно на падинама дуж Дунава недалеко од Гроцке. Производња овог воћа у нашој земљи је износила 80 578t (FAO, 2017).

2.2.8. Кајсија

Кајсија, *Prunus armeniaca*, је биљка којој је потребно хладно време, да је заштити током вегетативног мировања. Суво и сунчано време је потребно у пролеће, али топло лето је битно за раст и развој. Темпертуре преко 38°C неповољно утичу на биљку. Због свог карактеристичног укуса и мириса кајсије су веома добра сировина за производњу вина. Климатски услови у Србији на падинама дуж реке Дунав недалеко од Гроцке обезбеђују погодне услове за узгајање кајсије и добијање плода веома доброг квалитета. Производња кајсије у Србији је износила 41 320t где је највећи део коришћен за добијање сокова, џемова и компота, док се за производњу вина најчешће користи у нашој земљи (FAO, 2017).

2.3. ПОЛИФЕНОЛНА ЈЕДИЊЕЊА У ВОЋНИМ ВИНИМА

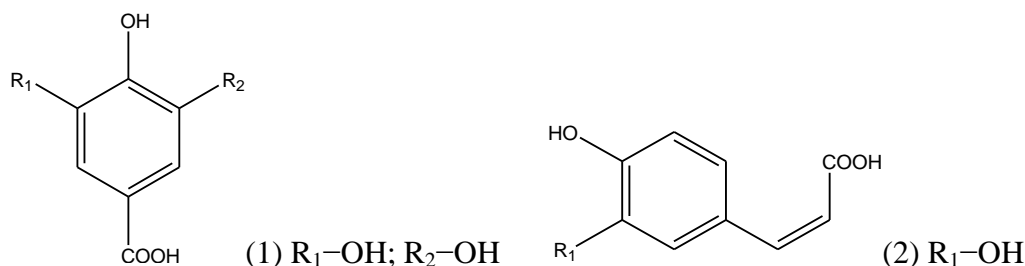
Литературни подаци истичу да грожђе и вино произведено од њега представљају добре изворе природних активних једињења која могу показати промотивни ефекат на здравље. Поред грожђа и његових производа који се већ дуго проучавају, остало воће и то на првом месту бобичасто (аронија, боровница, купина, црна рибизла) има сличан, па чак и виши садржај полифенолних једињења (Thilakarathna and Rupasinghe, 2012). Бобичасто воће представља богат извор природних активних једињења која могу да се унесу свакодневном исхраном и која показују јако антиоксидативно дејство. Нека од најзначајнијих група једињења су фенолне киселине, флавоноиди, стилбени и каротеноиди (Kaur and Kapoor, 2008; Vinson et al., 2001). Гледано са технолошке тачке полифенолна једињења, такође, утичу и на органолептичке особине вина као што су боја, укус и горчина (Rupasinghe and Clegg, 2007). Садржај полифенолних једињења у воћним винима зависи од различитих фактора као што су врста воћа, дужина мацерације, климатске прилике, географски утицаји, транспорт и чување воћа. Поступком врења сока добијеног из бобичастиг воћа повећава се садржај полифенолних једињења, јер долази до њихове екстракције из чврстих делова биљке (покожице и семенке) (Su and Chien, 2007), тако да се повећавају антиоксидативне особине воћног вина и његов потенцијални повољан утицај на здравље (Martin and Matar, 2005). Неке од класа полифенолних једињења која се могу наћи у винима од бобичастиг воћа су флавоноли, флаван-3-оли и фенолне киселине, који сви заједно својим синергистичким деловањем доприносе антиоксидативној активности и позитивном физиолошком утицају на организам (Lehtonen et al., 1999).

Постоји велики број научних доказа који указују да активна једињења из воћних вина имају позитиван утицај на људски организам и да доприносе превенцији дегенеративних процеса који се јављају код људи током старења, небалансиране исхране, оксидативног стреса и неких наследних болести. Воћно вино се може произвести од било ког воћа, па се тако као добре сировине истичу бобичасто (малина, купина и боровница) и јагодичасто (јагода) воће и показали су се као веома захвални за прераду. Воћна вина па и она произведена од бобичастиг воћа састоје се највише од воде, алкохола, шећера, органских киселина, док један веома мали део чине виши алкохоли, естри и полифенолна једињења (Johnson and Gonzalez de Mejia, 2011).

Полифеноли представљају највећу групу природних једињења која се могу наћи у храни. Разлог за то је чињеница да су то многобројна једињења, а идентификовано их је чак 8000 и то у различитим биљним врстама (Wang et al., 2011; Yao et al., 2004). У воћу се налазе у pokožици и семенки, тако да је у воћу са тамном pokožицом њихов садржај виши. Структура ових једињења је различита па тако они могу да имају у основи нека једноставнија једињења као што је хидроксibenзоева киселина и хидроксициметна киселина. Полифеноли имају и сложенију структуру па се могу састојати из три шесточлана прстена што је случај код флавоноида. Управо према структури полифенолна једињења се могу поделити према броју шесточланих прстенова, али и у зависности од структурних елемената који су везани за те прстенове. Тако се од полифенолних једињења по садржају у воћним винима посебно истичу фенолне киселине и флавоноиди (Wang et al., 2011; Yao et al., 2004).

2.3.1. Фенолне киселине

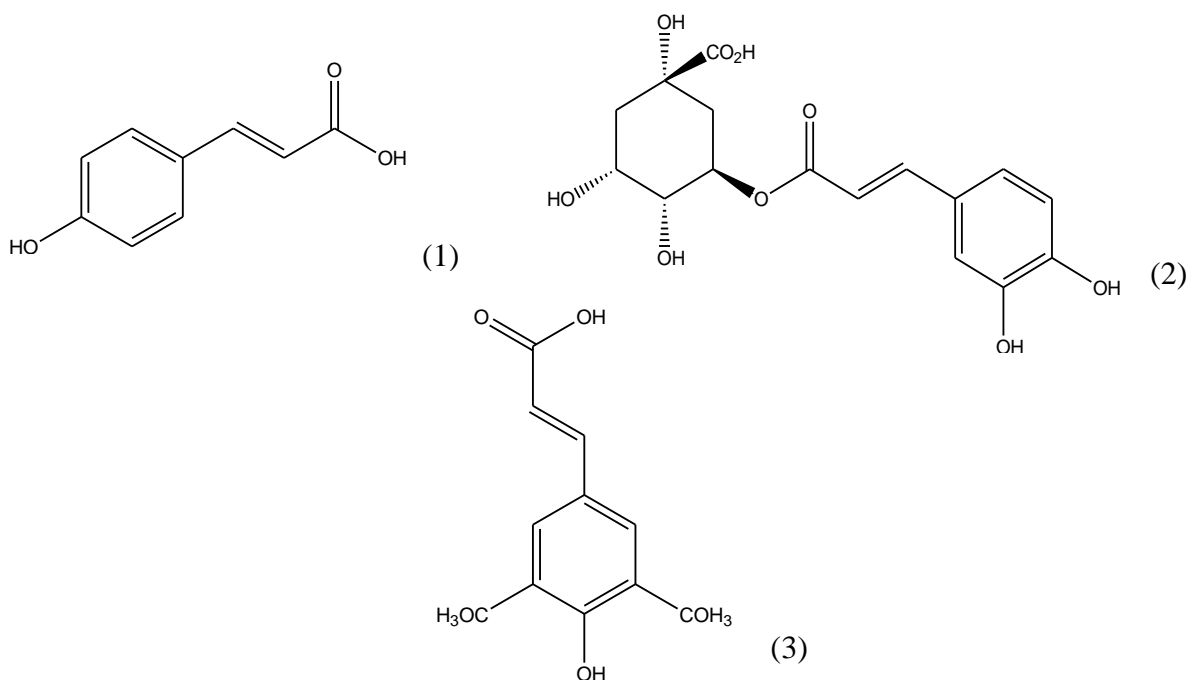
Већина фенолних киселина у храни биљног порекла су деривати хидроксibenзоеве и хидроксициметне киселине (Слика 1). Фенолне киселине могу да се нађу у слободном облику у воћу, али могу да буду и везане за друге биомолекуле (шећере). Тако дериват хидроксibenзоеве киселине, гална киселина, се често може наћи везана за молекуле шећера естарским везама.



Слика 1. Структура деривата хидроксibenзоеве (гална киселина (1)) и хидроксициметне (кафеинска киселина (2)) киселине.

Деривати хидроксициметне киселине су заступљенији него деривати хидроксibenзоеве киселине, а од њих се највише истичу кафеинска, *p*-кумаринска, хлорогена, и синапинска киселина (Слике 1 и 2). Ове киселине постоје у различитим коњугованим облицима, где је током мацерације из pokožице и семена плодова воћа за време алкохолног врења, њихов слободан облик сачуван од хемијских реакција (Shahidi and Nacz, 1995). Богат извор ових једињења су посебно, боровница и аронија које се истичу значајним садржајем хлорогене (Zheng and Wang, 2003), *p*-кумаринске (Häkkinen et al., 1999a) и кафеинске киселине (Macheix et al. 1990). Поред бобичастог воћа са тамном pokožицом, јагода је, такође, добар извор претходно истакнутих фенолних киселина (Guerrero-Chavez et al., 2015; Mandave et al., 2014; Mattila et al., 2006), док је у јабуци пронађена хлорогена киселина (Awad and de Jager, 2000). Коштичаво воће са тамном pokožицом као што је вишња, трешња и шљива садрже деривате хидроксициметне киселине (Cendres et al., 2012; Jakobek et al., 2009; Milala et al., 2013; Xiao et al., 2015). Важно је истаћи да и коштичаво воће са светлом pokožицом, као што су бресква и кајсија садрже хлорогену (Carbone et al., 2018; Khumalo et al., 2017; Liu et al., 2018), кафеинску (Igal et al., 2012; Khumalo et al., 2017) и *p*-кумаринску киселину (Fan et al., 2018).

Неки од најчешћих деривата хидроксibenзоеве киселине су гална, *p*-хидроксibenзоева, протокатехуинска, ванилинска и сиригинска киселина (Слике 1 и 3) (Shahidi and Nacz, 1995). Фенолне киселине као и већина осталих полифенолних једињења се ретко јављају у слободном облику, и често су присутне као естри и гликозиди. Такође,



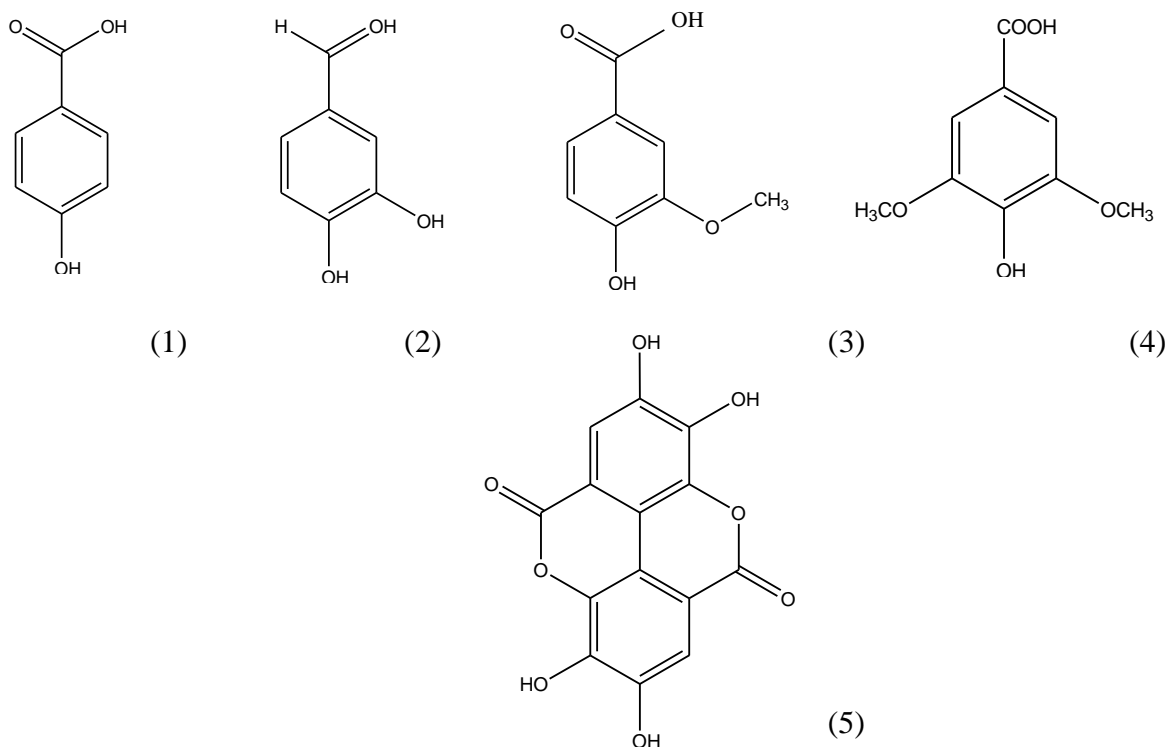
Слика 2. Структуре *p*-кумаринске (1), хлорогене (2) и синапинске киселине (3).

могу да буду и у растворном облику везане за органске киселине, али и нерастворном везане за компоненте ћелијског зида. Воће и то посебно бобичасто и производи од њега као што је воћно вино представљају богат извор фенолних киселина (Häkkinen et al., 1999a; Tomás-Barberán and Clifford, 2000). Садржај деривата хидроксибензојеве киселине у биљкама је низак са изузетком у бобичастом и јагодичастом воћу. Тако малина и јагода и производи од овог воћа садрже *p*-хидроксибензојеву, протокатехуинску и галну киселину (El Gharras, 2009; Guerrero-Chavez et al., 2015). Гална киселина заједно са својим другим једињењима има важну улогу у настанку хидросолубилних танина (Macheix et al., 1990). Димеризацијом и оксидацијом галне киселине настаје један велики молекул, дилактон хексахидрокси дифеничне киселине, а то је елагинска киселина чији је садржај значајан у купини и јагоди (Türkben et al., 2010) (Слика 3). Елагинска киселина има улогу у настанку елагитанина. Садржај деривата хидроксибензојеве киселине у коштичавом воћу је нижи него у бобичастом и јагодичастом. Тако су једињења из ове групе фенолних киселина пронађена у вишњи (de Pascual-Teresa et al., 2000), трешњи (Martini et al., 2017; Xiao et al., 2015), шљиви (Kaulmann et al., 2014; Khallouki et al., 2012), брескви (Liu et al., 2018) и кајсији (Fan et al., 2018; Igual et al., 2012).

2.3.2. Флавоноиди

Флавоноиди представљају групу једињења широко распрострањену у биљном свету. Када се погледа уназад, флавоноиди су били познати по свом позитивном здравственом ефекту још током 50-их година прошлог века. Тада су били познати и као витамин П (Shahidi and Naczk, 1995).

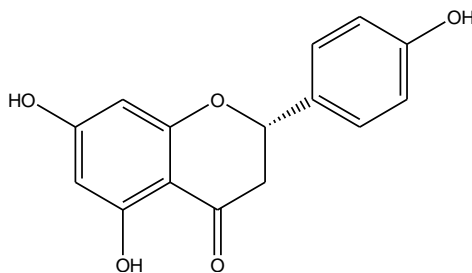
До сада је откривено око 4000 ових једињења и она су на првом месту одговорна за боју биљних органа (цветова, плодова и листова). Неки од најзначајнијих антиоксиданаса и биолошки активних једињења се налазе у овој групи. Њихова антиоксидативна активност је другачија међу различитим флавоноидима и зависи од структурних особина као што је гликозилација прстена који их изграђује. Флавоноиди су агликони, али ова једињења постоје углавном у облику гликозида и ацилгликозида (малонилгликозида) у воћу и производима од њега. Према структури флавоноиди се могу поделити у шест група и то у зависности од оксидационог стања пиранског прстена. Тако постоје флавоноли, флаванони, флаваноли,



Слика 3. Структуре *p*-хидроксибензојеве (1), протокатехуинске (2), ванилинске (3), синрингинске (4) и елагинске киселине (5).

флавоноиди, антоцијани, док изофлавоноиди за разлику од претходно истакнутих једини се не налазе у воћу (Harborne, 1988).

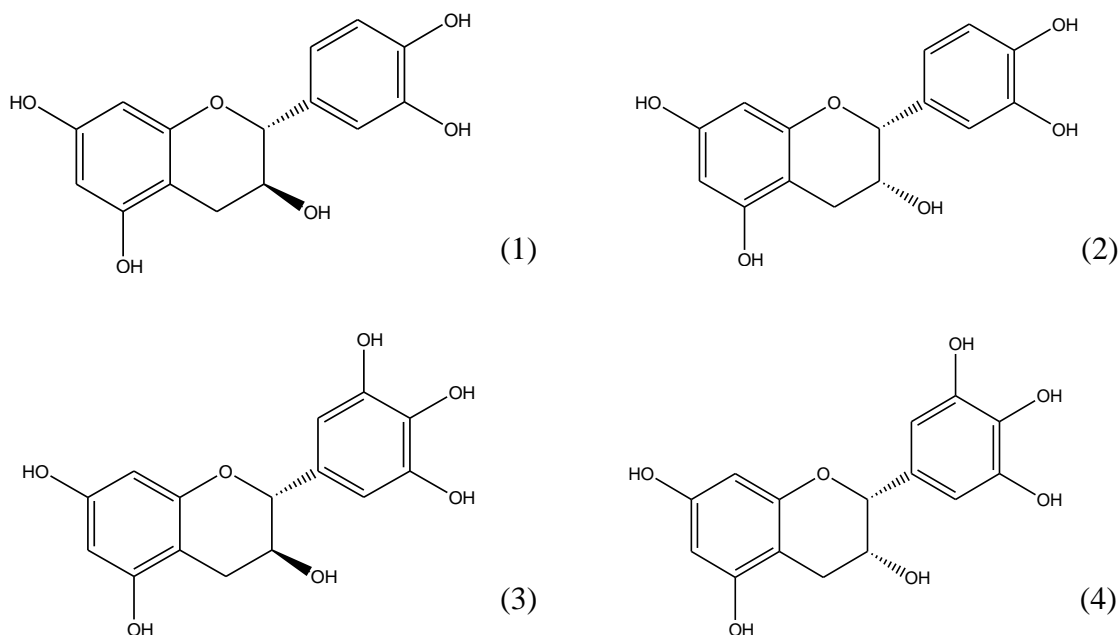
Флаванони се налазе у воћу, посебно коштичавом где је њихов садржај знатно виши него у бобичастом и јагодичастом воћу. У трешњи и брескви се из ове групе једињења посебно истиче нарингенин (Campbell and Padilla-Zakour, 2013; Martini et al., 2017) (**Слика 4**).



Слика 4. Структура нарингенина.

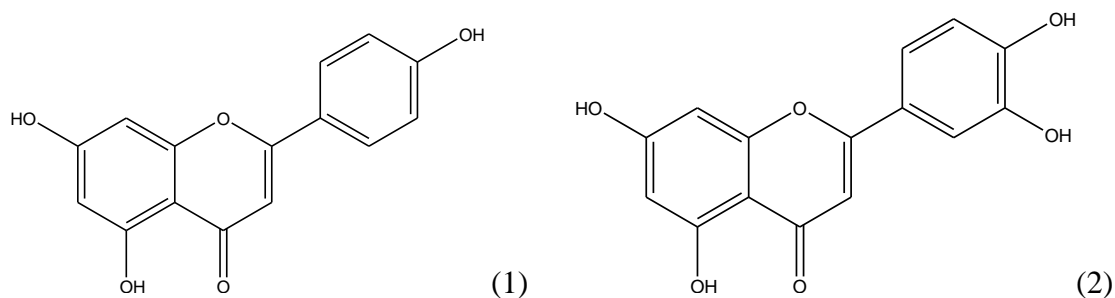
Најзначајнији представници групе флаванола су једињења која могу да имају мономерну структуру као катехин и његов епимер епикатехин (**Слика 5**), али и олигомерну као што су проантоцијанидини и кондензовани танини. Галокатехин и епигалокатехин садрже још једну хидроксилну групу у прстену II (**Слика 5**). Катехин се налази највише у pokožици воћа. Флаванолни као што су катехин и епикатехин су једињења која се истичу у винима од грождја, али и поред тога студија која је испитивала њихов садржај је показала да су она присутна и у винима од воћа (del Álamo et al., 2004; Mudnic et al., 2012). Међу бобичастим и јагодичастим воћем као извор катехина и епикатехина се истиче боровница, купина и малина (Arts et al., 2000a; de Pascual-Teresa et al., 2000). Од коштичавог воћа ова једињења су присутна у вишњи (de Pascual-Teresa et al., 2000), трешњи (Martini et al., 2017) и

шљиви (Will and Dietrich, 2006). Ова два једињења су пронађена и у друга два воћа из ове групе, светлије покожице, брескви и кајсији (Campbell and Padilla-Zakour, 2013; Igual et al., 2012; Khumalo et al., 2017; Liu et al., 2018). Важно је истаћи и њихово присуство у јабуци која представља најчешћи извор катехина и епикатехина у исхрани (Arts et al., 2000a). Поредџи флаваноле са другим флавоноидима ова једињења се разликују по томе што се у храни не налазе у облику гликозида. Обојено воће садржи два основна типа проантоцијанидина и то оне изграђене од две врсте јединица, катехинских (процијанидини) и други од афзелехинских (пропеларгонидини) (Arts et al., 2000a, 2000b).



Слика 5. Структуре катехина (1), епикатехина (2), галокатехина (3) и епигалокатехина (4).

Флаволи представљају велику подгрупу флавоноида где се могу истаћи посебно апигенин и лутеолин као најраспрострањенији (Слика 6) (Valant-Vetschera and Wallenweber, 2006).

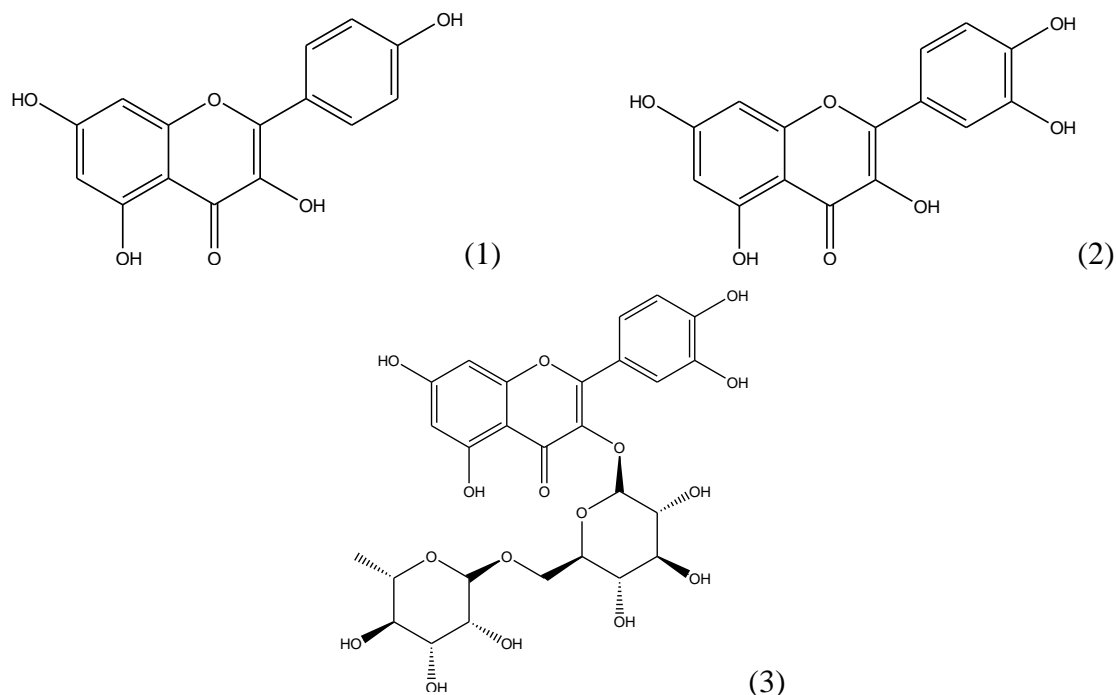


Слика 6. Структуре апигенина (1) и лутеолина (2).

Ова једињења нису откривена у бобичастом воћу, док је њихово присуство показано у јабуци, шљиви, кајсији, брескви и јагоди (Сао et al., 2010). У природним изворима ови флаволи постоје у гликозидном облику, а веома ретко слободном.

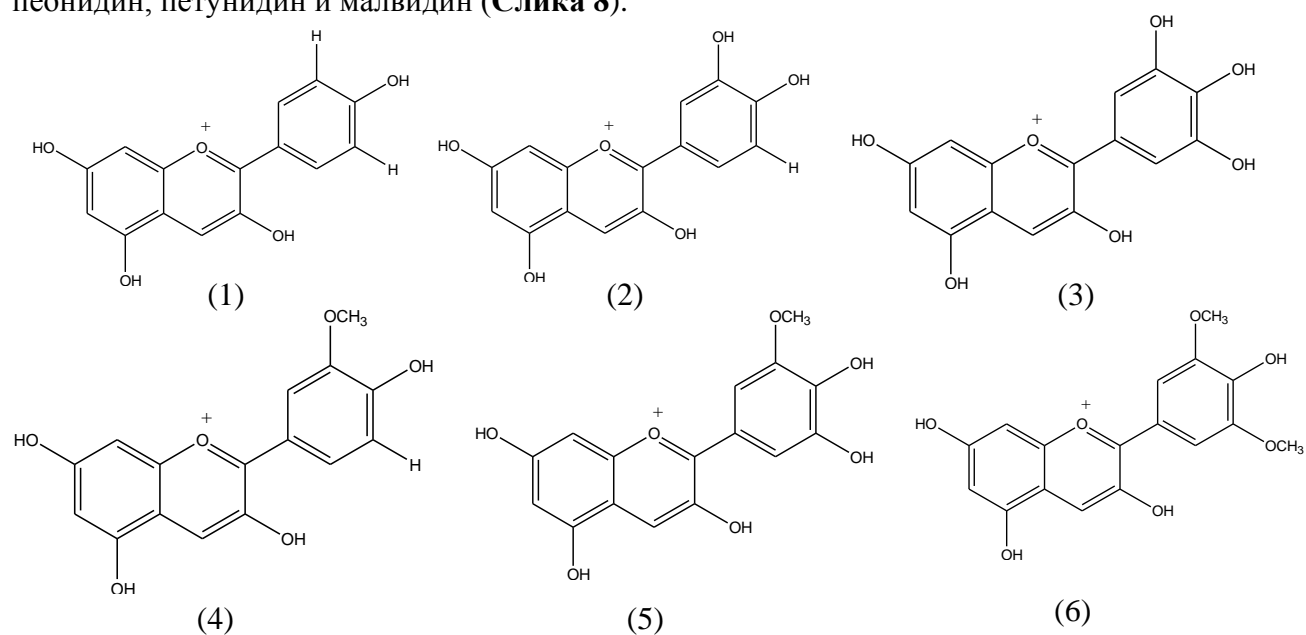
Флавоноли су подгрупа у којој се истичу кверцетин и кемпферол који су широко присутни у биљном свету. Најбогатији извор ових једињења су воће и производи од њега (Valant - Vetschera and Wallenweber, 2006). Исхраном се управо и најчешће уносе у људски органзам кемпферол, кверцетин и његов гликозид рутин (Слика 7). Дobar извор ових

једињења од бобичастог воћа су аронија, боровница и малина док од јагодичастог јагода (Guerrero-Chavez et al., 2015; Häkkinen et al., 1999b; Mandave et al., 2014). Ова једињења су откривена и у различитом коштичавом воћу као што је вишња, трешња, кајсија и бресква (Campbell and Padilla-Zakour, 2013; Cendres et al., 2012; Justesen et al., 1998; Martini et al., 2017).



Слика 7. Структуре кемпферола (1), кверцетина (2) и рутина (3).

Антоцијани представљају подгрупу једињења која је одговорна за различите боје плодова воћа и то на првом месту бобичастог, али и јабуке, вишње и трешње. Углавном се у природи јављају у виду гликозида, а због своје нестабилности ретко су у чистом облику. Неки од најзаступљенијих антоцијана у воћу су пеларгонидин, цијанидин, делфинидин, пеонидин, петунидин и малвидин (Слика 8).



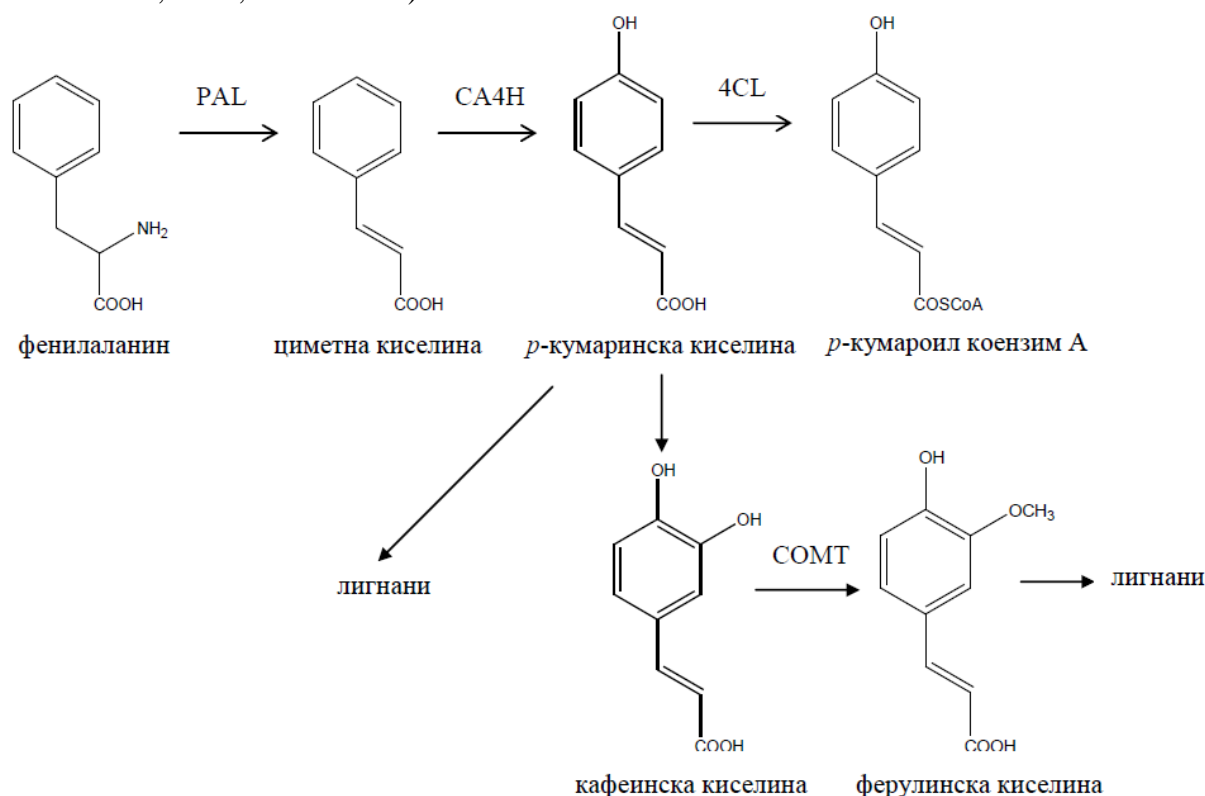
Слика 8. Структуре пеларгонидина (1), цијанидина (2), делфинидина (3), пеонидина (4), петунидина (5) и малвидина (6).

Они су пронађени у бобичастом (Jurikova et al., 2017; Lähti et al., 2008; Mazza, 2005; Mecocci et al., 2014; Routray and Orsat, 2011), јагодичастом (Mullen et al., 2008), коштичавом воћу (Blando et al., 2004; Usenik et al., 2009) као и у јабуци (Mazza and Velioglu, 1992).

2.4. БИОСИТЕЗА ПОЛИФЕНОЛНИХ ЈЕДИЊЕЊА У БИЉКАМА

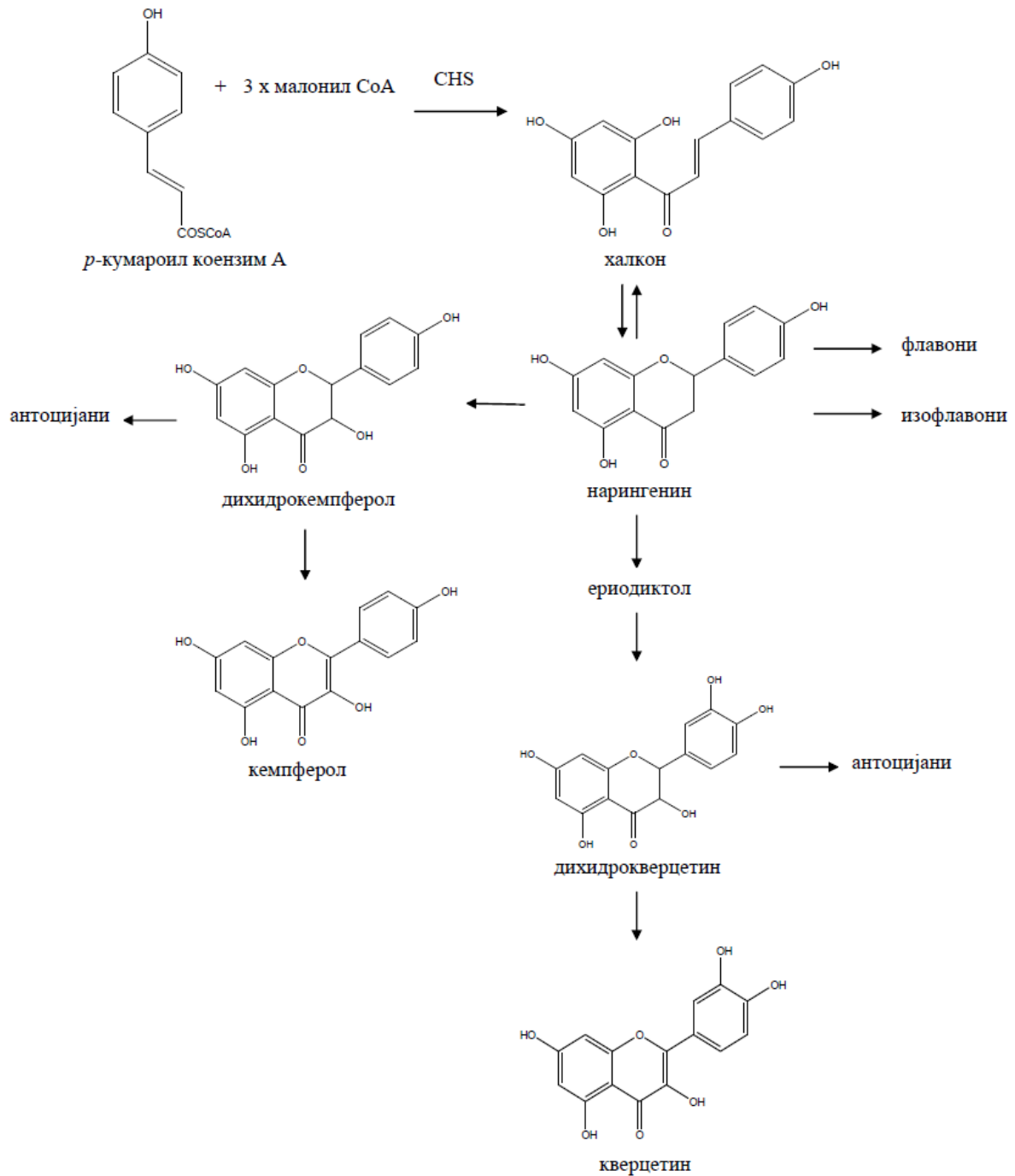
Полифеноли, као и многа друга природна биолошки активна једињења из биљака настају у циљу заштите биљке од болести, инсеката и гљивица. Биосинтеза и депоновање ових једињења која представљају секундарне метаболите може да буде контролисана ендегено, током раста и развоја биљног организма или од стране утицаја фактора спољашње средине као што су светлост, температура и оштећење биљног ткива (Strack, 1997).

Фенилаланин који се синтетише у вишим биљкама је прекурсор за синтезу већине фенолних једињења. Хидроксициметне киселине и то естри са коензимом А су веома чести у структури фенолних једињења као што су амиди, лигнани, флавоноиди и кондензовани танини (Macheix et al., 1990). Биосинтеза полифенолних једињења се може вршити у метаболичком путу фенилаланин-хидроксицинамат који се дефинише као главни фенилпропаноидни метаболизам. Он укључује реакцију Л-фенилаланина са хидроксициметним киселинама и њиховим активним облицима (Strack, 1997). Ензими који учествују у овом метаболичком путу су фенилаланин амонијум лијаза (PAL), *транс*-цинамат-4-монооксигеназа (CA4H) и хидроксицинамат коезим А лигаза (4CL). Управо ова три ензима су неопходна за биосинтезу полифенолних једињења (Macheix et al. 1990, Strack 1997). Тако биосинтеза неких од деривата хидроксициметне киселине и *p*-кумаринске киселине подразумева два типа реакција и то хидроксилацију и метилацију. Увођење друге хидроксилне групе у структуру *p*-кумаринске киселине је катализовано монофенол моно оксигеназама што за резултат има настанак кафеинске киселине. Метилацијом кафеинске киселине настаје ферулинска киселина која је заједно са *p*-кумаринском киселином прекурсор за настанак лигнана, што је катализовано *O*-метилтрансферазама (Слика 9) (Macheix et al., 1990; Strack 1997).



Слика 9. Пут биосинтезе фенолних киселина и лигнана.

Кафеинска киселина је субстрат за настанак веома ретке 5 хидроксиферулинске киселине из које настаје *O*-метилацијом синапинска киселина. За разлику од претходне групе једињења, постоји неколико метаболичких путева биосинтезе појединачних деривата хидроксибензоеве киселине у зависности од биљке у којој се налазе. Ова једињења могу да настану из шикиминске киселине и то из дехидрошикиминске што је главни пут за синтезу галне киселине (Haddock et al., 1982; Strack, 1997). Некада деривати хидроксибензоеве киселине могу настати и разградњом флавоноида. Хидроксилација и метилација хидроксибензоєвих киселина се дешава на исти начин као и у метаболичком путу фенилаланина и хидросициметних киселина (Strack, 1997). Подаци о механизму и о ензимима укљученим у биосинтезу хидроксибензоєвих киселина и њених деривата су ограничени и то посебно у воћу.



Слика 10. Пут биосинтезе полифенола сложене структуре.

Синтеза полифенола сложеније структуре као што су флавоноиди подразумева кондензовање три молекула малонил коензима А са *p*-кумароил коензимом А (Слика 10). Ензим који катализује ову реакцију је халкон синтетаза (CHS) (Harborne, 1988). Следећа реакција је стереоспецифична изомеризација катализована халкон изомеразом при чему настају флаванони (нарингенин). Флаванони у биоситези могу да дају флавоне (апигенин) или изофлавоне (генистеин). Наредни ензим који катализује конверзију нарингенина у дихидрокемпферол и ериодиктиола у дихидрокверцетин је флавонон-3-хидроксилаза (Britsch and Grisebach, 1985). Флавонол синтетаза преводи дихидрокемпферол у кемпферол и дихидрокверцетин у кверцетин (Spribille and Forkmann, 1984). Дихидрофлавоноли могу да се укључе у други метаболички пут при чему настају антоцијани (Strack, 1997).

2.5. УНОС ПОЛИФЕНОЛА ВОЋЕМ И ВОЋНИМ ВИНИМА

Воће и производи од њега су богат извор активних једињења, па тако њихов унос у количини од 400 до 500 g дневно може значајно да допринесе позитивном утицају на људски организам (Jaganath, 2008). Редовни унос 5 до 7 порција свежег воћа као и две чаше црвеног вина дневно може, такође, позитивно да утиче на људски организам (German, 1997). Антиоксидативне особине воћа и њихових производа потичу од великог броја природних једињења где се посебно истичу фенолне киселине, флавоноиди и антоцијани (Wang, 2003)

Унос флавоноида исхраном је веома битан, па је то и био предмет студија које су имале за циљ да истакну које су то намирнице којима их свакодневно уносимо. Тако је интересанто истаћи податке из Холандије који указују на унос флавонола кверцетина, кемпферола и мирицетина. Главни извори ових биолошки активних једињења су били воће и пића (Hertog et al., 1992b, 1993b). Слични резултати за садржај кверцетина као у холандској студији су добијени и за Данску (Justesen et al., 1998). Просечан садржај кверцетина у воћу је износио око 15 mg/kg, осим за јабуке где је његов садржај био у зависности од сорте у интервалу од 21–72 mg/kg. Садржај кверцетина у бобичастом воћу (боровница, црна рибизла, брусница), црном грожђу, јабуци и кајсији је био виши од 20 mg/kg. Садржај мирицетина у холандској студији је био испод лимита детекције (<1 mg/kg), док данска студија истиче брусницу као веома добар извор овог једињења (230 mg/kg) (Hertog et al., 1992a; Justesen et al., 1998). Међу пићима посебно се истиче црвено вино као извор кверцетина чији је садржај био у интервалу од 4 до 16 mg/L, док је у соку од грожђа знатно мањи 7 до 9 mg/L (Hertog et al., 1993b). Подаци из Данске истичу да је просечан садржај мирицетина и кверцетина у 21 узорку црвеног вина износио од 8 до 10 mg/L, док је у другој студији која је обухватила чак 65 узорака вина садржај био од 6 до 40 mg/L (Justesen et al., 1998; McDonald et al., 1998). Подаци из Холандије истичу да је просечан дневни унос флавонола био око 23 mg дневно. Међу овим једињењима се посебно истиче кверцетин који учествује са чак 70% у целокупном уносу, кемпферол са 17% и мирицетин са свега 6% (Hertog et al., 1992b, 1992a, 1993b). Холандски научници су упоредили просечан унос флавоноида који се разликује у односу на географски положај што је показано у студији Седам држава. Најнижи унос флавоноида је био у Финској и то у интервалу од 2,6 до 9,6 mg дневно што је зависило од дела државе. Највиши унос је био у Јапану са чак 68,2 mg дневно где је главни извор био чај. Сличан податак је добијен и за неке европске државе (Холандија и Велика Британија), док су у Финској, Југославији, Грчкој и САД-у главни извор флавоноида из воћа биле јабуке (Hertog et al., 1995). Такође, могуће је од европских држава истаћи Данску са просечним дневним уносом флавоноида од 28 mg дневно, док од ваневропских се у Бразилу унесе чак 70,5 mg дневно. Разлог за тако високу вредност је чињеница да се у Бразилу свеже и прерађено воће користе веома често у исхрани (Arabbi et al., 2004; Lugast and Hóvári, 2000).

Унос фенолних киселина и то деривта хидроксициметне и хидроксибензојеве киселине је испитиван у Немачкој (Radtke et al., 1998). Резултати студије која је пратила унос ових једињења у мушкој и женској популацији истакла је да је просечан унос 222 mg дневно, али

да постоје веома различити интервали за унос појединачних једињења. Најзначајнија међу њима је била кафеинска киселина са 206 mg дневно и елагинска са 5,2 mg дневно. Разлика између полова је, такође, постојала па тако жене уносе више кафеинске киселине и то 229 mg дневно док мушкарци уносе 179 mg дневно. Кафа је била извор чак 92% унете кафеинске киселине док је воће било извор 59% *p*-кумаринске киселине (Radtko et al., 1998). Тако се воће може сматрати добрим извором деривата хидроксициметне киселине и то кафеинске, ферулинске, *p*-кумаринске, синапинске и хлорогене (Meуer et al., 1998a). У неким случајевима хлорогена киселина је чак и најдоминатнија у односу на све друге представнике из ове групе једињења (Robards et al., 1999). Деривати хидроксибензојеве киселине као што су *p*-хидроксибензојева, протокатехуинска, ванилинска и сирингинска су, такође, присутни (Torres et al., 1987). Показна је разлика у биолошкој активности међу различитим сортама јагода, а оне су се показале као богат извор фенолних киселина (Guerrero-Chavez et al., 2015; Xu et al., 2014). Поред тога што је истакнуто да бобичасто воће има веома добре антиоксидативне особине, на сме се запоставити ни коштичаво воће (Khumalo et al., 2017; Martini et al., 2017). Једна процена истиче да укупан дневни унос полифенола чине деривати хидроксициметне киселине и то са једном трећином и флавоноиди са две трећине (Manach et al., 2004). Полифеноли из воћа и других биљака су група једињења која задовољавају критеријуме везане за пребиотику тако да ова једињења морају бити заступљена у свакодневном исхрани (Gibson et al., 2017)

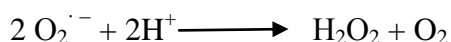
2.6. ЕНЗИМИ АНТИОКСИДАТИВНЕ ЗАШТИТЕ И ЛИПИДНА ПЕРОКСИДАЦИЈА

Различити спољашњи фактори као што су радијација, тровање тешким металима и другим отровима могу да буду окидачи за неконтролисани настанак слободних радикала. Када настану, слободни радикали су веома реактивни и покретљиви и као такви непромењени пролазе кроз ћелијску мембрану, где могу да оштете биомолекуле. Поред тога што реагују са њима слободни радикали могу да активирају и редокс осетљиве сигналне путеве који могу да имају различите негативне ефекте активирањем целог низа ланчаних реакција. Слободни радикали настају у физиолошким процесима због чега је то обавезан предуслов живота. Због тога је током еволутивног развоја успостављен заштитни систем. Сви антиоксиданси у организму човека су за то одговорни и заједно чине антиоксидативни систем. Овај систем је веома брз у неутралисању молекула од којих могу да настану слободни радикали као и самих слободних радикала који доводе до ланчане реакције настанка истих таквих једињења (Halliwell, 1990). Управо ензими антиоксидативне заштите су нека од многобројних једињења која чине тај систем. Три најзначајнија ензима су супероксид дисмутаза, каталаза и глутатион пероксидаза који обезбеђују хомеостазу чиме се спречава оштећење ћелија слободним радикалима (Ighodaro and Akinloye, 2017). Уз њих интересантно је истаћи и протеине као што су трансферин који везује јоне метала и церулоплазмин који везује и хелира гвожђе и бакар чиме се смањује стварање слободних радикала (Halliwell, 1988).

Када је стварање слободних радикала у оквиру физиолошког нивоа појачано услед разних утицаја, активирају се претходно поменути ензимски, али и неки неензимски (дијетарни) антиоксиданси као што су витамини, флавоноиди, коензим Q и многи други (Halliwell, 1990). Ова подела је направљена на основу природе и начина деловања антиоксиданаса, где прву линију антиоксидативне заштите односно линију фронта чине ензимски антиоксиданси. Неензимски, односно дијетарни антиоксиданси представљају другу линију одбране.

Супероксид дисмутаза (SOD) (EC 1.15.1.1) је металоењим који је присутан у свим еукариотским ћелијама и назива се још ензимом младости (Ighodaro and Akinloye, 2017).

Овај ензим катализује дисмутацију супероксидних радикала ($O_2^{\cdot -}$) у водоник пероксид (H_2O_2) и O_2 при чему се један молекул $O_2^{\cdot -}$ оксидише у O_2 , а други редукује у H_2O_2 :



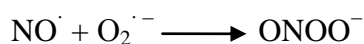
Код еукариотских организама укључујући и људе присутна су три изоензимска облика SOD и то бакар цинк зависна SOD (Cu Zn-SOD), манган зависна SOD (Mn-SOD) и екстрацелуларна SOD (EC-SOD) (Halliwell, 1990).

Ген одговоран за синтезу Cu Zn-SOD код човека се налази на 21 пару хромозома чиме се и објашњава пораст активности овог ензима у Дауновом синдрому који се карактерише хромозомском аберацијом – тризомијом хромозома (Kurobe et al., 1990). Овај изоензим се налази у свим ћелијама и то највише у њиховом цитосолу са појединачним активностима у лизозомима, пероксизомима, једру, простору између спољашње и унутрашње мембране митохондрија. Структурне одлике као и механизам дејства овог изоензима су најбоље проучени на ензиму из говеђих и људских еритроцита. Ензим је хомодимер, из две субјединице где свака садржи по један јон Cu^{2+} и Zn^{2+} . Активни центар ензима чине јони Cu који су са апоензимом повезани преко азота имидазолове групе хистидина. Јони Zn повезани су са азотима имидазолове групе хистидина и са карбоксилном групом аспартата (Geller and Winge, 1982). Каталитичка активност ензима везана је за Cu док Zn стабилизује просторну конформацију ензима. Губитак каталитичке активности се јавља када се Cu одвоји од апоензима и поново се успоставља додатком Cu, али не и других катјона. У присуству H_2O_2 долази до инактивације ензима при чему се она пре дешава када су више pH вредности. Овај механизам подразумева редукцију Cu^{2+} у Cu^+ са H_2O_2 , реакцију Cu^+ са H_2O_2 и настанак OH^{\cdot} који је одговоран за оксидацију и разградњу остатака хистидина битних за каталитичку активност ензима.

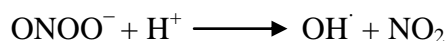
Изоензимски облик, Mn-SOD поред еукариотских организама, садрже бактерије и други прокариотски организми. Ген хумане Mn-SOD се налази на шестом пару хромозома. Највише се налази у матриксу митохондрија, док се синтетише у цитосолу одакле се сигналним пептидом упућује у митохондрије (Ishikawa et al., 1987). Налази се у облику тетрамера и главну улогу има у диференцијацији ћелије и заштити од плућне интоксикације услед хипероксије. Овај изоензим се за разлику од Cu Zn-SOD не инхибира цијанидима, али је осетљив на дејство хлороформа и етанола којима се потпуно денатурише. Када се Mn одвоји из холоензима ензим губи каталитичку активност (Kurobe et al., 1990). Претходно поменути два изоензима, Cu Zn-SOD и Mn-SOD се веома лако инактивирају гликозилацијом што је посебно изражено у дијабетес мелитусу (Arai et al., 1987).

Изоензимски облик, EC-SOD, је назван тако што се налази у међућелијском простору и екстрацелуларној течности (плазма, лимфа, синовијална течност, ликвор, асцит). Овај изоензим показује велики афинитет према гликозаминогликанима и то на првом месту хепарину. Ген за хуману EC-SOD се налази на 4 пару хромозома. (Hendrickson et al., 1990). Састоји се од четири субјединице исте структуре где активни центар ензима чине јони Cu. Према својој структури је гликопротеин. EC-SOD може неензимски да реагује са глукозом. За разлику од Cu Zn-SOD код које гликозилација у дијабетес мелитусу доводи до инактивације, на EC-SOD не утиче. Неке од ћелија које највише синтетишу овај изоензим јесу фибробласти, глијалне ћелије, макрофаги, хондроцити и ендотелне ћелије (Oury et al., 1996). На генску експресију утичу цитокини где се интерферон γ повећава, а фактор туморске некрозе α (TNF α) смањује. У поређењу са Cu Zn-SOD повећано присуство оксиданаса не индукује EC-SOD. Поред тога што обезбеђује у организму физиолошку концентracију супероксидног радикала њена најзначајнија улога је у заштити азот(II)-оксида (NO), који се ствара у ендотелним ћелијама (Strålin and Marklund, 1994).

Супероксидни анјон може да реагује са NO^\cdot при чему настаје токсични пероксинитритни анјон (ONOO^-):

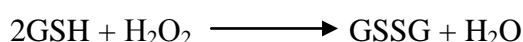


Настали пероксинитритни анјон је нестабилан и када прими водоников јон у присуству метала променљивог оксидационог стања разлаже се на хидроксилни радикал и азот(IV)-оксид:

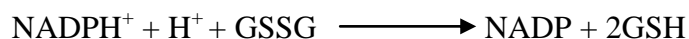


Управо реакцијом између NO^\cdot и $\text{O}_2^{\cdot -}$, NO губи своју активност, док је пероксинитритни анјон веома јак оксиданс који доводи до многих патофизиолошких процеса. Код физиолошких вредности рН, пероксинитрит је у облику пероксинитритне киселине. Управо ово једињење у зиду крвног суда доприноси липидној пероксидацији и оштећењу мембране. Азот(II)-оксид је важан дилататор који физиолошки настаје у крвним судовима где инхибира пролиферацију васкуларних глатких мишића и агрегацију тромбоцита. На овај начин он показује антиатерогене особине, па губитак активности NO има важну улогу у раном развоју атеросклерозе (Laurindo et al., 1991). EC-SOD штити NO који има важну улогу у заштити организма од настанка атеросклерозе и других кардиоваскуларних болести и сматра се најмоћнијим антиоксидансом кога ствара људски организам. Најважније је истаћи да је NO вазодилататор који доводи до релаксације, док је $\text{O}_2^{\cdot -}$ вазоконстриктор па њихова међусобна реакција доводи до оштећења ткива и настанка OH^\cdot радикала. Као физиолошка реакција ова интеракција учествује у регулацији васкуларног тонуса крвних судова. Баланс између $\text{O}_2^{\cdot -}$ и NO регулише EC-SOD, тако што када се повећа њена активност брже се уклања $\text{O}_2^{\cdot -}$ и одлаже се деловање NO (Rajagopalan et al., 1996). Када је смањена активност EC-SOD повећава се концентрација $\text{O}_2^{\cdot -}$ што убрзава разградњу NO и настајање пероксинитрита који доводи до оштећења ткива.

Глутатион пероксидаза (GSH-Px) (EC 1.11.1.9.) је тетрамерни ензим за чију активност је неопходан селен (Se) у активном центру ензима. Глутатион пероксидаза заједно са катализом учествује у отклањању H_2O_2 . У реакцији са водоник пероксидом редуковани облик глутатиона (GSH) прелази у оксидовани (GSSG) и настаје вода (Ighodaro and Akinloye, 2017):



За реакцију редукције H_2O_2 до воде и органских хидропероксида у алкохол, као донор електрона служи редуковани глутатион. Активношћу глутатион редуктазе врши се стална регенерација редукованог глутатиона:



Све глутатион пероксидазе катализују претходно истакнуту реакцију. Тако постоје Se зависне глутатион пероксидазе у које спадају класична, фосфолипид зависна глутатион пероксидаза и глутатион пероксидаза плазме. Пероксидазну активност показују и ензими који не садрже Se и то су: Se независна глутатион пероксидаза у јетри и Se независна глутатион пероксидаза крвне плазме. Ове глутатион пероксидазе имају мањи афинитет према H_2O_2 , али боље редукују органске хидропероксиде (Stadtman, 1991).

Класична Se зависна глутатион пероксидаза своју активност не показује у једру, док је у цитосолу и митохондријама њена активност веома висока. Пошто овај ензим разлаже H_2O_2 који у присуству метала иницира липидну пероксидацију, веома је битан у инхибицији почетног стадијума пероксидације липида ћелијских мембрана покренутог дифузибилним

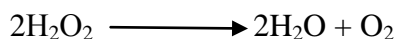
H₂O₂. Инактивација и оксидативна модификација се дешавају од стране оксиданса и то H₂O₂ док редукујући агенси чувају ензим од инактивације (Arnao et al., 1990).

Фосфолипид-зависна глутатион пероксидаза редукује фосфолипидне хидропероксиде као и холестерол хидропероксиде у ћелијској мембрани *in situ*, без претходног деловања фосфолипазе A2. Ензим учествује у реакцији двоелектронске редукције липидних хидропероксида до одговарајућег алкохола масне киселине који се исеца уз помоћ фосфолипазе A2, а настали изофосфолипид везивањем ацил остатка преводи у фосфолипид (Ursini and Bindoli, 1987). Такође, редукује и оксидисане интермедијере холестерола. Због хидрофобних особина има већи афинитет за ћелијску мембрану где реагује са липидним хидропероксидима. Ензим поседује већи афинитет за редукцију органских хидропероксида (линолеил хидропероксиди) у односу на H₂O₂ (Brigelius-Flohe et al., 1994).

Глутатион пероксидазе плазме код људи су тетрамери који се састоје од субјединица исте структуре. Еритроцитна Se зависна глутатион пероксидаза показује већу активност код жена него код мушкараца (Guemouri et al., 1991).

Своју пероксидазну активност Se независна глутатион пероксидаза показује у јетри где се налазе ензими који не садрже Se.

Каталаза (CAT) (EC 1.11.1.6) је један од најраспрострањенијих ензима у природи. Основна улога каталазе јесте разградња H₂O₂ који је штетан за ћелију и због тога се уз помоћ овог ензима разлаже на воду и молекулски кисеоник (Ighodaro and Akinloye, 2017). Висока активност овог ензима је посебно истакнута у јетри и еритроцитима. У ћелијским органелама каталаза се налази највише у пероксизомима и митохондријама, док у еритроцитима активност овог ензима је највећа у цитосолу (Halliwell, 1990):



Каталаза је по својој структури ензим који се састоји из четири исте субјединице. Током чувања на ниским температурама долази до губитка активности ензима услед дисоцијације на субјединице. Овај ензим не поседује изоензиме. При високим концентрацијама H₂O₂, овај ензим је присутан у ћелијама у високом нивоу, где га разграђује (Góth, 1987). Смањена активност каталазе се јавља код карцинома, током регенерације ткива, неухрањености, анемије и у Дауновом синдрому. Када се ензим гликозилује каталитичка активност се смањује што је случај у дијабетесу. Пораст активности овог ензима у серуму се јавља код оштећења јетре, мишићне дистрофије, неонаталне сепсе, акутног панкреатитиса и хемолитичке анемије (Yan and Harding, 1997).

Липидна пероксидација је оксидативно оштећење које захвата ћелијске мембране, липопротеине и друге молекуле који садрже липиде у условима постојања оксидативног стреса. Најчешћи супстрат за оксидативни напад су липиди ћелијске мембране и то фосфолипиди, гликолипиди и холестерол. Када се покрене реакција пероксидације наставља се аутокаталитички и њен крајњи утицај се остварује кроз структурно-функционалну промену супстрата (Halliwell and Gutteridge, 1984). Ово је једна од најчешћих реакција у којој учествују слободни радикали и представља само један од резултата оксидативног стреса присутног у ћелији када се јавља неравнотежа у стварању и уклањању слободних радикала.

Процес липидне пероксидације у контролисаним условима мења пропустљивост ћелијске мембране и утиче на интензитет метаболизма мембранских липида и протеина, омогућава контролу синтезе еикозаноида, контролу ћелијске пролиферације и иницирање ћелијског одумирања. Када нема хомеостазе међу прооксидансима и антиоксидансима јављају се штетни ефекти овог процеса (Korsmeyer et al., 1995). Већи степен липидне пероксидације је пронађен у артерогенези, исхемијским оштећењима, канцерогенези и у још више од 100 патолошких стања. Овај процес јесте управо један од непосредних узрока основе болести. Сам степен липидне пероксидације зависи од могућности потпуног или делимичног отклањања оштећења што зависи од антиоксидативних и прооксидативних

услова средине (Steinberg and Witztum, 1990; Traystman et al., 1991; Weitzman and Gordon, 1990).

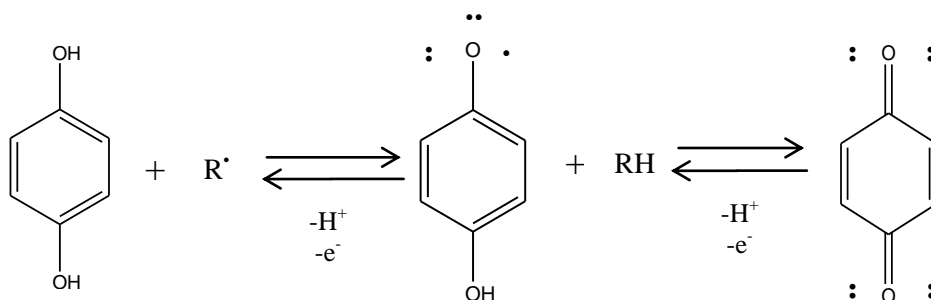
Као крајњи производ ове реакције настаје малонилдиалдеhid или малон-диалдеhid (MDA). Алдехиди и то нарочито MDA могу да реагују са аминок групама протеина где као резултат ове реакције настају интермолекулске унакрсне везе. Липидном пероксидацијом се смањује селективна пропустљивост биолошких мембрана. Због тога је појачана пропустљивост једновалентних и двовалентних јона и долази до инактивације мембранских ензима. Када се ланци масних киселина цепају на алдехиде и краткочланчане испарљиве угљоводонике губи се облик мембрана (ћелије и ћелијских органела). Управо оштећења лизозомских мембрана доводе до ослобађања хидролитичких ензима који оштећују ћелију (Kim and Akera, 1987).

Детоксикација липидних пероксида подразумева исецање оксидативно измењене незасићене масне киселине или алкохола који настаје редукијом липидних хидропероксида и поправке постојећих оштећења. Ензими који учествују су класична глутатион пероксидаза, фософолипид хидропероксид глутатион пероксидаза и Se независна глутатион С трансфераза тип α (Ursini and Bindoli, 1987). У двоелектронској редукији липидних хидропероксида у одговарјуће алкохоле учествују Se зависни ензими.

2.7. ПОЗИТИВАН УТИЦАЈ ВОЋНИХ ВИНА НА ЗДРАВЉЕ

Поред тога што се начин исхране разликује широм света, постоји једна сличност везана за исхрану у савременом друштву, а то је чињеница да се све више уноси намирница које имају висок гликемијски индекс. Управо овакав начин исхране и доприноси развоју хроничних незаразних болести (Törrönen et al., 2010). Појава метаболичког синдрома представља основу за развој дијабетес мелитуса тип два и кардиоваскуларних болести. Број оболелих од ових болести последњих година се повећава (Bisbal et al., 2010). Поред тога превенција се може извршити балансираном исхраном богатом намирницама чији састојци показују антиоксидативне особине (Herrera et al., 2009).

Антиоксидативна једињења могу да изврше превенцију развоја великог броја болести и поремећаја, укључујући срчане проблеме и карцином (Dufresne and Farnworth, 2001). Антиоксиданси међу којима се посебно истичу полифенолна једињења имају важну улогу у заштити од слободних радикала (Shukitt-Hale et al., 2008):



Активна једињења из коштица грожђа, процијанидини се користе у додацима исхрани који се примењују уз конвенцијалну терапију код проблема са циркулацијом као што је пуцање капилара и микроангиопатија ретине. Процијанидини делују као антиоксиданси и то у плазми, смањују агрегацију тромбоцита, али и штите здраве ћелије од утицаја токсина и карциногенних једињења (Flamini and Traldi, 2010). Исхрана намирницама које су богате полифенолним једињењима је повезана са смањењем ризика за појаву срчаних болести. То се види из чињенице да фенолна једињења успоравају развој атеросклерозе заштитом липопротеина ниске густине (LDL) од оксидације (Sun et al., 2011a). Неколико студија је показало да су воћна вина богат извор полифенолних једињења који имају антиоксидативне

особине и значајно смањују ризик од развоја кардиоваскуларних болести (Heinonen et al., 1998; Negi and Dey, 2009; Scalbert et al., 2005). Вина од бобичастог воћа су позната као добри “хватачи” слободних радикала (Heinonen et al., 1998; Pinhero and Paliyath, 2001). Полифенолна једињења из боровнице се могу потенцијално користити у лечењу незаразних болести, док вино од вишње показује добре антиоксидативне особине (Johnson et al., 2011; Yoo et al., 2010). Битно је истаћи да током прераде воћа у вино једињења која показују позитиван здравствени ефекат су очувна и прелазе у крајњи производ тј. воћно вино (Cyzowska and Pogorzelski, 2002).

3. ЦИЉЕВИ ИСТРАЖИВАЊА

Литературни подаци указују на различите резултате везане за садржај и биолошку активност полифенолних једињења у воћним винима. Објашњење за овакву разноврсност резултата лежи у чињеници да састав и садржај полифенолних једињења и антиоксидативне особине вина управо зависе од врсте и сорте коришћеног воћа, али и примењеног технолошког поступка током производње. Управо због тога постављени су главни циљеви истраживања спроведени током низа експеримената на узорцима воћних вина.

Циљеви истраживања који су постављени у оквиру ове докторске дисертације су били следећи:

- Производња вина од сорти воћа које су аутохтоне или успешно интродуковане врсте, а узгајане су у Србији и околним областима;
- Утврђивање утицаја квасаца током контролисане микровинификације на квантитативни састав полифенолних једињења и њихов антиоксидативни потенцијал;
- Утврђивање утицаја додатка шећера и гликозидолитичког ензимског препарата пре почетка врења током поступка контролисане микровинификације, на квантитативни састав полифенолних једињења и њихов антиоксидативни потенцијал;
- Одређивање основних параметара квалитета воћних вина;
- Груписање (класификовање) воћних вина на основу најзаступљенијих полифенолних једињења;
- Испитивање, *in vitro*, анти α -глукозидазне активности лиофилизата воћних вина произведених различитим технолошким поступцима;
- Испитивање, *in vitro*, активности ензима антиоксидативне заштите и степена липидне пероксидације у изолованим синаптозомима изложеним лиофилизатима воћних вина произведених различитим технолошким поступцима.

4. МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ

4.1. УЗОРЦИ ВОЋА

Воће од кога је произведено вино прикупљено је од пољопривредних произвођача из различитих региона. Коришћене су следеће врсте бобичастог и јагодичастог воћа: купина (*Rubus sp.*, Rosaceae) сорта чачанска бестрна из околине Бојника, малина (*Rubus idaeus*, Rosaceae) сорта мекер из околине Ваљева, аронија (*Aronia melanocarpa* Heynh., Rosaceae) сорта викинг са планина Рудник и Суворор, боровница (*Vaccinium myrtillus*, Ericaceae) сорта блукорп са планина Рудник и Дурмитор и јагода (*Fragaria x ananassa*, Rosaceae) сорта асиа из околине Ваљева. Коштичаво воће које је коришћено за производњу вина било је следеће: трешња (*Prunus avium*, Rosaceae) сорта бурлат из околине Гроцке, шљива (*Prunus domestica*, Rosaceae) сорта чачанска родна из околине Ваљева, вишња (*Prunus cerasus* L., Rosaceae) сорте шумадинка и чачански рубин из околине Гроцке, бресква (*Prunus persica*, Rosaceae) сорта рита стар из околине Гроцке и кајсија (*Prunus armeniaca*, Rosaceae) сорта кечкеметска ружа из околине Гроцке. Вино је произведено и од јабуке (*Malus domestica*, Borkh., Rosaceae) сорте јонаголд из околине Гроцке. Наведено воће је било фитосанитарно исправно 100% - без трулих плодова. Одговарајући ваучери за наведено воће се чувају на Фармацеутском факултету, Универзитета у Београду.

4.2. МИКРОВИНИФИКАЦИЈА

Воћно вино произведено је од воћа поступком микровинификације (експеримент 1) (Ћакар et al., 2016, 2019). Пре почетка алкохолног врења сво коштичаво воће прерађено је на два начина. Први начин подразумевао је да се коштице уклоне пре него што се изврши дезинтеграција воћа у циљу добијања воћног кљука, док је други начин подразумевао да се воће дезинтегрише заједно са коштицама које, при томе, нису изломљене. Да би се спречио раст нежељене микрофлоре током врења, у кљук добијен од коштичавог, јагодичастог, бобичастог и јабучастог воћа додат је калијум-метабисулфит ($K_2S_2O_5$) у количини од 10 g на 100 kg кљука. Након тога, додата је чиста култура селекционисаног винског квасца *Lievito Secco* (Enartis, Italy) род *S. cerevisiae* у количини 20 g/100 kg воћног кљука. На овај начин без шећера произведена је контрола. Друга група у оквиру експеримента 1 у микровинификацији подразумевала је исти поступак који је претходно описан, уз додаток сахарозе у кљук пре почетка врења. Тако се повећава укупан садржај шећера у кљуку до 20,5° Brix. Додатак ове количине шећера пре врења имао је за циљ да се постигне 12% v/v алкохола у крајњем производу. Алкохолно врење сваког воћног кљука спроведено је на температури 20°C током 7 до 10 дана у судовима са *pigeage* (потапање) системом. Током врења кљук је потапан два пута током сваког дана. Када је врење завршено младо вино одвојено је од чврстог дела без пресовања - самоток. Након месец дана вино је преточено да би се уклонио талог, што је опет поновљено наредног месеца. Вина произведена на овај начин била су стабилизована и припремљена за анализу. Чувана су на хладном месту на температури од 8°C до 12°C током наредних шест месеци, а након тог времена урађене су све анализе.

Друга микровинификација (експеримент 2) је подразумевала коришћење ароније, боровнице, купине, малине, вишње и јабуке (Ћакар et al., 2018a). Експеримент је подељен на два дела где је у оба случаја воће дезинтегрисано да се добије кљук. Након тога додат је $K_2S_2O_5$ у количини од 10 g на 100 kg кљука. Први део је подразумевао контролу без додатка шећера. Садржај шећера је одређен у воћном кљуку и изражен је у °Brix. Кљуку који је добијен на исти начин као у првом делу експеримента, у другом делу експеримента додат је шећер у количини да би се његов укупни садржај повећао до 20,5° Brix. Поред претходна два дела експеримента у сваком од њих била су спроведена, такође, још два дела експеримента. Први је подразумевао додаток ензимског гликозидолитичког препрата (ЕПГ) Enartis Zym

(Enartis, Italy) у количини од 2 g на 100 kg воћног кљука, док у другом ензим није додат. Оба кљука са и без додатка гликозидолитичког ензимског препарата подвргнути су алкохолном врењу уз помоћ винских квасаца Lievito Secco (Enartis, Italy) и ICV D254 (Lallemand, Canada) рода *S. cerevisiae* у количини од 20 g на 100 kg воћног кљука. Коштичаво воће (вишња) прерађено је на исти начин, при чему су постојале две групе узорака једна са, а друга без коштица у кљуку током алкохолног врења. Коштице су остављене, јер се сматрало да ће ти узорци бити богатији полифенолним једињењима услед екстракције истих из коштице током алкохолног врења у танковима са ргеаге (потапање) системом. Алкохолно врење обављено је на температури 20°C током 7 до 10 дана, при чему је кљук потапан два пута сваког дана. Завршетком врења свако воћно вино одвојено је од чврстог дела (комине). Талог је, такође, уклоњен претакањем (два пута), а вина су чувана наредних шест месеци на температури од 8°C до 12°C, након чега су обављене одговарајуће анализе. Вина у експериментима 1 и 2 су произведена у винарији Виновита из Београда.

4.3. СТАНДАРДИ, РАСТВОРАЧИ И ХЕМИЈСКИ РЕАГЕНСИ

Коришћене хемикалије биле су аналитичког степена чистоће. Стандарди полифенолних једињења (кемпферол, синапинска киселина, гална киселина, хлорогена киселина, ванилинска киселина, кафеинска киселина, *p*-кумаринска киселина, епикатехин, протокатехуинска киселина, *p*-хидроксibenзоева киселина, катехин, рутин, елагинска киселина, кверцетин, нарингенин) набављени су од Sigma Aldrich (Steinheim, Germany). Остали реагенси као што су 2,2-дифенил-1-пикрилхидразил (DPPH), 2,4,6-трипиридил-*s*-триазин (TPTZ) и Folin–Ciocalteu реагенс, такође, су набављени од Sigma Aldrich (Steinheim, Germany). Растворачи метанол, ацетонитрил, диметилсулфоксид (DMSO) као и мравља киселина набављени су од Merck (Darmstadt, Germany). α -глукозидаза (лиофилизованани прах ензимске активности ≥ 10 јединица/mg протеина), пореклом из квасца *Saccharomyces cerevisiae*, *p*-нитрофенил α -D-глукопиранозид и акарбоза су набављени од Sigma Aldrich (Steinheim, Germany). Глутатион-редуктаза пореклом из квасца *S. cerevisiae* (ензимске активности 205 јединица/mg протеина), редуковани глутатион (GSH), етилен-диаминтетра сирћетна киселина (EDTA), епинефрин (адреналин), никотинамид аденин динуклеотид (NADH), редуковани никотинамид аденин динуклеотид (NADPH), тиобарбитурна киселина, говеђи серум албумин, SOD кит набављени су од Sigma Aldrich (Steinheim, Germany). Коначно, натријум дихидроген фосфат, натријум хидроген фосфат, натријум карбонат, сахароза, хлороводонична киселина и 1-бутанол набављени су од Merck (Darmstadt, Germany).

4.4. КОРИШЋЕНА ОПРЕМА

4.4.1. Спектрофотометријска мерења

Спектрофотометријска мерења урађена су на UV–VIS спектрофотометру Evolution 300, Thermo Scientific (Waltham, MA, USA) у кварцној кивети са светлосним путем 1 cm. Коришћен је и ELISA читач Multiskan EX, Thermo Scientific (Waltham, MA, USA).

4.4.2. Течна хроматографија ултравелике моћи раздвајања (UHPLC)

Мерења у оквиру течне хроматографије урађена су на Waters Acquity Ultra Performance H-Class System (Waters, Milford, MA, USA) спрегнутим са троструким квадриполним масеним спектрометром Acquity TQD (Waters, Milford, MA, USA) – систем UPLC-TQ-MS/MS. Дати уређај опремљен је кватернерном пумпом (Waters Quaternary Solvent Manager), ињектором (Waters Sample Manager - FTN (Flow Through Needle)) и фотодиодним детектором (Waters 2998 PDA). Раздвајање је спроведено на колони ZORBAX Eclipse XDB C₁₈ димензија 5 μ m, 150 mm \times 4,6 mm, а након чврсто-течне екстракције (SPE) и на колони Ac-

quity UPLC ВЕН C₁₈ димензија 1,7 µm, 150 mm×2,1 mm. Програм IntelliStart (Waters, Milford, MA, USA; 2005) коришћен је за контролу система док је за обраду података коришћен програм MassLynx 4,1 (Waters, Milford, MA, USA; 2005).

4.4.3. Лиофилизација

Лиофилизација је урађена на лабораторијском лиофилизатору Christ Alpha 1-2/LD plus (Osterode am Harz, Germany).

4.4.4. Центрифугирање

Центрифугирано је на уређајима: Sorvall центрифуга (Fisher Scientific, USA) и ултрацентрифуга Beckman L7-55 (Beckman Instruments, USA).

4.4.5. Остала лабораторијска опрема

За мерење масе коришћене су аналитичка вага Сарторијус и техничка вага Сарторијус. Поред тога, коришћен је рН-метар рН/mV/°C рН 212 (Hanna Instruments, Woonsocket, RI, USA), рефрактометар PAL-87S (Atago, Tokyo, Japan) и дигитални мерач густине алкохола (DMA 35 (Anton Paar, Graz, Austria)). Бидестилована вода је добијена уз помоћ система Ultrapure Water System Arium pro UV Sartorius (Göttingen, Germany). Коришћени су мембрански филтери Premium Syringe Filters (Captive) Regenerated Cellulose (0,45 µm, 15 mm) Agilent Technologies (Santa Clara, CA, USA).

4.5. ОДРЕЂИВАЊЕ ФИЗИЧКО ХЕМИЈСКИХ ПАРАМЕТАРА ВОЋНИХ ВИНА

4.5.1. Садржај укупних киселина титрацијом

Мерење садржаја укупних киселина у вину урађено је титрацијом са раствором NaOH концентрације 0,25 М, уз коришћење фенолфталеина као индикатора завршне тачке титрације и рН-метра (Boulton, 1980). Фенолфталеин је индикатор безбојан у киселој и слабо базној средини, док на рН 8,2 прелази у ружичасту боју. Запремина од 20 mL воћног вина титрирана је раствором натријум-хидроксида концентрације 0,25 М у присуству фенолфталеина као индикатора, са појавом ружичасте боје као завршне тачке титрације. Добијени резултат изражен је у грамима јабучне киселине у литру вина и израчунат је према једначини:

$$\text{Садржај укупних киселина (g/L)} = 67,04 \times M(\text{NaOH}) \times (\text{бр. mL NaOH/бр. mL узорка})$$

4.5.2. рН вредност

У узорцима воћних вина рН вредност одређена је директно, потенциометријским мерењем, уз помоћ рН-метра (OIV 2015).

4.5.3. Количина слободног сумпор диоксида

Количина слободног SO₂ одређена је у вину директном титрацијом са јодом, при чему се I₂ редукује, а SO₂ оксидује (Tanner and Brunner, 1979). У узорак воћног вина од 50 mL додаје се 10 mL H₂SO₄ (1:4) и 3 mL 1 % раствора скроба. Тако добијена смеша се титрира раствором јода концентрације 0,01 М, до појаве тамно плаве боје која мора да буде постојана 30 секунди. Утрошак раствора јода за титрацију је у mL и означава се са n. Резултат се изражава у mg слободног SO₂/литру вина и добијен је према једначини:

$$\text{Количина слободног SO}_2 \text{ (mg/L)} = n \times 12,8$$

4.5.4. Количина укупне суве материје (шећера)

Одређивање количине укупне суве материје је урађено у воћном кљуку пре и после завршетка врења. За ту сврху је коришћен рефрактометар и добијени резултат мерења је изражен у °Brix (OIV 2015).

4.5.5. Садржаја алкохола

Садржај алкохола у воћним винима одређен је у дестилату вина уз помоћ дигиталног денситометра. Резултат је изражен у vol. % и добијен је израчунавањем, коришћењем табела 20°C/20°C. Дефинише се као количина етанола изражена у литрима која се налази у 1 hL вина на температури од 20°C. (OIV, 2015).

4.6. ПРИПРЕМА УЗОРКА

4.6.1. Метода FRAP

Пре анализе, узорци вина су пропуштени кроз мембрански филтер и филтрат је коришћен даље за анализу.

4.6.2. Анти-DPPH радикалска активност

Пре анализе узорци вина пропуштени су кроз мембрански филтер и разблажени водом тако да њихове концентрације буду у интервалу од 1:25 до 1:140, због линеарности између апсорбације и концентрација. Узорци вина за које се претпостављало да ће показати слабију антиоксидативну активност разблажени су у интервалу 4:1 до 1:1 (вино:вода).

4.6.3. Садржај укупних полифенола (метода по FOLIN–CIOCALTEU)

Пре анализе узорци воћног вина профилирани су кроз мембрански филтер.

4.6.4. Течно чврста екстракција (SPE)

Примена течно чврсте екстракције (SPE) има за циљ да смањи утицај осталих једињења која улазе у састав узорка за одређивање садржаја полифенолних једињења. Због тога су коришћене касете (кетрици) Oasis HLB 6CC 200 mg (Kähkönen et al., 2001). Након пропуштања узорка кроз мембрански филтер, примењена је SPE према методи аутора (Ferreiro-González et al., 2014) уз одговарајуће модификације. Кондиционирање и еквилибрација кетрица урађена је са по 5 mL метанола и дејонизоване воде. Након тога 5 mL узорка унето је у кетрицу. Прање је спроведено са 5 mL 5% метанола у дејонизованој води. Испирање је урађено са 6×1 mL 0,1% мравље киселине у метанолу. Након проласка кроз кетрицу, сваки од узорака је упарен до сува и поново растворен у 1 mL 0,2% мравље киселине у дејонизованој води.

4.6.5. Лиофилизација

Лиофилизација је урађена на лабораторијском лиофилизатору током 9 h на притиску од 0,30 mbar и температури -55°C . Лиофилизовани узорци вина чувани су на -20°C и анализирани су у наредних 5 дана. За одређивање активности ензима антиоксидативне заштите и садржаја малон-диалдехида (MDA) лиофилизати су растворени у дестилованој води, одмеравањем 60 mg и растварањем у 600 μL воде.

4.7. ОДРЕЂИВАЊЕ ХЕМИЈСКОГ САСТАВА И БИОЛОШКЕ АКТИВНОСТИ ВОЋНИХ ВИНА

4.7.1. Антиоксидативна активност - метода FRAP

Одређивање антиоксидативне активности узорака спроведено је методом FRAP (Ferric Reducing Activity of Plasma) (Benzie and Strain, 1996), а резултати су изражени у mmol/L Fe²⁺. Сви узорци одређени су у трипликату.

4.7.2. Анти-DPPH радикалска активност

Антирадикалска активност воћних вина праћена је коришћењем стабилног радикала 2,2-дифенил-1-пикрилхидразила (DPPH) (Blois, 1958; Gođanović et al., 2010). Ова метода примењена је да покаже способност хватања слободних радикала од стране анализираних узорака воћног вина. Резултати су приказани као инхибициона концентрација IC₅₀ која представља количину антиоксиданса која је потребна да снизи концентрацију DPPH радикала за 50%. Сваки узорак је припремљен у 5 разблажења у трипликату. Вредности за IC₅₀ су добијене на основу зависности процента инхибиције у односу на концентрацију I% = f(c). Процент инхибиције DPPH радикала је израчунат према једначини:

$$I(\%) = 100 \times (A_{\text{слепе пробе}} - A_{\text{узорка}}) / A_{\text{слепе пробе}}$$

где је A_{слепе пробе} очитана апсорбанца DPPH са водом, A_{узорка} очитана апсорбанца DPPH након реакције са узорком воћног вина. Резултати су изражени као реципрочна вредност I(%) и помножени су са 100.

4.7.3. Садржај укупних полифенола (метода по FOLIN–CIOCALTEU)

Садржај укупних полифенола (TPC, *енгл.* Total Phenolic Content) у узорцима воћних вина одређен је методом по Folin–Ciocalteu коришћењем галне киселине као стандарда (Woraratphoka et al., 2007). Узорак је разблажен дестилованом водом 20 пута. Сви узорци анализирани су у трипликату. Резултат је изражен у mg/L еквивалената галне киселине (mg GAE/L).

4.7.4. Полифенолни профил

4.7.4.1. Систем UPLC-TQ-MS/MS (експеримент 1 и 2)

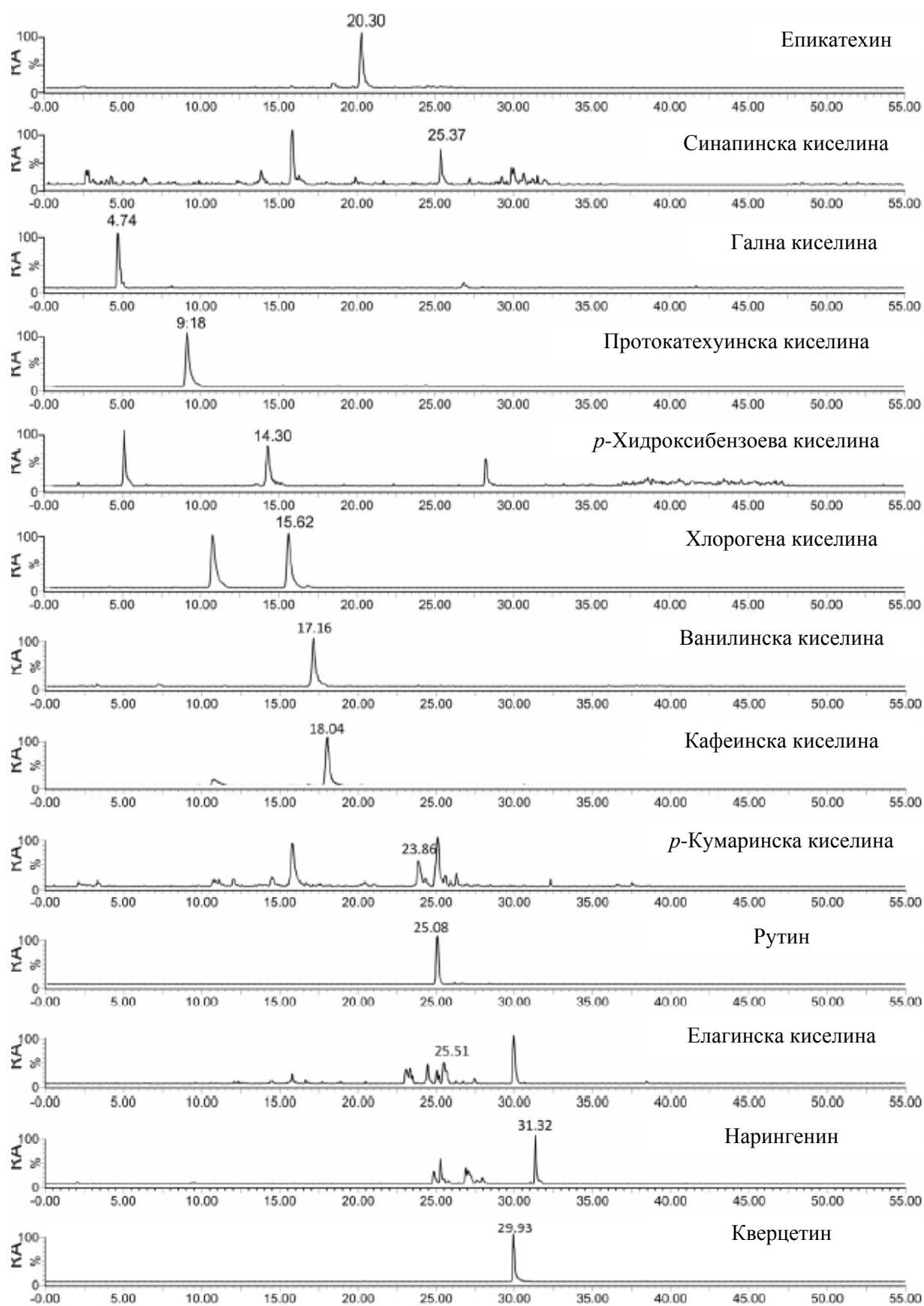
У првој методи примењеној у експерименту 1 узорци су пропуштени кроз мембрански филтер Premium Syringe, па је након тога одређиван садржај одабраних полифенолних једињења системом UPLC-TQ-MS/MS (Gođevac et al., 2009). Температура колоне одржавана је на 25°C, док је проток мобилне фазе био 0,7 mL/минуто. Мобилна фаза састојала се од 0,2% раствора мравље киселине у дејонизованој води (растварач А) и ацетонитрила (растварач Б). Однос њихових запремина током раздвајања био је следећи: од 5 до 16% за растварач Б током првих 20 минута, затим до 40% растварача Б наредних 8 минута, до 70% растварача Б наредних 4 минута и затим до 98% растварача Б наредна 4 минута. Растварач Б одржаван је у проценту од 98% наредних 9 минута, затим је оборен на 5% током 1 минута. Растварач Б одржаван је у проценту од 5% наредних 9 минута у циљу рекондиционирања колоне. Ињектована запремина била је 10 µL, фотодиодни детектор мерио је апсорбанцу у интервалу од 190 до 600 nm.

Идентификација полифенолних једињења спроведена је упоређивањем ретенционих времена (t_R), UV максимума (λ_{max}) и масених спектра полифенолних једињења стандарда и узорака. Одређивање садржаја сваке компоненте урађено је методом спољашњег стандарда убацивањем добијене површине испод пика узорака воћних вина у калибрационе криве стандарда. Метанолни раствори стандарда полифенолних једињења направљени су у

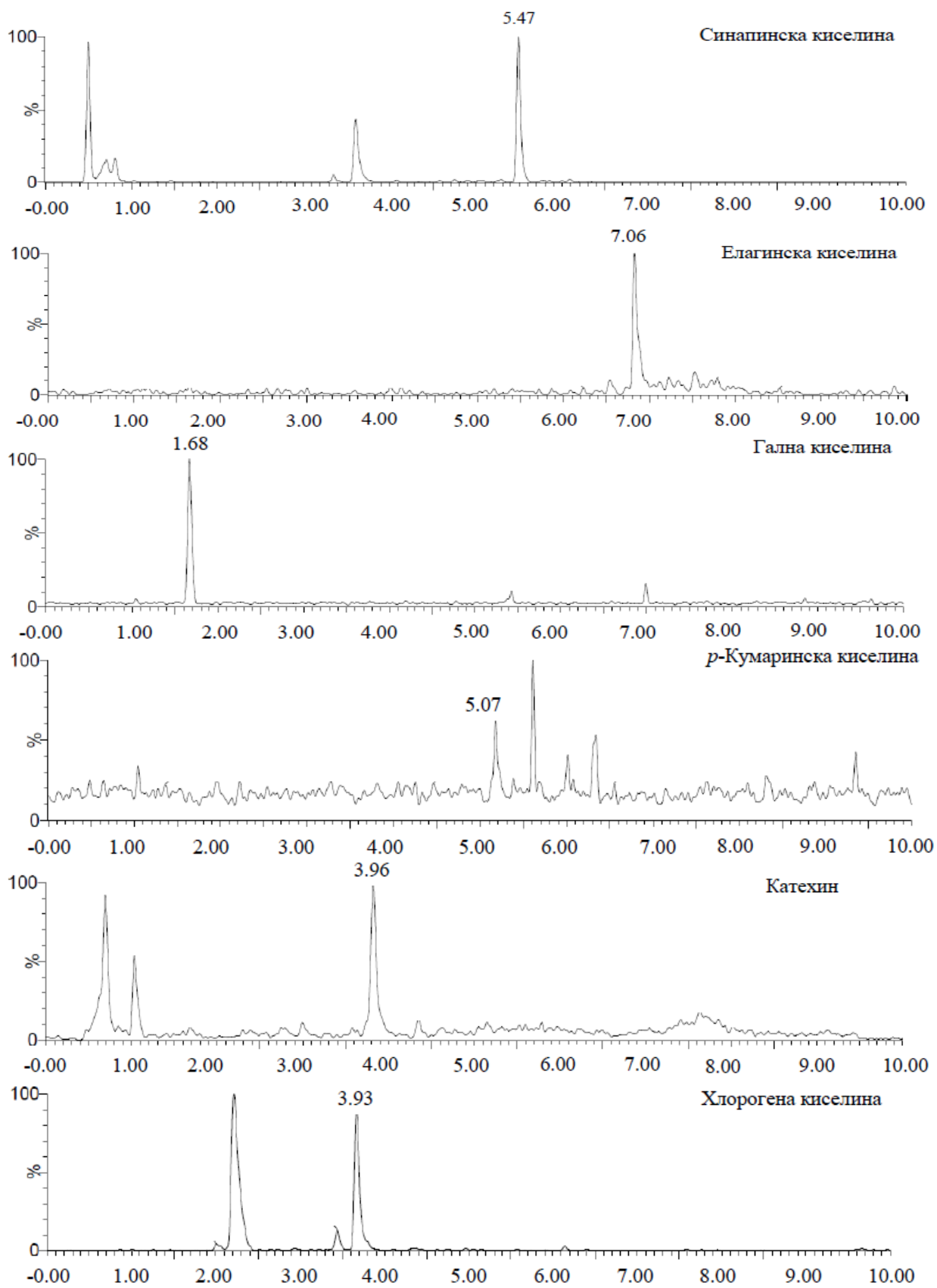
концентрацијама од 0,0001, 0,001, 0,01, 0,1 и 1 mg/mL, и ињектовани су у систем за анализу. На основу површина испод пикова стандарда (**Слика 11**) добијене су вредности које су коришћене за конструисање калибрационе криве за стандарде полифенолних једињења. Услови за одређивање садржаја полифенолних једињења обухватили су јонизациони режим, напон на конусу, колизиону енергију и MRM (специфичне прекурсор продукт) прелазе који су добијени ињектовањем метанолних раствора полифенолних једињења у масени спектрометар коришћењем програма IntelliStart (**Табела 1**). Услови за електроспреј јонизацију (ЕСЈ) од стране јонског извора су били следећи: капиларна волтажа 3,5 kV, волтажа на екстрактору 3 V, температура на извору 150°C, температура распадања 450°C и проток гаса 900 L/h. Као гас на конусу коришћен је азот. Спектри су снимљени у позитивном и негативном режиму рада [M+H]⁺ и [M-H]⁻ као родитељски јони, током колизије са аргоном добијени су њихови производи јони. Програм MassLynx V4.1 коришћен је за обраду и добијање резултата.

У другој методи примењеној у експерименту 2 узорци су пропуштени кроз мембрански филтер Premium Syringe, затим је примењена течно чврста екстракција узорка (SPE) па је онда одређиван садржај изабраних полифенолних једињења системом UPLC-TQ-MS/MS. Током анализе температура колоне одржавана је на 40°C, проток мобилне фазе је био 0,4 mL/минуто, док је ињектована запремина била 1 µL. Мобилна фаза састојала се од 0,2 % мравље киселине у дејонизованој води (растварач А) и ацетонитрила (растварач Б). Однос њихових запремина током раздвајања био је следећи: 95% растварач А током 0,5 минута, 50% растварач А током наредних 8 минута (линеарна промена у садржају мобилне фазе), и 95% растварач А током наредна 2 минута.

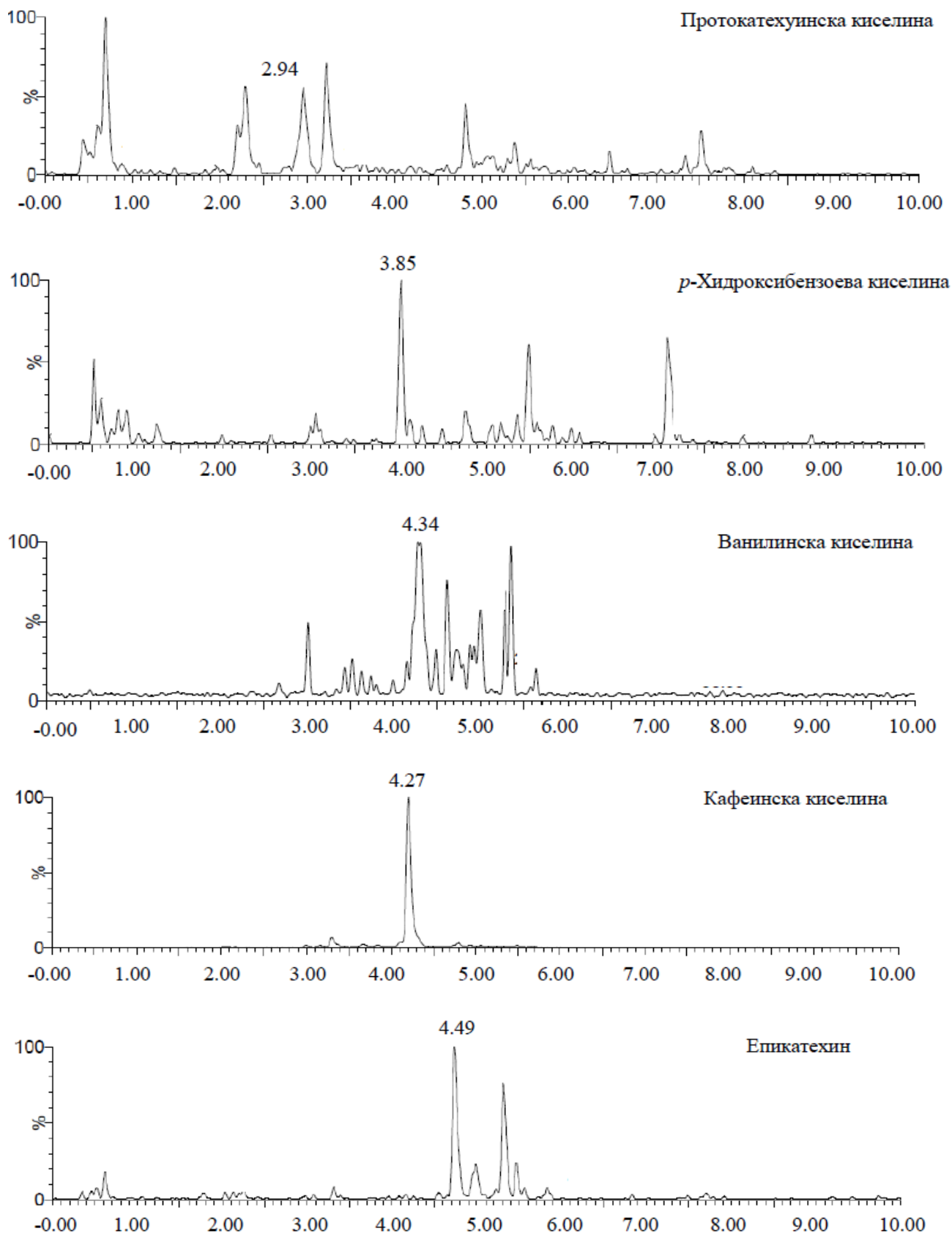
Идентификација полифенолних једињења спроведена је упоређивањем ретенционих времена (t_R) и масених спектра полифенолних једињења стандарда и узорка (**Слике 12 и 13**). У овој методи није коришћен UV детектор, јер је масени детектор много прецизнији, па због тога ни UV максимуми нису коришћени за идентификацију (λ_{max}). Одређивање садржаја урађено је методом спољашњег стандарда и припремљени су метанолни раствори стандарда у истим концентрацијама као и у претходној методи. Коришћени су за конструкцију калибрационе криве на основу које је одређиван садржај полифенолних једињења у узорцима. Као и код прве методе коришћен је програм IntelliStart на основу кога су добијени услови за одређивање садржаја полифенолних једињења (**Табела 2**). Услови за електроспреј јонизацију (ЕСЈ) од стране јонског извора су били следећи: капиларна волтажа 4 kV, температура на извору 150°C, температура распадања 450°C и проток гаса 650 L/h. Као гас на конусу коришћен је азот. Спектри су снимљени у позитивном и негативном режиму рада [M+H]⁺ и [M-H]⁻ као родитељски јони током колизије са аргоном добијени су њихови производи јони. Програм MassLynx V4.1 коришћен је за обраду и добијање резултата.



Слика 11. Масени хроматограми стандарда полифенолних једињења (експеримент 1).



Слика 12. Масени хроматограми стандарда полифенолних једињења (експеримент 2).



Слика 13. Масени хроматограми стандарда полифенолних једињења (експеримент 2).

Табела 1. Услови за идентификацију и квантификацију полифенлоних једињења (метода 1).

Полифенолно једињење	Молекулска формула	Маса	Јонизациони режим ЕСЈ	Прелаз MRM	Напон на конусу (V)	Колизиона енергија (eV)	t _R (минути)
Епикатехин	C ₁₅ H ₁₄ O ₆	290	+	291→139	26	16	20,30
Кемпферол	C ₁₅ H ₁₀ O ₆	286	+	287→153	56	36	31,52
Синапинска киселина	C ₁₁ H ₁₂ O ₅	224	+	225→175	12	14	25,37
Гална киселина	C ₇ H ₆ O ₅	170	-	169→125	30	20	4,74
Протокатехуинска киселина	C ₇ H ₆ O ₄	154	-	153→109	30	20	9,18
<i>p</i> -Хидроксибензоева киселина	C ₇ H ₆ O ₃	138	-	137→93	30	20	14,30
Катехин	C ₁₅ H ₁₄ O ₆	290	+	291→139	26	20	15,82
Хлорогена киселина	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	354	+	355→163	20	12	15,62
Ванилинска киселина	C ₈ H ₈ O ₄	168	+	169→93	26	14	17,16
Кафеинска киселина	C ₉ H ₈ O ₄	180	-	179→135	30	20	18,04
<i>p</i> -Кумаринска киселина	C ₉ H ₈ O ₃	164	+	165→91	22	22	23,86
Рутин	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₆	610	-	609→301	60	20	25,08
Елагинска киселина	C ₁₄ H ₆ O ₈	302	+	303→89	50	56	25,51
Нарингенин	C ₁₅ H ₁₂ O ₅	272	+	273→153	24	24	31,32
Кверцетин	C ₁₅ H ₁₀ O ₇	302	-	301→151	30	20	29,93

ЕСЈ – Електроспреј јонизација

MRM – Специфични прелаз прекурсор продукт

t_R – Ретенционо време

Табела 2. Услови за идентификацију и квантификацију полифенлоних једињења (метода 2).

Полифенолно једињење	Молекулска формула	Маса	Јонизациони режим ЕСЈ	Прелаз MRM	Напон на конусу (V)	Колизиона енергија (eV)	t _R (минуте)
Епикатехин	C ₁₅ H ₁₄ O ₆	290	+	291→139	26	16	4,49
Синапинска киселина	C ₁₁ H ₁₂ O ₅	224	+	225→175	12	14	5,47
Гална киселина	C ₇ H ₆ O ₅	170	-	169→125	30	20	1,68
Протокатехуинска киселина	C ₇ H ₆ O ₄	154	-	153→109	30	20	2,94
<i>p</i> -Хидроксибензоева киселина	C ₇ H ₆ O ₃	138	-	137→93	30	20	3,85
Катехин	C ₁₅ H ₁₄ O ₆	290	+	291→139	26	20	3,96
Хлорогена киселина	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	354	+	355→163	20	12	3,93
Ванилинска киселина	C ₈ H ₈ O ₄	168	+	169→93	26	14	4,34
Кафеинска киселина	C ₉ H ₈ O ₄	180	-	179→135	30	20	4,27
<i>p</i> -Кумаринска киселина	C ₉ H ₈ O ₃	164	+	165→91	22	22	5,07
Елагинска киселина	C ₁₄ H ₆ O ₈	302	+	303→89	50	56	7,06

ЕСЈ – Електроспреј јонизација

MRM – Специфични прелаз прекурсор продукт

t_R – Ретенционо време

4.7.4.2. Линеарна регресиона анализа, лимити детекције (LOD) и лимити квантификације (LOQ) за изабрана полифенолна једињења (експеримент 1 и 2)

Линеарном регресионом анализом добијене су калибрационе криве за изабране стандарде полифенолних једињења у оквиру експеримента 1. Линеарност је добијена на основу анализе шест стандардних раствора полифенолних једињења прављених у трипликату. Добијени су подаци линеарног опсега, нагиб праве (a), одсечак праве (b) и квадрат вредности коефицијента корелације (R^2) (Табела 3). Добијене су добре вредности за R^2 које су биле у интервалу од 0,9920 до 0,9996. Осетљивост методе је процењена тако што је одређен лимит детекције (LOD) и лимит квантификације (LOQ) за свако квантификовано једињење у методи. Вредности за ова два податка су израчунате на основу линеарних регресионих правах. Интервал за вредности LOD је био од 0,02 до 1,55 $\mu\text{g/mL}$ док је за LOQ био од 0,06 до 5,16 $\mu\text{g/mL}$. Управо пошто су вредности за ова два параметра биле ниске може се јасно истаћи да је ова метода била осетљива и да се може користити за квантитативну анализу полифенолних једињења воћних вина.

Табела 3. Вредности за податаке линеарне регресионе анализе, LOD и LOQ (експеримент 1).

Једињење	Линеарни опсег ($\mu\text{g/mL}$)	a	b	R^2	LOD ($\mu\text{g/mL}$)	LOQ ($\mu\text{g/mL}$)
Епикатехин	4,00-200,00	191,03	154,29	0,9996	0,02	0,06
Кемпферол	1,00-10,00	134,20	1246,32	0,9940	0,30	0,85
Синапинска киселина	0,10-5,00	383,26	116,22	0,9992	0,03	0,09
Гална киселина	1,00-150,00	51,93	694,66	0,9960	0,14	0,46
Протокатехуинска киселина	10,00-100,00	82,94	1850,92	0,9922	0,45	1,50
<i>p</i> -Хидроксибензојева киселина	0,50-100,00	40,73	252,88	0,9986	0,045	0,15
Катехин	0,50-50,00	164,48	259,89	0,9992	0,054	0,18
Хлорогена киселина	50,00-600,00	611,81	3907,68	0,9970	1,55	5,16
Ванилинска киселина	0,80-20,00	263,09	1328,35	0,9958	0,15	0,52
Кафеинска киселина	0,40-80,00	205,82	3492,90	0,9944	0,099	0,33
<i>p</i> -Кумаринска киселина	0,80-50,00	238,85	2827,68	0,9966	0,18	0,62
Рутин	1,00-50,00	8,52	310,99	0,9962	0,066	0,22
Елагинска киселина	0,50-200,00	11,61	239,00	0,9990	0,051	0,17
Нарингенин	0,10-10,00	944,07	604,13	0,9984	0,03	0,095
Кверцетин	1,00-100,00	44,58	882,07	0,9920	0,12	0,42

a - нагиб праве; b - одсечак праве; једначина праве $y = a x + b$

Линеарном регресионом анализом добијене су калибрационе криве за изабране стандарде полифенолних једињења и у експерименту 2. Линеарност је добијена на основу анализе шест стандардних раствора полифенолних једињења прављених у трипликату. Добијени су подаци линеарног опсега, нагиб праве (a), одсечак праве (b) и квадрат вредности коефицијента корелације (R^2) (Табела 4). Добијене су добре вредности за R^2 које су биле у интервалу од 0,9894 до 0,9998. Осетљивост методе је процењена тако што је одређени лимит детекције (LOD) и лимит квантификације (LOQ) за свако квантификовано једињење у методи. Вредности за ова два податка су израчунате на основу линеарних регресионих

правих. Интервал за вредности LOD је био од 0,02 до 0,37 $\mu\text{g/mL}$ док је за LOQ био од 0,05 до 0,94 $\mu\text{g/mL}$. Управо пошто су вредности за ова два параметра биле знатно ниске може се јасно истаћи да је ова метода била осетљива и да се може користити за квантитативну анализу полифенолних једињења воћних вина.

Табела 4. Вредности за податаке линеарне регресионе анализе, LOD и LOQ (експеримент 2).

Једињење	Линеарни опсег ($\mu\text{g/mL}$)	a	b	R ²	LOD ($\mu\text{g/mL}$)	LOQ ($\mu\text{g/mL}$)
Епикатехин	0,1-100,00	165,93	16,99	0,9998	0,03	0,07
Синапинска киселина	1,00-100,00	1,25	-2,29	0,9962	0,37	0,92
Гална киселина	0,1-300,00	54,63	-2,39	0,9998	0,02	0,05
Протокатехуинска киселина	10,00-1000,00	86,15	31,94	0,9998	0,12	0,32
<i>p</i> -Хидроксибензоева киселина	1,00-200,00	103,27	75,07	0,9998	0,25	0,68
Катехин	1,00-100,00	163,61	113,07	0,9992	0,22	0,48
Хлорогена киселина	1,00-1000,00	123,47	47,46	0,9996	0,09	0,19
Ванилинска киселина	1,00-200,00	3,08	-3,03	0,9994	0,32	0,94
Кафеинска киселина	1,00-300,00	311,72	153,14	0,9998	0,092	0,25
<i>p</i> -Кумаринска киселина	1,00-100,00	28,70	-12,68	0,9986	0,15	0,41
Елагинска киселина	1,00-200,00	88,92	234,99	0,9894	0,29	0,79

a - нагиб праве; b - одсечак праве; једначина праве $y = a x + b$

4.7.5. Анти α -глукозидазна активност

Код лиофилизованих узорака воћних вина је испитивана способност анти α -глукозидазне активности (McCue et al., 2005). Око 0,4 јединице/mL α -глукозидазе је растворено у фосфатном пуферу (натријум-дихидроген фосфат, натријум-хидроген фосфат) концентрације 0,1 М и рН 6,8. Лиофилизовани узорци растворени су у диметил-сулфоксиду (DMSO) у концентрацији од 5×10^{-2} g/mL. Тако добијени раствори даље су разблаживани фосфатним пуфером 0,1 М (рН 6,8), тако да концентрација код сваког узорка у бунарићима на плочи буде у интервалу од 8×10^{-8} до 1×10^{-3} g/mL. У сваки бунарић додато је по 50 μL раствора узорка или 10% DMSO који је коришћен као слепа проба. Након додатка 50 μL раствора ензима у бунариће са узорцима односно слепом пробом урађена је инкубација на 37°C током 15 min. Затим је 50 μL супстрата раствора, *p*-нитрофенил α -D-глукопиранозида (PNP-G у фосфатном пуферу, 1,5 mg/mL), додато у сваки бунарић. Апсорбанца је мерена на таласној дужини 405 nm, након чега је узорак инкубиран на 37°C током 5 min, а затим је опет измерена апсорбанца. Разлика апсорбанци ΔA је добијена за све узорке као и за слепу пробу. Као позитивна контрола коришћена је акарбоза.

Анти α -глукозидазна активност стандарда полифенолних једињења одређена је на исти начин као и узорака. Стандарди су растворени у DMSO и добијена је почетна концентрација 50 mmol/L, а касније су стандарди разблаживани до истих концентрација као и узорци. Одређивања код узорака и стандарда рађена су у трипликату.

4.7.6. Параметри оксидативног стреса

4.7.6.1. Изоловање синаптозома из мозга пацова

У експериментима су коришћени мужјаци пацова соја Wistar старости 90 дана. Животиње су гајене у виваријуму Медицинског факултета Универзитета у Београду под стандардним лабораторијским условима (температура од 22°C и вештачко осветљење од 7-19 сати) и имале су слободан приступ храни и води.

Мозгови пацова изоловани су након жртвовања животиња декапитовањем помоћу гилјотине (Hardvard Apparatus) у јутарњим часовима. Изоловани цели мозгови су испирани, а затим хомогенизовани у 10 mL хладне пуферисане 0,32 М сахарозе, рН 7,4 помоћу стакленог хомогенизера са тефлонским клипом. Клип је причвршћен на мотор, док је брзина хомогенизације била 900 rpm са двадесет завеслаја тучком. Хомогенизовање ткива, као и све остале фазе током изоловања, раде се на леду (4°C). Добијени хомогенат ткива центрифугиран је 10 минута на 1000×g у центрифуги Sorvall, чиме се таложе једра. Супернатант се одлије, а талог испере са 10 mL хладне пуферисане 0,32 М сахарозе и центрифугира на исти начин. Супернатанти, који садрже синаптозоми (пресинаптичке нервне завршетке), споје се и центрифугирају 20 минута на 10000×g (ултрацентрифуга) на 4°C. Добијени талог представља непречишћену синаптозомалну фракцију у којој се налазе синаптозоми, митохондрије и мембрански фрагменти (Cohen et al., 1977; Vasić et al., 1999). Талог непречишћених синаптозома ресуспендује се у 3 mL пуферисане 0,32 М сахарозе.

Издвојени синаптозоми добијени из мозга пацова били су изложени прооксидансу - водоник пероксиду који је довео до оксидативног стреса. Након тога третирани су узорцима лиофилизата воћних вина чија је припрема описана у поглављу 4.6. Праћена је активност антиоксидативних ензима и то супероксид дисмутазе, глутатион пероксидазе и каталазе. Поред ензима антиоксидативне заштите праћен је и степен липидне пероксидације у синаптозомима, и то на основу садржаја малон-диалдехида (MDA).

4.7.6.2. Третман синаптозома

Леофилизовани узорци воћних вина растворени су у дестилованој води и додати су синаптозомима. Концентрација раствора добијена је тако да се леофилизовани узорак добро раствори у дестилованој води. Прелиминарни експерименти показали су да је 60 mg добро растворљиво у 600 µL дестиловане воде, што је количина узорка којом се добија оптимална концентрација раствора леофилизата вина који су примењени у експерименту.

Контрола се састојала од 900 µL суспензије синаптозома и 100 µL дестиловане воде. Контрола са водоник пероксидом (контрола+H₂O₂) је садржала 900 µL суспензије синаптозома која је третирана са 50 µL раствора водоник-пероксида концентрације 8 mM којим је експериментално изазван оксидативни стрес и додато је 50 µL дестиловане воде (Gao et al., 2001). Анализа се састојала од 900 µL суспензије синаптозома која је третирана са 50 µL раствора водоник-пероксида концентрације 8 mM и 50 µL леофилизата вина раствореног у дестилованој води. Контрола и анализа су загреване на воденом купатилу током 1 сата на 37°C. Тако припремљене контрола и анализа чуване су на температури од -70°C, за одређивање активности антиоксидативних ензима и садржаја малон-диалдехида (MDA).

4.7.6.3. Каталаза (CAT)

Активност каталазе је мерена методом која прати разградњу H₂O₂ (Beutler, 1984). Запремина од 50 µL суспензије синаптозома је додата у кварцну кивету (на собној температури), у којој се налазило 2,98 mL 50 mM фосфаног пуфера у 0,4 mM EDTA. Ензимска реакција почиње додатком 30 µL 3% H₂O₂. Праћена је промена, односно смањење вредности апсорбанце, услед ензимске деградације H₂O₂, на 240 nm, током 3-5 минута.

Активност каталазе изражена је као U/mg протеина. Јединица ензимске активности (U) дефинише се као 1 μmol утрошеног $\text{H}_2\text{O}_2/\text{min}$.

4.7.6.4. Глутатион пероксидаза (GPx)

Мерење активности GPx је урађено тако што је прво припремљена реакциона смеша која садржи (једна мера): 8,9 ml фосфатног пуфера pH 7 (50 mM NaH_2PO_4 + 0,40 mM EDTA), 50 μL 200 mM GSH, 1 mg β -NADPH и 100 μL 100 јединица/mL глутатион редуктазе из пекарског квасца (*S. cerevisiae*). У кварцну кивету (собна температура) додато је 3 mL реакционе смеше и 0,3 mL узорка синаптозома. Кивета је убачена у спектрофотометар и у њој је започета ензимска реакција додатком 50 μL 0,042% H_2O_2 где је на $\lambda = 240$ nm добијена апсорбанца у интервалу од 0,52 до 0,56. Пад вредности апсорбанце ($\lambda = 340$ nm) праћен је на 15 секунди у току 4-5 минута тј. до престанка промене. Активност GPx изражена је као $\Delta\text{A}/\text{минут}/\text{mg}$ протеина (Wendel, 1980).

4.7.6.5. Супероксид дисмутаза (SOD)

Активност укупне (тоталне) SOD мерена је према методи аутора Мисре и Фридовича (Misra and Fridovich, 1972). Суспензија синаптозома запремине од 10-30 μL додата је у 3 mL 0,5 M EDTA-натријум карбонатног пуфера, pH 10,2. Ензимска реакција започета је додатком 100 μL адреналина (30 mM у 0,1 M HCl) док је активност мерена на 480 nm током 4 минута. Једна јединица (U) SOD дефинише се као количина ензима која инхибира брзину оксидације адреналина за 50%. Активност ензима изражена је као U/mg протеина.

4.7.6.6. Садржај малон-диалдехида (MDA)

Одређивање садржаја MDA у узорцима синаптозома урађено је методом са тиобарбитурном киселином (Aguota et al., 1989). У запремину од 500 μL узорка додато је 500 μL 25% HCl и 500 μL 1% тиобарбитурне киселине у 50 mM NaOH. Смеша је загревана 10 минута на кључалом воденом купатилу, а затим охлађена до собне температуре. Додато је 3 mL 1-бутанола за екстракцију и промешано на вортексу 30 секунди. За успешно одвајање фаза центрифугирање је урађено 10 минута на 2000 \times g у центрифуги Sorvall. Садржај MDA одређен је спектрофотометријским мерењем апсорбанце органске фазе (горњи слој) на 532 nm. Слепа проба садржала је 50 mM NaOH уместо тиобарбитурне киселине и припремана је за сваки узорак посебно. Вредности садржаја MDA изражене су као nmol MDA/mg протеина, а одређене су на основу измерене вредности апсорбанце и моларног апсорпционог коефицијента формираног комплекса MDA-тиобарбитурна киселина.

4.7.6.7. Концентрација протеина

Концентрација протеина одређена је по методи аутора Марквела и сарадника (Markwell et al., 1978), а представља модификовану методу аутора Лорија (Lowry et al., 1951). За одређивање концентрације протеина коришћено је 10 μL узорка у који је додато 890 μL воде. Слепа проба садржала је воду уместо узорка. Затим је додато 0,1 mL 1M NaOH, а након 10 минута и 2 mL реагенса који садржи 4% CuSO_4 и смешу 2% Na_2CO_3 , 0,16% Na, К-тартарата ($\text{C}_4\text{H}_4\text{KNaO}_6$) и 1% SDS у односу 1:100. После 15 минута додато је 0,3 mL Folin–Ciocalteu реагенса, претходно разблаженог са водом у односу 1:1. Апсорбанца раствора тамно плаве боје мерена је након 30-45 минута на 750 nm. Концентрација протеина читана је из стандардне криве, на основу вредности измерене апсорбанце. Стандардна крива представља линеарну зависност измерених апсорбанци на 750 nm од познатих концентрација говеђег серум албумина.

4.7.7. Молекуларни докинг

Кристалне структуре α -глюкозидазе (PDB ID: 2ZE0) добијене су из Банке податка протеина (Protein Data Bank). Дводимензионалне структуре једињења нацртане су уз помоћ програма ChemDraw 7 (Cambridge Soft, Cambridge, Massachusetts, USA) и пребачене су у тродимензионалне структуре уз помоћ програма Chem3D 7 (Cambridge Soft, Cambridge, Massachusetts, USA). Структуре ензима и лиганата који се везују су припремљене уз помоћ Autodock алата, док су докинг прерачунавања изведена помоћу програма Autodock Vina. Везивање акарбозе као следеће проба урађено је на целом протеину да би се пронашла везујућа места. Сва израчунавања обављена су у коцкастом простору величине 40 Å и координатама (X, Y и Z) чије су вредности, (посматране из средине коцкастог простора) 7,215, 4,222 и 16,824. Вредности везујућих енергија изражених у kcal/mol коришћене су за приказивање добијених резултата докинг студије.

4.8. СТАТИСТИЧКА ОБРАДА РЕЗУЛТАТА

Статистичка анализа урађена је у програму SPSS Statistic V22.0 (IBM, Chicago, IL, USA; 2014), у коме је урађен статистички тест упарених узорака и једнофакторска и двофакторска ANOVA са Такијевим пост хок тестом (*енгл.* Tukey post hoc test), као и анализа главних компонената PCA (*енгл.* Principal Component Analysis), и хијерархијска кластер анализа HCA (*енгл.* Hierarchical Cluster Analysis). Линеарна регресиона анализа је урађена у програму Origin Pro 8 (OriginLab, Northampton, MA, USA; 2008).

5. РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЈА

5.1. ФИЗИЧКО-ХЕМИЈСКИ ПАРАМЕТРИ ВОЋНИХ ВИНА

Воћна вина као и сва алкохолна пића, пролазе кроз поступак врења и представљају једну сложену смешу великог броја једињења. Једињења могу да воде порекло из воћа, могу настати као производ врења, али могу да буду и пореклом из квасаца који су одговорни за врење. Воће садржи извесну количину једињења која у неизмењеном облику директно прелазе у воћно вино, док други део подлеже одређеним биохемијским трансформацијама током алкохолног врења. Током одлежавања и сазревања воћног вина након флаширања, могу настати, такође, различита једињења (Polášková et al., 2008). Већина случајева указује да једињења добијена из претходно поменутих поступака воде до тога да се добије један производ добрих сензорних карактеристика као што је воћно вино. Некада, нажалост, може да дође до настанка једињења која могу да доведу до кварења вина, што утиче на појаву непријатног укуса и мириса.

Чињенице указује да упркос производњи и потрошњи воћних вина не постоји законодавно-правна регулатива у смислу аналитике и одређивања њихових хемијских параметара квалитета у нашој земљи. Тако се често за воћна вина примењују правилници о хемијској анализи који се односе на вина од грозђа. Поред свега тога, генерално гледајући воћна вина ипак нису запостављена, па тако законски прописи везани за ове производе постоје у Аустрији - Austrian Wine Act (2009), Бразилу (2009), Новом Зеланду - MAF (2011), Великој Британији - WSTA (2015) и САД - CFR (2015). Такође, истичу се и прописи познатији под акронимом AICV (2014) које је дало Европско удружење за производњу сидера и воћних вина. Резултати ове дисертација могу дати потенцијални допринос изради будућег Правилника о квалитету и другим захтевима за воћно вино који тренутно не постоји у Републици Србији.

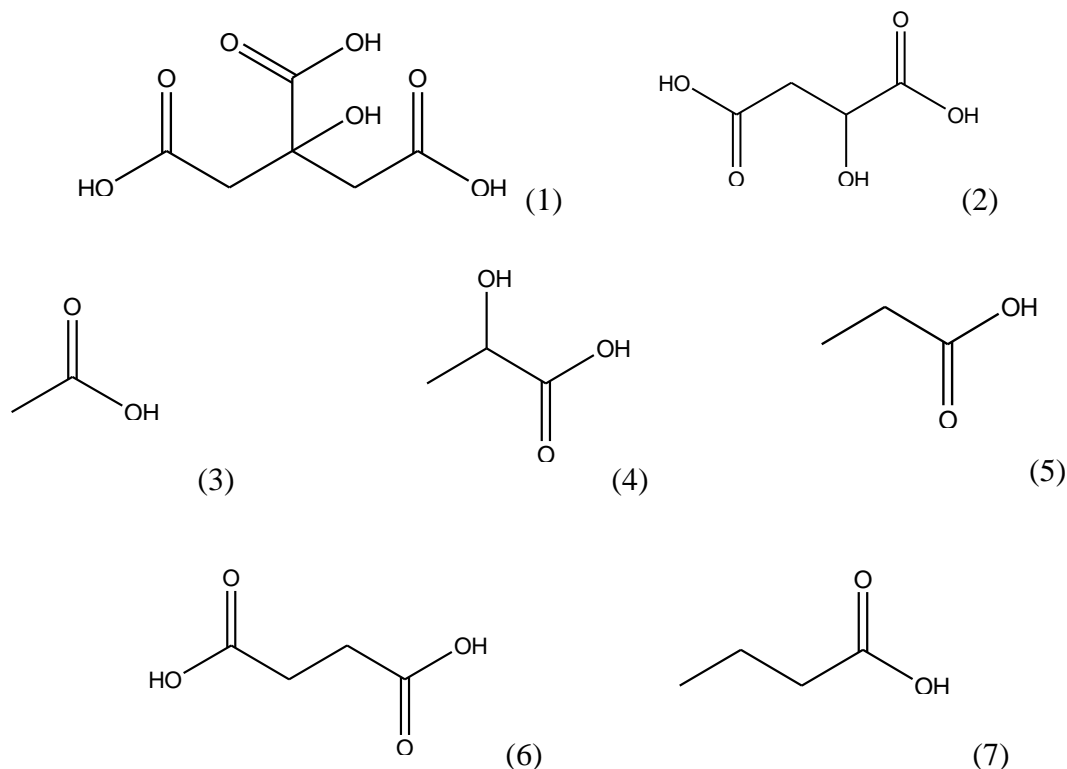
5.1.1. Укупне киселине

Одређивање укупних киселина у воћним винима титрацијом је метода која је преузета из одређивања истог параметра, али у винима од грозђа, у којима је садржај укупних киселина у интервалу од 7 до 9,5 g/L. (OIV, 2015). Вредности за укупни садржај титрабилних киселина у експерименту 1 (Табеле 5–7) су биле у интервалу од 4,14 до 13,80 g/L вина. Најнижи садржај је био у вину од јабуке, док је највиши садржај био у вину од малине. Експеримент 2 (Табеле 8 и 9), у оквиру кога је у микровинификацији коришћен квасац *Lievito Secco*, је дао садржај укупних титрабилних киселина у узорцима од 4,81 до 13,80 g/L вина. Најнижи садржај је био у вину од јабуке, док је највиши био у вину од малине. Експеримент 2 (Табеле 10 и 11) у оквиру кога је у микровинификацији коришћен квасац ICV D254, је дао садржај укупних титрабилних киселина у узорцима од 4,75 до 13,11 g/L вина. Најнижи садржај је био у вину од јабуке, док је највиши био у вину од малине.

Основне киселине које се налазе у воћу су јабучна и лимунска (Слика 14), док су остале присутне у знатно нижој количини. Садржај и врста присутних киселина се разликују од воћа до воћа. Током врења воћног кљука настају неке нове киселине као што су сирћетна, млечна, пропионска, ћилибарна и бутерна киселина (Слика 14). Неке од ових киселина, неповољно утичу на сензорни квалитет вина, тако да је потребно предузети превентивне мере да се оне не појаве. Присуство киселина у вину и рН вредност су два параметра који су одговорни за укус, боју, стабилност и сазревање вина (Boulton, 1980; Milovanovic et al., 2019). Разлог због кога се садржај укупних киселина одређује је тај што се тако показује колико је киселина присутно у вину, без обзира на то од ког је воћа оно произведено. Присуство киселина у вину је битно, јер оне штите вино од кварења.

Укупне киселине имају утицај на количину слободног SO_2 који штити вино од микробиолошког кварења. Одређивање садржаја киселина у соковима од воћа, воћним винима и винима од грозђа се врши и због одређивања квалитета и идентитета производа са циљем спречавања евентуалног фалсификовања (Ehling and Cole, 2011). Код воћних вина за разлику од вина од грозђа, садржај укупних киселина се изражава у односу на јабучну киселину. Тако се лимунска киселина истиче у citrusима, док је јабучна киселина најдоминантнија у брескви, јабуци и шљиви (Flores et al., 2012). Садржај киселина изражен у односу на јабучну киселину у воћним винима зависи од воћа од кога је произведено па је тако у вину од боровнице 2,8 g/L, купине 3,5 g/L (Johnson and Gonzalez de Mejia, 2011), малине 1,5 g/L (Ryan and Dupont, 1973), јабуке 6,2 g/L и вишње 6,82 g/L (Martin et al., 1971).

Битно је разграничити два термина и то укупну киселост и киселине које се одређују титрацијом. Први термин се дефинише као укупан број протона свих органских киселина које су присутне у вину као недисосоване. Други термин се односи на киселине које се одређују титрацијом и зависи од броја дисосованих протона из органских киселина који су неутралисани јаком базом током титрације. Вредност која се добије за садржај киселина титрацијом је увек мања него укупна киселост. Управо садржај киселина одређен титрацијом се много лакше одређује него укупна киселост па се због тога користи као параметар квалитета, било да су у питању вина од грозђа или воћа (Boulton, 1980; OIV 2015).



Слика 14. Структуре киселина присутних у воћним винима: лимунска (1), јабучна (2), сирћетна (3), млечна (4), пропионска (5), ћилибарна (6) и бутерна (7).

5.1.2. рН вредност

Вредности за рН у експерименту 1 (Табеле 5–7) су биле у интервалу од 2,85 до 4,10. Најнижа рН вредност је била у вину од малине и боровнице, док је највиша забележена у вину од брескве. Експеримент 2 (Табеле 8 и 9), у оквиру кога је у микровинификацији коришћен квасац *Lievito Secco*, је дао рН вредности у узорцима од 2,81 до 3,66. Најнижа рН вредност је била у вину од купине, док је највиша била у вину од ароније. Експеримент 2

(Табеле 10 и 11) у оквиру кога је у микровинификацији коришћен квасац ICV D254, је дао рН вредности у узорцима од 2,76 до 3,80. Најнижа рН вредност је била у вину од купине док је највиша била у вину од вишње. Вредност рН представља негативан логаритам концентracије водоникових јона, тако да ниже рН вредности указују на киселију, док више на базнију средину. Нижа рН вредност у вину указује на већу укупну киселост вина тако да је у винима од грожђа она у интервалу 2,8 до 4 (Ribéreau-Gayon et al., 2006). Код воћних вина рН вредности могу да буду различите и зависе од воћа од кога је произведено, тако да вино од црне шљиве има рН 2,7 (Okigbo, 2003), од банане рН 3,3 (Akubor et al., 2003), боровнице рН 3,3-4,3 (Santos et al., 2016) док је у вину од ананаса рН 3,7 (Chanprasartsuk et al., 2012). Када је рН вредност код вина виша од 3,6 нестабилност вина је већа, док ниже рН вредности доприносе бољој стабилности. То је због тога, јер се спречава кварење и развој бактерија и повећава количина слободног SO₂. Вредност рН утиче и на боју, мирис и укус вина (Ribéreau-Gayon et al., 2006).

5.1.3. Количина сумпор(IV)-оксида (SO₂)

Слободни SO₂ је онај који није везан за биомолекуле присутне у вину (OIV 2015). Вредности за слободан SO₂ у експерименту 1 (Табеле 5–7) су биле у интервалу од 7,36 до 25,59 mg/L. Најнижа вредност је била у вину од кајсије, док је највиша забележена у вину од малине. Експеримент 2 (Табеле 8 и 9), у оквиру кога је у микровинификацији коришћен квасац Lievito Secco, показао је вредности за слободан SO₂ у узорцима од 8,23 до 21,00 mg/L. Најнижа вредност је била у вину од малине, док је највиша била у вину од ароније. Експеримент 2 (Табеле 10 и 11) у оквиру кога је у микровинификацији коришћен квасац ICV D254, вредности за слободан SO₂ у узорцима су биле од 6,88 до 26,14 mg/L. Најнижа вредност је била у вину од вишње, док је највиша била у вину од ароније. Добијени резултати указују да је везивање SO₂ за биомолекуле у винима од различитог воћа било другачије, па самим тим и количина слободног SO₂.

Садржај слободног SO₂ је одређен и у свих пет концентracија матрикс раствора (Табела 12). Матрикс раствори су направљени у интервалу од 1 до 7g/hL K₂S₂O₅. Овај интервал је изабран због тога што се на тај начин обухвата садржај слободног SO₂ у матрикс растворима, у односу на узорке воћног вина где је он био најнижи, али и у ономе где је слободни SO₂ био највиши. Циљ овога је био да се прикаже допринос SO₂ укупној антиоксидативности вина, што је постигнуто корелацијом са методом FRAP.

Сумпор(IV)-оксид је најчешћи антиоксиданс који се користи у производњи хране и пића. Током производње вина улога SO₂ је да спречи раст нежељених квасаца и бактерија које могу да доведу до кварења вина и добијања производа који има непријатан укус и мирис (Oliveira et al., 2011). На почетку се додаје калијум метабисулфит (K₂S₂O₅) у воћни кљук пре почетка алкохолног врења, где касније током самог врења долази до настанка слободног SO₂. Као антиоксиданс SO₂ има улогу да спречи оксидацију и многе ензимске реакције у току којих може да дође до тамњења вина. Поред спречавања развоја нежељених бактерија SO₂ је и извор сумпора који је веома битан за раст култура *S. cerevisiae* које доводе до контролисаног врења. Због свих позитивних ефеката које показује SO₂, његова количина која се налази у вину је важан параметар квалитета који је регулисан правилницима. Према Правилнику о квалитету и другим захтевима за вино, Службени гласник РС, 26/2015 (2015) укупни садржај SO₂ због здравствених разлога је ограничен зависно од типа вина на 250 mg/L. Обезбеђење дугорочног квалитета вина током чувања постиже се присуством SO₂ захваљујући хемијској равнотежи између, сумпорасте киселине - H₂SO₃ и хидроген сулфитног јона - HSO₃⁻, на коју утичу рН и температура. Сумпор(IV)-оксид може да се веже за различите биомолекуле у вину па се тако може смањити његова активност према микроорганизмима и због тога је битно додати га у количини која ће деловати против микроорганизма.

Табела 5. Физичко-хемијска својства узорака вина од бобичастог, јагодичастог воћа и јабуке (експеримент 1).

Врста воћа	Врста винификације	pH вредност	Садржај титрабилних киселина (g јабучне киселине /L)	Слободни SO ₂ (mg/L)
Малина	– шећер	3,16±0,01	13,46±0,12	20,48±1,43
Малина	+ шећер	2,85±0,01	13,80±0,11	25,59±1,37
Купина	– шећер	2,87±0,01	8,28±0,09	10,24±0,77
Купина	+ шећер	2,94±0,02	7,45±0,09	12,80±1,05
Боровница	– шећер	2,86±0,02	6,76±0,08	10,24±0,87
Боровница	+ шећер	2,85±0,01	7,94±0,11	12,80±1,17
Аронија	– шећер	3,66±0,02	9,32±0,09	12,80±0,92
Аронија	+ шећер	3,53±0,01	10,35±0,07	15,35±1,47
Јагода	– шећер	3,24±0,13	9,55±0,40	7,69±0,54
Јагода	+ шећер	3,40±0,11	8,91±0,38	11,34±0,97
Јабука	– шећер	3,38±0,02	4,97±0,08	12,80±1,21
Јабука	+ шећер	3,79±0,02	4,14±0,06	15,35±1,35

– без ; + са

Табела 6. Физичко-хемијска својства узорака вина од шљиве, трешње и вишње (експеримент 1).

Врста воћа	Врста винификације	pH вредност	Садржај титрабилних киселина (g јабучне киселине /L)	Слободни SO ₂ (mg/L)
Шљива	- коштица + шећер	3,31±0,15	10,55±0,52	9,41±0,82
Шљива	+ коштица + шећер	3,50±0,16	9,55±0,42	12,27±1,17
Шљива	- коштица - шећер	3,46±0,20	10,78±0,51	11,46±1,38
Шљива	+ коштица - шећер	3,67±0,17	9,46±0,45	13,03±1,27
Трешња	- коштица + шећер	3,57±0,15	7,12±0,36	12,03±1,08
Трешња	+ коштица + шећер	3,54±0,13	6,85±0,31	9,93±0,83
Трешња	- коштица - шећер	3,45±0,14	6,95±0,36	14,94±1,25
Трешња	+ коштица - шећер	3,67±0,17	6,98±0,31	9,18±0,71
Вишња	- коштица + шећер	3,34±0,02	8,14±0,09	17,51±1,53
Вишња	+ коштица + шећер	3,44±0,01	7,94±0,07	15,35±1,31
Вишња	- коштица - шећер	3,43±0,01	6,90±0,08	15,35±1,25
Вишња	+ коштица - шећер	3,45±0,01	6,90±0,09	20,48±1,71

- без ; + са

Табела 7. Физичко-хемијска својства узорака вина од брескве и кајсије (експеримент 1).

Врста воћа	Врста винификације	pH вредност	Садржај титрабилних киселина (g јабучне киселине /L)	Слободни SO ₂ (mg/L)
Бресква	- коштица + шећер	3,95±0,16	6,50±0,31	11,11±0,92
Бресква	+ коштица + шећер	3,90±0,17	6,45±0,30	11,74±1,17
Бресква	- коштица - шећер	3,87±0,15	6,68±0,34	9,10±0,75
Бресква	+ коштица - шећер	4,10±0,20	6,15±0,33	13,13±1,27
Кајсија	- коштица + шећер	3,72±0,12	7,71±0,35	9,09±0,73
Кајсија	+ коштица + шећер	3,84±0,16	7,95±0,41	11,84±1,57
Кајсија	- коштица - шећер	3,83±0,15	7,55±0,38	7,36±0,57
Кајсија	+ коштица - шећер	3,91±0,18	8,25±0,40	11,27±1,15

- без ; + са

Табела 8. Физичко-хемијска својства узорака вина од бобичастог воћа квасац *Lievito Secco* (експеримент 2).

Врста воћа	Врста винификације	pH вредност	Садржај титрабилних киселина (g јабучне киселине /L)	Слободни SO ₂ (mg/L)
Малина	– ензим + шећер	3,15±0,02	13,80±0,19	9,11±0,72
Малина	+ ензим + шећер	3,00±0,01	13,46±0,18	8,23±0,52
Малина	– ензим – шећер	3,26±0,01	13,46±0,21	18,69±1,23
Малина	+ ензим – шећер	3,30±0,01	12,77±0,14	14,50±1,37
Купина	– ензим + шећер	2,90±0,01	7,45±0,08	12,90±1,17
Купина	+ ензим + шећер	2,91±0,02	9,32±0,14	14,69±1,31
Купина	– ензим – шећер	2,81±0,02	8,28±0,10	14,14±1,25
Купина	+ ензим – шећер	2,83±0,02	8,14±0,11	13,21±1,22
Боровница	– ензим + шећер	2,85±0,01	7,94±0,10	16,52±1,43
Боровница	+ ензим + шећер	2,91±0,02	7,73±0,10	10,28±0,85
Боровница	– ензим – шећер	2,86±0,02	6,76±0,07	15,85±1,47
Боровница	+ ензим – шећер	2,86±0,01	7,25±0,11	12,50±1,17
Аронија	– ензим + шећер	3,66±0,02	10,70±0,09	18,38±1,51
Аронија	+ ензим + шећер	3,65±0,02	9,32±0,12	17,66±1,48
Аронија	– ензим – шећер	3,60±0,01	10,00±0,12	20,78±1,89
Аронија	+ ензим – шећер	3,61±0,02	10,35±0,14	21,00±1,97

– без ; + са

Табела 9. Физичко-хемијска својства узорака вина од вишње и јабуке квасац *Lievito Secco* (експеримент 2).

Врста воћа	Врста винификације	pH вредност	Садржај титрабилних киселина (g јабучне киселине /L)	Слободни SO ₂ (mg/L)
Вишња	- ензим + шећер	3,34±0,01	8,14±0,09	13,52±1,25
Вишња	- коштица + ензим + шећер	3,34±0,02	7,25±0,10	14,66±1,38
Вишња	- коштица - ензим - шећер	3,43±0,02	6,90±0,07	15,71±1,45
Вишња	- коштица + ензим - шећер	3,20±0,02	8,63±0,12	11,78±1,31
Вишња	- коштица - ензим + шећер	3,44±0,02	7,94±0,13	13,30±1,31
Вишња	+ коштица + ензим + шећер	3,55±0,01	7,94±0,12	14,11±1,32
Вишња	+ коштица - ензим - шећер	3,45±0,02	6,90±0,09	16,52±1,57
Вишња	+ коштица + ензим - шећер	3,45±0,02	6,90±0,12	14,50±1,27
Јабука	+ коштица - ензим + шећер	3,27±0,02	5,12±0,13	13,15±1,15
Јабука	+ ензим + шећер	3,32±0,01	5,25±0,12	13,82±1,25
Јабука	- ензим - шећер	3,25±0,02	4,81±0,09	12,32±1,21
Јабука	+ ензим - шећер	3,30±0,02	4,90±0,12	12,55±1,15

- без ; + са

Табела 10. Физичко-хемијска својства узорака вина од бобичастог воћа квасац ICV D254 (експеримент 2).

Врста воћа	Врста винификације	pH вредност	Садржај титрабилних киселина (g јабучне киселине /L)	Слободни SO ₂ (mg/L)
Малина	– ензим + шећер	3,08±0,01	12,08±0,17	10,14±0,87
Малина	+ ензим + шећер	2,98±0,02	10,00±0,14	8,73±0,75
Малина	– ензим – шећер	3,12±0,02	13,11±0,21	13,00±1,17
Малина	+ ензим – шећер	3,20±0,01	10,90±0,15	19,02±1,81
Купина	– ензим + шећер	2,86±0,02	6,62±0,09	18,59±1,73
Купина	+ ензим + шећер	2,90±0,02	6,76±0,10	13,19±1,37
Купина	– ензим – шећер	2,81±0,02	6,76±0,07	12,83±1,18
Купина	+ ензим – шећер	2,76±0,02	6,42±0,08	14,88±1,41
Боровница	– ензим + шећер	2,91±0,01	7,18±0,09	14,42±1,38
Боровница	+ ензим + шећер	2,84±0,01	7,59±0,11	14,16±1,27
Боровница	– ензим – шећер	2,94±0,02	6,55±0,08	16,66±1,52
Боровница	+ ензим – шећер	2,90±0,02	8,28±0,12	16,14±1,54
Аронија	– ензим + шећер	3,45±0,01	9,32±0,13	24,00±1,88
Аронија	+ ензим + шећер	3,57±0,02	9,66±0,12	20,04±1,73
Аронија	– ензим – шећер	3,55±0,01	9,32±0,12	26,14±1,97
Аронија	+ ензим – шећер	3,53±0,02	8,97±0,12	20,90±1,77

– без ; + са

Табела 11. Физичко-хемијска својства узорака вина од вишње и јабуке квасац ICV D254 (експеримент 2).

Врста воћа	Врста винификације	pH вредност	Садржај титрабилних киселина (g јабучне киселине /L)	Слободни SO ₂ (mg/L)
Вишња	– ензим + шећер	3,53 ±0,01	8,69±0,10	15,19±1,42
	– коштица			
Вишња	+ ензим + шећер	3,31 ±0,01	8,63±0,11	15,14±1,44
	– коштица			
Вишња	– ензим – шећер	3,80 ±0,02	5,60±0,08	6,88±0,57
	– коштица			
Вишња	+ ензим – шећер	3,37 ±0,02	8,90±0,13	18,90±1,53
	– коштица			
Вишња	– ензим + шећер	3,29 ±0,01	7,04±0,09	13,54±1,28
	+ коштица			
Вишња	+ ензим + шећер	3,59 ±0,02	6,55±0,09	13,26±1,25
	+ коштица			
Вишња	– ензим – шећер	3,46 ±0,02	7,80±0,08	15,16±1,45
	+ коштица			
Вишња	+ ензим – шећер	3,33 ±0,02	6,55±0,08	9,45±0,83
	+ коштица			
Јабука	– ензим + шећер	3,31 ±0,01	5,20±0,09	13,27±1,22
Јабука	+ ензим + шећер	3,27 ±0,02	5,31±0,09	13,61±1,33
Јабука	– ензим – шећер	3,41 ±0,02	4,88±0,08	12,86±1,05
Јабука	+ ензим – шећер	3,35 ±0,02	4,75±0,08	13,15±0,90

– без ; + са

Табела 12. Садржај слободног SO₂ у матрикс растворима.

Концентрација K ₂ S ₂ O ₅ у матрикс растворима (g/hL)	Слободни SO ₂ (mg/L)
1,00	12,80
2,00	17,92
3,00	25,60
5,00	35,84
7,00	43,52

5.1.4. Количина укупне суве материја (шећера)

Вредности за садржај укупне суве материје у воћном кљуку у експерименту 1 (Табеле 13–15) су биле у интервалу од 10,10 до 20,30 °Brix. Најнижа вредност је била у вину од ароније, док је највиша забележена у вину од јагоде. Код експеримента 2 (Табеле 16 и 17), у оквиру кога је у микровинификацији коришћен квасац *Lievito Secco*, вредности за садржај суве материје у воћном кљуку су биле од 11,50 до 18,83 °Brix. Најнижа вредност је била у вину од ароније, док је највиша била, такође, у вину од ароније. Експеримент 2 (Табеле 18 и 19) у оквиру кога је у микровинификацији коришћен квасац *ICV D254*, је дао вредности за садржај суве материје у воћном кљуку од 11,94 до 19,21 °Brix. Најнижа вредност је била у вину од ароније док је највиша била у вину од боровнице. Одређивање количине укупне суве материје - шећера је урађено, у воћном кљуку, са циљем да се предвиди колики ће проценат алкохола бити у вину након краја врења. Због тога је ово одређивање веома битно, јер управо алкохол представља кључни растварач који настаје природним путем у вину и одговоран је за екстракцију полифенолних једињења која се налазе у чврстом делу воћа (покожици и коштици). Поред свега овога садржај шећера, а самим тим и алкохола у крајњем производу је битан, јер су они важни за дуготрајну стабилност и чување вина од кварења. Током производње воћних вина у свим експериментима је рефрактометријски одређен садржај шећера у воћном кљуку. Након тога је у зависности од садржаја шећера у воћном кљуку у половину количине додата сахароза са циљем да се постигне садржај алкохола у вину од 12% v/v, док у другу половину сахароза није додата. Вредност од 12% v/v за садржај алкохола је изабрана, јер је то просечна вредност за садржај алкохола у винима од грозђа.

5.1.5. Садржај алкохола

Вредности за садржај алкохола у воћним винима у експерименту 1 (Табеле 13–15) су биле у интервалу од 5,51 до 11,70% v/v. Најнижа вредност је била у вину од ароније, док је највиша забележена у вину од јагоде. Експеримент 2 (Табеле 16 и 17), у оквиру кога је у микровинификацији коришћен квасац *Lievito Secco*, је дао вредности за садржај алкохола у воћним винима од 6,61 до 11,11% v/v. Најнижа вредност је била у вину од ароније без шећера и ензима, док је највиша била, такође, у вину од ароније са шећером и ензимом. Експеримент 2 (Табеле 18 и 19) у оквиру кога је у микровинификацији коришћен квасац *ICV D254*, је показао вредности за садржај алкохола у воћним винима од 6,87 до 11,31% v/v. Најнижа вредност је била у вину од ароније док је највиша била у вину од боровнице.

Садржај алкохола у винима је параметар који директно произилази из садржаја шећера у воћу и количине сахарозе која се додаје у воћни кљук пре почетка врења. Виши садржај шећера ће довести до вишег садржаја алкохола у винима. То је управо и показано у узорцима где је у свим микровинификацијама у којима је додата сахароза пре почетка врења, садржај етанола био виши у односу на исте микровинификације без додате сахарозе. Виши садржај алкохола је имао за циљ да побољша екстракцију полифенолних једињења из воћног кљука током врења. Садржај алкохола зависи од количине етанола, јер је управо он најдоминантнији алкохол у вину. Поред етанола у винском дестилату у коме се одређује садржај алкохола могу се наћи и естри етанола (OIV, 2015). Количина алкохола у воћном вину зависи од технологије која се примењује у производњи и најчешће је у интервалу од 5 до 15%. Воће које се користи за производњу вина нема довољно шећера у поређењу са грозђем да би се постигао задовољавајући ниво алкохола, па се зато шећер додаје пре почетка врења. Подаци за проценат алкохола у воћним винима су један од ретких параметара који се може наћи у правилницима о воћним винима широм света. Тако је у Великој Британији садржај алкохола од 4 до 22% v/v (WSTA, 2015), САД-у мање од 14% v/v (CFR, 2015) и Бразилу од 4 до 14% v/v (Brasil, 2009). Европско удружење за производњу сидера и воћних вина је дало вредности за садржај алкохола од 1,2 до 14% v/v (AICV, 2014). Садржај етанола у винима од купине и боровнице је био од 9 до 12% v/v (Johnson and Gonzalez de

Меја, 2011), у вино од шљиве од 6 до 13,5% v/v (Bhardwaj and Joshi, 2009) и у вино од вишње од 10 до 13% v/v (Niu et al., 2012). Неко воће, као што су јабуке, када се прерађују у вино захтевају додаток шећера за постизање нивоа алкохола од 5% v/v, што је просечна вредност у европским винама, до високих 15% v/v који карактерише вина из Републике Кореје (Lee et al., 2013), док је вино од брескве имало садржај алкохола 8,1% v/v (Davidović et al., 2013).

Виши садржај алкохала до 16% v/v и висока киселост вина рН 2,9 могу да спрече развој бактеријских популација, док код оних вина где је садржај алкохола знатно нижи и рН вредност изнад 3,7 може доћи до развоја бактерија. Једно од решења за овај проблем је и чување таквих вина на температури нижој од 15°C чиме се знатно смањује могућност за развој бактерија (Bartowsky, 2009).

Табела 13. Физичко-хемијска својства узорак вина од бобичастог, јагодичастог воћа и јабуке (експеримент 1).

Врста Воћа	Врста винификације	Садржај суве материје у кљуку (° Brix)	Садржај алкохола у вино (% v/v)
Малина	– шећер	14,30±0,30	7,91±0,06
Малина	+ шећер	16,50±0,30 ^{a*}	9,43±0,07 ^{a*}
Купина	– шећер	13,90±0,40	7,63±0,08
Купина	+ шећер	18,50±0,20 ^{a*}	10,47±0,06 ^{a*}
Боровница	– шећер	14,30±0,40	7,88±0,09
Боровница	+ шећер	19,00±0,30 ^{a*}	10,82±0,08 ^{a*}
Аронија	– шећер	10,10±0,30	5,51±0,09
Аронија	+ шећер	11,50±0,30 ^{a*}	6,19±0,08 ^{a*}
Јагода	– шећер	16,02±0,32	8,61±0,17
Јагода	+ шећер	20,30±0,40 ^{a*}	11,70±0,22 ^{a*}
Јабука	– шећер	13,50±0,30	7,36±0,05
Јабука	+ шећер	16,00±0,30 ^{a*}	9,17±0,09 ^{a*}

^a - статистички значајна разлика у односу на узорак без додатка шећера, * p<0,05.
– без ; + са

Табела 14. Физичко-хемијска својства узорака вина од шљиве, трешње и вишње (експеримент 1).

Врста воћа	Врста винификације	Садржај суве материје у кљуку (° Brix)	Садржај алкохола у вину (% v/v)
Шљива	– коштица + шећер	15,88±0,36 ^{a*}	8,53±0,23 ^{a*}
Шљива	+ коштица + шећер	16,90±0,40 ^{a*}	9,17±0,19 ^{a*}
Шљива	– коштица – шећер	13,55±0,30	7,17±0,20
Шљива	+ коштица – шећер	14,35±0,33	7,63±0,18
Трешња	– коштица + шећер	19,57±0,40 ^{a*}	10,68±0,22 ^{a*}
Трешња	+ коштица + шећер	20,00±0,50 ^{a*}	11,07±0,25 ^{a*}
Трешња	– коштица – шећер	14,72±0,35	7,88±0,15
Трешња	+ коштица – шећер	15,40±0,40	8,28±0,20
Вишња	– коштица + шећер	19,40±0,20 ^{a*}	10,93±0,09 ^{a*}
Вишња	+ коштица + шећер	19,80±0,20 ^{a*}	11,31±0,06 ^{a*}
Вишња	– коштица – шећер	12,60±0,40	6,85±0,09
Вишња	+ коштица – шећер	13,30±0,30	7,23±0,07

^a - статистички значајна разлика у односу на узорак без додатка шећера, * p<0,05. – без ; + са

Табела 15. Физичко-хемијска својства узорака вина од брескве и кајсије (експеримент 1).

Врста воћа	Врста винификације	Садржај суве материје у кљуку (° Brix)	Садржај алкохола у вину (% v/v)
Бресква	– коштица + шећер	18,55±0,40 ^{a*}	10,07±0,25 ^{a*}
Бресква	+ коштица + шећер	18,85±0,45 ^{a*}	10,29±0,20 ^{a*}
Бресква	– коштица – шећер	14,80±0,40	7,89±0,18
Бресква	+ коштица – шећер	16,10±0,37	8,65±0,15
Кајсија	– коштица + шећер	18,15±0,45 ^{a*}	9,91±0,25 ^{a*}
Кајсија	+ коштица + шећер	19,26±0,48 ^{a*}	10,57±0,25 ^a
Кајсија	– коштица – шећер	13,95±0,40	7,37±0,20
Кајсија	+ коштица – шећер	15,32±0,35	8,15±0,19

^a - статистички значајна разлика у односу на узорак без додатка шећера, * p<0,05. – без ; + са

Табела 16. Физичко-хемијска својства узорака вина од бобичастог воћа квасац *Lievito Sesso* (експеримент 2).

Врста Воћа	Врста винификације	Садржај суве материје у кљуку (° Brix)	Садржај алкохола у вину (% v/v)
Малина	– ензим + шећер	16,11±0,22	9,41±0,09
Малина	+ ензим + шећер	16,72±0,23	9,81±0,11
Малина	– ензим – шећер	12,83±0,11 ^{a*}	7,41±0,06 ^{a*}
Малина	+ ензим – шећер	13,18±0,15 ^{b*}	7,63±0,06 ^{b*}
Купина	– ензим + шећер	17,20±0,25	10,11±0,13
Купина	+ ензим + шећер	17,57±0,18	10,31±0,09
Купина	– ензим – шећер	13,37±0,17 ^{a*}	7,77±0,09 ^{a*}
Купина	+ ензим – шећер	13,58±0,15 ^{b*}	7,88±0,10 ^{b*}
Боровница	– ензим + шећер	18,31±0,16	10,80±0,09
Боровница	+ ензим + шећер	18,64±0,26	10,95±0,15
Боровница	– ензим – шећер	14,21±0,17 ^{a*}	8,27±0,09 ^{a*}
Боровница	+ ензим – шећер	14,54±0,17 ^{b*}	8,45±0,07 ^{b*}
Аронија	– ензим + шећер	18,54±0,28	10,92±0,09
Аронија	+ ензим + шећер	18,83±0,38	11,11±0,13
Аронија	– ензим – шећер	11,50±0,21 ^{a*}	6,61±0,05 ^{a*}
Аронија	+ ензим – шећер	11,69±0,13 ^{b*}	6,73±0,07 ^{b*}

^a - статистички значајна разлика у односу на узорак без ензима и са шећером;

^b - статистички значајна разлика у односу на узорак са ензимом и шећером;

* p<0,05. – без ; + са

Табела 17. Физичко-хемијска својства узорака вина од вишње и јабуке квасац *Lievito Secco* (експеримент 2).

Врста воћа	Врста винификације	Садржај суве материје у кљуку (° Brix)	Садржај алкохола у вину (% v/v)
Вишња	– ензим + шећер	17,79±0,24	10,44 ±0,13
	– коштица		
Вишња	+ ензим + шећер	18,17±0,27	10,67±0,12
	– коштица		
Вишња	– ензим – шећер	11,82±0,17 ^{a*}	6,79±0,07 ^{a*}
	– коштица		
Вишња	+ ензим – шећер	12,18±0,15 ^{b*}	7,01±0,10 ^{b*}
	– коштица		
Вишња	– ензим + шећер	18,42±0,16	10,85±0,15
	+ коштица		
Вишња	+ ензим + шећер	18,81±0,23	11,06±0,13
	+ коштица		
Вишња	– ензим – шећер	12,43±0,12 ^{a*}	7,18±0,06 ^{a*}
	+ коштица		
Вишња	+ ензим – шећер	12,64±0,15 ^{b*}	7,31±0,06 ^{b*}
	+ коштица		
Јабука	– ензим + шећер	16,55±0,27	9,85±0,15
	+ ензим		
Јабука	+ ензим + шећер	16,77±0,26	9,97±0,11
	+ ензим		
Јабука	– ензим – шећер	13,57±0,25 ^{a*}	7,41±0,06 ^{a*}
	– ензим		
Јабука	+ ензим – шећер	13,71±0,22 ^{b*}	7,50±0,20 ^{b*}
	– ензим		

^a - статистички значајна разлика у односу на узорак без ензима и са шећером;

^b - статистички значајна разлика у односу на узорак са ензимом и шећером;

* $p < 0,05$. – без ; + са

Табела 18. Физичко-хемијска својства узорака вина од бобичастог воћа квасац ICV D254 (експеримент 2).

Врста Воћа	Врста винификације	Садржај суве материје у кљуку (° Brix)	Садржај алкохола у вину (% v/v)
Малина	– ензим + шећер	15,89±0,17	9,28±0,08
Малина	+ ензим + шећер	16,53±0,26	9,67±0,11
Малина	– ензим – шећер	12,61±0,16 ^{a*}	7,27±0,09 ^{a*}
Малина	+ ензим – шећер	12,88±0,13 ^{b*}	7,45 ±0,10 ^{b*}
Купина	– ензим + шећер	17,40±0,24	10,20±0,09
Купина	+ ензим + шећер	17,70±0,19	10,43±0,13
Купина	– ензим – шећер	13,66±0,20 ^{a*}	7,93±0,09 ^{a*}
Купина	+ ензим – шећер	13,83±0,20 ^{b*}	8,03±0,09 ^{b*}
Боровница	– ензим + шећер	18,90±0,28	11,15±0,09
Боровница	+ ензим + шећер	19,21±0,22	11,31±0,15
Боровница	– ензим – шећер	14,54±0,16 ^{a*}	8,45±0,12 ^{a*}
Боровница	+ ензим – шећер	14,66±0,14 ^{b*}	8,57±0,09 ^{b*}
Аронија	– ензим + шећер	18,66±0,22	11,02±0,13
Аронија	+ ензим + шећер	19,10±0,25	11,23±0,12
Аронија	– ензим – шећер	11,94±0,10 ^{a*}	6,87±0,08 ^{a*}
Аронија	+ ензим – шећер	12,07±0,17 ^{b*}	6,95±0,09 ^{b*}

^a - статистички значајна разлика у односу на узорак без ензима и са шећером;

^b - статистички значајна разлика у односу на узорак са ензимом и шећером;

* p<0,05. – без ; + са

Табела 19. Физичко-хемијска својства узорака вина од вишње и јабуке квасац ICV D254 (експеримент 2).

Врста воћа	Врста винификације	Садржај суве материје у кљуку (° Brix)	Садржај алкохола у вину (% v/v)
Вишња	- ензим + шећер	17,96±0,20	10,54±0,10
Вишња	- коштица + ензим + шећер	18,44±0,25	10,85±0,14
Вишња	- ензим - шећер	12,04±0,14 ^{a*}	6,93±0,08 ^{a*}
Вишња	- коштица + ензим - шећер	12,32±0,17 ^{b*}	7,12±0,08 ^{b*}
Вишња	- ензим + шећер + коштица	18,58±0,27	10,92±0,15
Вишња	+ ензим + шећер + коштица	18,95±0,18	11,18±0,11
Вишња	- ензим - шећер	12,61±0,16 ^{a*}	7,27±0,09 ^{a*}
Вишња	+ коштица + ензим - шећер	12,92±0,14 ^{b*}	7,48±0,09 ^{b*}
Јабука	- ензим + шећер	16,30±0,25	9,65±0,17
Јабука	+ ензим + шећер	16,65±0,29	9,85±0,15
Јабука	- ензим - шећер	13,48±0,26 ^{a*}	7,32±0,05 ^{a*}
Јабука	+ ензим - шећер	13,65±0,25 ^{b*}	7,40±0,22 ^{b*}

^a - статистички значајна разлика у односу на узорак без ензима и са шећером;

^b - статистички значајна разлика у односу на узорак са ензимом и шећером;

* p<0,05. - без ; + са

5.2. РЕЗУЛТАТИ АНАЛИЗЕ СИСТЕМОМ UPLC-TQ-MS/MS

5.2.1. Експеримент 1 - вина од бобичастог, јагодичастог воћа и јабуке

Анализом узорака воћних вина системом UPLC-TQ-MS/MS добијени резултати обрађени су параметарским тестом упарених узорака, у интервалу сигурности од 95%. Показана је статистичка значајност за све узорке вина ($p < 0,05$) осим за јабуку ($p = 0,073$). Узорци воћних вина произведени без додатка шећера у воћни кљук пре почетка врења поређени су са узорцима у које је шећер додат. Променљиве коришћене у тесту упарених узорака су били резултати из табела за узорке вина без и са шећером. Садржај изабраних полифенолних једињења у винима произведеним од бобичастог, јагодичастог воћа и јабуке је упоређен применом једнофакторске ANOVA - е.

Међу винима од бобичастог воћа посебно су широко распрострањене кафеинска, хлорогена, гална и ванилинска киселина (Табела 20). Ова једињења делују као природни антиоксиданси. Управо садржај ових појединачних једињења и њихова структура (слободан или гликозидни облик) утичу на укупну антиоксидативност воћних вина. Једна од претходно истакнутих фенолних киселина, хлорогена, је откривена у значајним количинама у боровницама. Узорци вина од боровнице су богат извор хлорогене киселине што је у складу са литературним подацима (Stöhr and Herrmann, 1975; Zheng and Wang, 2003). Посматрајући садржај хлорогене киселине у анализираним узорцима може се приметити да је био највиши у винима од боровнице (390,75-474,34 $\mu\text{g/mL}$) у односу на остала вина од бобичастог, јагодичастог воћа и јабуке ($p < 0,05$). Поред тамног бобичастог воћа боровнице и ароније интересантно је истаћи и вино од јагоде као добар извор хлорогене киселине (290,32-335,25 $\mu\text{g/mL}$) што је и потврђено у литератури (Mandave et al., 2014). Хлорогена киселина, међутим, није била пронађена у узорцима вина од малине и купине. Присуство овог једињења у вину од јабуке произведеном од сорте јонаголд и друге је потврђено у литератури, након анализе производа од наведених сорти воћа (Awad and de Jager, 2000; Ljevar et al., 2016). Управо у испитиваним узорцима од јабуке је садржај хлорогене киселине био најнижи. Поступак врења утиче на полифенолни састав вина произведеног од јабуке. Студија која је обухватила сидере произведене у Шпанији показала је да се у полифенолном саставу посебно истиче фенилпропионска киселина (Madrera et al., 2006), за разлику од хлорогене и *p*-кумароилхининске киселине које су откривене у соку од јабуке (Guyot et al., 2003).

Поред хлорогене вино од боровнице истакло се са највишим садржајем *p*-кумаринске киселине (9,75-18,43 $\mu\text{g/mL}$), ($p < 0,05$) чије је присуство у овом воћу потврђено и у Финској (Häkkinen et al., 1999a). Кафеинска киселина је, такође, откривена у нашим узорцима воћног вина што је у складу са подацима још једне студије (Macheix et al. 1990). Поредићи садржај кафеинске киселине са другим узорцима, највиши садржај био је присутан у вину од боровнице (39,44-55,30 $\mu\text{g/mL}$) ($p < 0,05$), док се и вино од ароније (25,37-35,30 $\mu\text{g/mL}$), издвојило међу осталим бобичастим и јагодичастим воћем. Фински научници показали су да је кафеинска киселина присутна у два претходно поменута воћа (Häkkinen et al., 1999a). Управо два поменута деривата хидроксициметне киселине, *p*-кумаринска (2,83-4,16 $\mu\text{g/mL}$) и кафеинска киселина (3,35-5,70 $\mu\text{g/mL}$) пронађене су и у вину од јагоде. Иста полифенолна једињења су откривена у друге две студије које су испитивале антиоксидативне особине јагоде (Guerrero-Chavez et al., 2015; Mattila et al., 2006). Веома је интересантно истаћи да је садржај *p*-кумаринске киселине био виши у вину од јагоде него у винима од ароније и малине ($p < 0,05$). Као и претходно једињење, кафеинска киселина је имала виши садржај у вину од јагоде него у онима произведеним од малине, купине и јабуке ($p < 0,05$). Резултати студије указују да садржај кафеинске киселине зависи од изложености биљке сунцу, јер на тај начин долази до хидролизе кафтарне киселине која је битна у биосинтези кафеинске киселине (Price et al., 1994). Током врења естри хидроксициметне киселине могу да

хидролизују на кафеинску и хининску киселину, док други естар на *p*-кумаринску и хининску киселину. Слободан облик кафеинске и *p*-кумаринске киселине може да се даље редукује до хидрокафеинске и хидрокумаринске киселине (Madregera et al., 2006). Резултати студије наглашавају да је кафеинска киселина показала најјаче антиоксидативне особине и најбољу инхибициону активност оксидације LDL-а у поређењу са елагинском киселином која има више хидроксилних група. Разлог за овакав резултат је тај да антиоксидативна активност флавоноида зависи од интеракције са протеинима (Laranjinha et al., 1994; Meyer et al., 1998b).

Од деривата хидроксibenзоеве киселине (Табела 20), протокатехуинска била је најзаступљенија у вину од ароније (42,53-49,11 $\mu\text{g/mL}$) ($p < 0,05$) у односу на сва остала вина од бобичастог воћа. Такође је, могуће истаћи и вина од боровнице као добар извор овог једињења (29,75-42,25 $\mu\text{g/mL}$), док у винима од јабуке и малине протокатехуинска киселина није пронађена. Посматрајући остала вина, у вину од купине најзаступљенија била је гална (92,15-100,17 $\mu\text{g/mL}$) ($p < 0,05$), док је *p*-хидроксibenзоева киселина била главна у вину од јагоде (41,05-53,44 $\mu\text{g/mL}$) ($p < 0,05$). Као што је претходно истакнуто највиши садржај протокатехуинске киселине био је у винима од ароније. Поредећи са осталим тамним бобицама битно је истаћи и вино од јагоде као добар извор овог једињења (21,85-26,32 $\mu\text{g/mL}$), где је садржај био чак виши него у купини ($p < 0,05$). Садржај овог једињења у вину од јагоде је био десет пута већи у односу на ванилинску киселину у истом воћу (2,17-3,40 $\mu\text{g/mL}$) чији је садржај био виши него у малини ($p < 0,05$). Ипак овако добијени подаци су у доброј сагласности са остале две студије које су истакле присуство хидроксibenзоевих киселина у јагодама (Guerrero-Chavez et al., 2015; Mattila et al., 2006; Ljevar et al., 2016). Садржај деривата хидроксibenзоеве киселине није исти у сваком воћу. Студија бобичастог воћа показала је да су протокатехуинска, *p*-хидроксibenзоева и гална киселина присутне у садржају већем од 100 $\mu\text{g/g}$ свежег плода малине, црне рибизле и јагоде (El Gharras, 2009). Вина од купине (132,97-140,20 $\mu\text{g/mL}$) и јагоде (107,45-125,37 $\mu\text{g/mL}$) истакла су се према садржају елагинске киселине. Садржај елагинске киселине у вину од купине са и без шећера био је највиши у поређењу са осталим анализираним узорцима ($p < 0,05$). Управо ови резултати су сагласни са истраживањима других аутора (Türkben et al., 2010). Елагинска киселина истиче се као најзаступљенија фенолна киселина и то у плодовима малине и јагоде, док је у боровници и аронији њен садржај био знатно нижи (Häkkinen et al., 1999a). За разлику од купине и малине елагинска киселина није пронађена у вину од јабуке. Елагинска киселина може, такође, да се нађе слободна, али и у облику олигомерних молекула и то са хидросолубилним танинима. Та једињења познатија су и као елагитанини, који се могу наћи у јагодама, малинама и купинама (Manach et al., 2004). Оваква једињења везана за танине су присутна и у семенкама и влакнастим деловима биљног ткива, која након пресовања плодова биљака прелазе у сок који касније ферментише у вино.

Антиоксидативна активност фенолних киселина истакнута је њиховом способношћу да спрече оксидацију LDL фракције холестерола. Управо оне киселине које се налазе у воћу као што су кафеинска, *p*-кумаринска и хлорогена показују могућност да инхибирају *in vitro* оксидацију LDL фракције холестерола код људи (Meyer et al., 1998a). Нажалост у другој студији је показано да исту активност елагинска киселина не показује (Meyer et al., 1998b). Новија истраживања су ипак истакла да елагинска киселина показује дугорочан позитиван утицај на људски организам (Koronen et al., 2007). Садржај ове киселине у узорцима био је виши у односу на кверцетин и кемпферол што је, такође, истакнуто и у још једној студији (Milivojević et al., 2011). Поред фенолних киселина још нека полифенолна једињења су квантификована (Табела 21). Епикатехин (61,31-84,42 $\mu\text{g/mL}$) и катехин (11,57-15,78 $\mu\text{g/mL}$) били су најзаступљенији у винима од јагоде ($p < 0,05$). Епикатехин био је присутан и у вину од боровнице што је у складу са литературним подацима анализе полифенолних једињења у овом воћу (de Pascual-Teresa et al., 2000). Катехин и епикатехин су, такође, откривени

Табела 20. Садржај изабраних фенолних киселина ($\mu\text{g}/\text{mL}$) у анализираним узорцима вина од бобичастог, јагодичастог воћа и јабуке (експеримент 1).

Врста вина	Гална киселина	Протокатехуинска киселина	<i>p</i> -Хидрокси бензоева киселина	Хлорогена киселина	Ванилинска киселина	Кафеинска киселина	<i>p</i> -Кумаринска киселина	Елагинска киселина	Синапинска киселина
1	19,86±0,34	29,75±0,38	1,39±0,06	390,75±1,95	4,69±0,18	39,44±0,32	9,75±0,21	9,49±0,11	0,60±0,03
2	32,05±0,80	42,25±0,97	4,83±0,22	474,34±3,32	8,11±0,25	55,30±0,50	18,43±0,37	17,53±0,61	1,63±0,07
3	1,82±0,03	42,53±0,72	4,20±0,19	390,75±2,74	5,31±0,16	25,37±1,01	1,49±0,082	8,00±0,17	0,16±0,01
4	2,55±0,04	49,11±0,44	6,53±0,29	400,05±3,20	5,85±0,18	35,30±0,55	1,53±0,076	10,09±0,20	0,37±0,01
5	92,15±1,29	17,36±0,60	3,70±0,18	0	5,14±0,17	2,44±0,11	0	132,97±1,06	2,19±0,10
6	100,17±1,20	25,18±0,78	4,18±0,20	0	5,55±0,18	3,78±0,08	0	140,20±1,68	2,85±0,08
7	38,28 ±0,73	0	37,13±0,92	0	1,06±0,053	1,78±0,09	0	21,82±0,65	2,65±0,11
8	55,74 ±1,11	0	49,89±0,99	0	1,58±0,077	2,26±0,10	3,08±0,13	33,75±1,00	2,82±0,11
9	43,21±1,28	21,85±0,95	41,05±1,88	290,32±8,22	2,17±0,11	3,35±0,16	2,83±0,12	107,45±3,20	0
10	59,72±2,72	26,32±1,45	53,44±2,32	335,25±7,33	3,40±0,17	5,70±0,28	4,16±0,18	125,37±4,11	0
11	0	0	0,95±0,03	70,7±0,781	1,16±0,05	0,50±0,01	0	0	0
12	0	0	3,76±0,09	92,38±0,92	4,22±0,13	2,80±0,05	0	0	0

1. Боровница – шећер; 2. Боровница + шећер; 3. Аронија – шећер; 4. Аронија + шећер; 5. Купина – шећер; 6. Купина + шећер; 7. Малина – шећер; 8. Малина + шећер; 9. Јагода – шећер; 10. Јагода + шећер; 11. Јабука – шећер; 12. Јабука + шећер.
– без ; + са

Табела 21. Садржај изабраних полифенолних једињења ($\mu\text{g/mL}$) у анализираним узорцима вина од бобичастог, јагодичастог воћа и јабуке (експеримент 1).

Врста вина	Епикатехин	Кемпферол	Катехин	Рутин	Нарингенин	Кверцетин
1	27,84 \pm 0,31	0	1,71 \pm 0,07	0	0,21 \pm 0,01	6,91 \pm 0,20
2	42,69 \pm 0,26	0	4,52 \pm 0,22	0	1,53 \pm 0,06	15,71 \pm 0,33
3	5,94 \pm 0,22	0	0	31,05 \pm 0,47	0,16 \pm 0,008	48,00 \pm 0,57
4	7,17 \pm 0,25	0	0	36,34 \pm 0,72	0,24 \pm 0,011	58,21 \pm 0,64
5	35,75 \pm 0,78	0	1,85 \pm 0,09	0	0,42 \pm 0,02	9,63 \pm 0,33
6	52,68 \pm 0,57	0	2,16 \pm 0,10	0	0,49 \pm 0,02	10,50 \pm 0,31
7	55,51 \pm 1,16	0	3,43 \pm 0,16	0	0,80 \pm 0,04	8,89 \pm 0,35
8	75,91 \pm 1,89	0	4,01 \pm 0,18	0	0,96 \pm 0,05	12,63 \pm 0,50
9	61,31 \pm 2,45	4,25 \pm 0,21	11,57 \pm 0,55	11,60 \pm 0,38	0	31,12 \pm 1,15
10	84,42 \pm 3,85	7,56 \pm 0,37	15,78 \pm 0,64	14,33 \pm 0,56	0	43,95 \pm 1,42
11	22,84 \pm 0,38	0	1,28 \pm 0,06	0	0,12 \pm 0,004	0
12	39,47 \pm 0,35	0	3,65 \pm 0,14	0	0,81 \pm 0,03	0

1. Боровница – шећер; 2. Боровница + шећер; 3. Аронија – шећер; 4. Аронија + шећер; 5. Купина – шећер; 6. Купина + шећер; 7. Малина – шећер; 8. Малина + шећер; 9. Јагода – шећер; 10. Јагода + шећер; 11. Јабука – шећер; 12. Јабука + шећер. – без ; + са

у вину од купине, малине и јабуке, па је присуство ових једињења у претходно поменутом воћу показано и у другим студијама (Arts et al., 2000a; Joh and McGlynn, 2019). Рутин је пронађен само у вину од ароније и јагоде. Садржај рутина у вину од јагоде (11,60-14,33 $\mu\text{g}/\text{mL}$) био је нижи у односу на друга два једињења, хлорогену киселину и катехин што је, такође, истакнуто у литератури (Mandave et al., 2014). Анализом узорака воћних вина показано је да су она богат извор флавонола као што је кверцетин. Највиши садржај кверцетина је пронађен у вину од ароније (48,00-58,21 $\mu\text{g}/\text{mL}$) ($p < 0,05$). Добијени резултати су у складу са студијом финских научника који су показали да аронија управо има највиши садржај кверцетина, док је његово присуство показано и у боровници и малини (Häkkinen et al., 1999a). Кверцетин пронађен у вину од малине је један од главних флавонола у овом воћу што је у сагласности са подацима из литературе (Häkkinen et al., 1999b). Друго воће по садржају била је јагода. Управо овакви резултати одговарају претходно урађеним студијама везаним за ово воће (Guerrero-Chavez et al., 2015; Mandave et al., 2014; Milivojević et al., 2011). Садржај кверцетина веома је битан, јер ово једињење показује позитиван утицај на здравље људи и то кроз способност да спречава оксидацију LDL фракције холестерола од стране макрофага што је показано *in vitro*. Кверцетин, али и друга претходно истакнута једињења спречавају стварање водоник пероксида и штите α -токоферол из липопротеина од оксидације (de Whalley et al., 1990). Поред тога показано је да кверцетин може да спречи цитотоксичност оксидованог LDL-а *in vitro* (Nègre-Salvayre and Salvayre, 1992). Кемпферол (4,25-7,56 $\mu\text{g}/\text{mL}$) је једино откривен у вину од јагоде. Управо присуство кемпферола је у сагласности са литературним подацима (Milivojević et al., 2011). Садржај фенолних једињења зависи од садржаја шећера у анализираном узорку. Виши садржај шећера пре почетка врења је био одговоран за повећани ниво алкохола у крајњем производу-воћном вину. Као средство за екстракцију, алкохол је допринео повећању садржаја полифенолних једињења у воћним винима (Џакар et al., 2016).

Антиоксидативна својства биљака и биљних производа зависе од много различитих биолошки активних једињења, посебно полифенолских. Антиоксиданси су супстанце које су присутне у ниским концентрацијама у биљкама у поређењу са другим биомолекулима и имају за циљ да заштите ДНК, протеине, липиде и угљене хидрате од оксидације. Такође, главна улога антиоксиданаса је и да спрече ћелијско оштећење које проузрокују слободни радикали (Céspedes et al., 2010). Фенолне киселине, флавоноиди и антоцијани се истичу као природна активна једињења одговорна за антиоксидативна својства воћних вина (Сао et al., 1997).

Садржај антоцијана и других полифенолних једињења није исти у биљном ткиву. Посебно висок садржај је у pokožици из које их етанол екстрахује у воћно вино. Поред pokožице могу се наћи и у семенци (Tomás-Barberán et al., 2001). Ова једињења се налазе у pokožици управо због тога што их биљка ствара да би се заштитле семенке од UV зрачења и болести (Chaovanalikit and Wrolstad, 2008). Процијанидини и антоцијани су полифеноли чији је садржај висок у вишњама, бобичастом и јагодичастом воћу где доприносе боји pokožице плодова. Присутна су још и безбојна и светло жута полифенолна једињења која поседују истакнуту биолошку активност (Levaj et al., 2010).

5.2.2. Експеримент 1 - вина од коштичавог воћа

Присуство шећера и коштице у воћном кљуку је показало статистичку значајност ($p < 0,05$) у садржају полифенолних једињења (Џакар et al., 2019). Утицај винификације и врсте воћа на садржај изабраних полифенолних једињења је одређен коришћењем двофакторске ANOVA-е и то за узорке воћних вина произведених од коштичавог воћа. Поступак винификације је утицао на садржај полифенолних једињења ($p < 0,05$).

Анализирани узорци вина од вишње су се показали као добар извор хлорогене, протокатехуинске и *p*-хидроксибензојеве киселине (Табела 22). Управо, хлорогена киселина била је и најзаступљеније једињење у овом воћном вину (340,46-370,03 $\mu\text{g/mL}$), у односу на сва остала коштичава воћа ($p < 0,05$). Садржај протокатехуинске киселине био је виши у вину од вишње него у винима произведеним од шљиве, кајсије и брескве ($p < 0,05$). Две фенолне киселине и то *p*-хидроксибензојева и ванилинска киселина, такође, су биле заступљеније у вину од вишње него у винима од кајсије и брескве ($p < 0,05$), док гална киселина није пронађена. Присуство ванилинске киселине истакнуто је након анализе плода вишње од стране шпанских аутора (de Pascual-Teresa et al., 2000). Флавоноид нарингенин пронађен је у овим узорцима и његов садржај је био виши него у винима од шљиве, брескве и кајсије ($p < 0,05$) (Табела 23). Присуство овог једињења је у сагласности са литературним подацима (Pantelić et al., 2014). Садржај епикатехина и катехина био је највиши у вину од вишње ($p < 0,05$) (Табела 23). Присуство ових једињења у испитиваним узорцима је, такође, истакнуто након анализе плода вишње од стране шпанских аутора (de Pascual-Teresa et al., 2000). Један од најзаступљенијих флавонола у вину од вишње је био кверцетин, а уједно је његов садржај био највиши у овом вину у односу на сва друга вина од коштичавог воћа ($p < 0,05$) (Табела 23). Управо овакви резултати су у сагласности са студијом у којој је, такође, пронађен у плоду овог воћа (Justesen et al., 1998). Низак садржај кемпферола је пронађен само у вину од вишње без коштице (Табела 23). Резултат анализе вина од бобичастиг воћа је у складу са подацима из литературе који истичу да кемпферол није пронађен у аронији, боровници и малини (Häkkinen et al., 1999b). За разлику од свих других узорака вина од коштичавог воћа, једино у винима од вишње је пронађена синапинска киселина, док рутин једино није (Табеле 22 и 23).

Фенолне киселине се могу истаћи као најзаступљеније у узорцима вина од трешње (Табела 22). Тако је садржај хлорогене киселине био висок (355,23 $\mu\text{g/mL}$) што је и потврђено у три студије (González-Gómez et al., 2010; Jakobek et al., 2009; Usenik et al., 2008). Управо је садржај овог једињења био виши у овим узорцима него у винима произведеним од шљиве, кајсије и брескве ($p < 0,05$). Ипак кафеинска (1,77-5,27 $\mu\text{g/mL}$) и *p*-кумаринска киселина (1,90-3,28 $\mu\text{g/mL}$) биле су присутне у значајно ниском садржају, али и поред тога ова два једињења су била честа у вину од трешње (Jakobek et al., 2009; Xiao et al., 2015). Битно је истаћи да је кафеинска киселина у винима од трешње била заступљенија него у онима од вишње и кајсије ($p < 0,05$). Садржај *p*-кумаринске киселине био је виши у истом вину него у вишњи и брескви ($p < 0,05$). Деривати хидроксибензојеве киселине били су мање заступљени него деривати хидроксициметне (Табела 22). Узорци вина од трешње имали су највиши садржај протокатехуинске (30,42 $\mu\text{g/mL}$) и ванилинске киселине (17,35 $\mu\text{g/mL}$) ($p < 0,05$) у односу на друга вина од коштичавог воћа, што је у сагласности са литературом (Martini et al., 2017; Xiao et al., 2015). Присуство *p*-хидроксибензојеве киселине у складу је са претходно објављеним студијама (Jakobek et al., 2009; Martini et al., 2017; Xiao et al., 2015). Њен садржај у узорцима вина од трешње био је виши у поређењу са вишњом, кајсијом и бресквом ($p < 0,05$). Епикатехин (122,57 $\mu\text{g/mL}$) и катехин (22,45 $\mu\text{g/mL}$) су били заступљени у овим узорцима воћних вина. Виши садржај епикатехина у односу на катехин у сагласности је са подацима из литературе (Martini et al., 2017). Две друге студије, такође, су потврдиле присуство епикатехина у вину од трешње (González-Gómez et al., 2010; Usenik et al., 2008). Иста једињења пронађена су и у другом коштичавом воћу, али је њихов садржај у винима од шљиве, кајсије и брескве био знатно нижи ($p < 0,05$). Виши садржај кверцетина у односу на кемпферол је у складу са претходним резултатима из литературе (Jakobek et al., 2009; Martini et al., 2017). Управо вино од трешње се истакло по садржају кверцетина у односу на вина од шљиве, брескве и кајсије ($p < 0,05$). Вина од трешње садржала су и нарингенин што је истакнуто и у литератури (Martini et al., 2017). Кемпферол и нарингенин били су

најзаступљенија једињења у вину од трешње у односу на сва остала вина од коштичавог воћа ($p < 0,05$). Садржај рутина у овим винима био је најнижи у односу на сва друга од коштичавог воћа.

Хлорогена киселина ($285,35 \mu\text{g/mL}$) била је најзаступљеније полифенолно једињење у испитаним узорцима вина од шљиве што је и потврђено у литератури (Chun et al., 2003). Поред овога и друге студије иду у прилог присуства овог једињења у шљиви (Cendres et al., 2012; Donovan et al., 1998; Will and Dietrich, 2006; Miljić et al., 2017). Њен садржај је значајно био виши у узорцима вина од шљиве него у вину од брескве и кајсије ($p < 0,05$). Друге две хидроксициметне киселине кафеинска ($6,25 \mu\text{g/mL}$) и *p*-кумаринска ($3,95 \mu\text{g/mL}$) биле су присутне у нижем садржају. Ипак њихов садржај у вину од шљиве је био значајан у односу на друга воћна вина која су испитивана (Табела 22). Од свих узорака вина од коштичавог воћа у вину од шљиве се посебно истакла *p*-кумаринска ($p < 0,05$) (Miljić et al., 2017), док је кафеинска киселина била више заступљена у овим узорцима воћних вина него у кајсији, вишњи и трешњи ($p < 0,05$). Остале хидроксициметне киселине су пронађене, такође, у студијама које су испитивале шљиву (Donovan et al., 1998; Milala et al., 2013). Од деривата хидроксибензоеле киселине ванилинска је имала најнижи садржај ($1,84\text{-}2,70 \mu\text{g/mL}$). Чак и поред тога вино од шљиве је имало виши садржај овог једињења него вина од кајсије и брескве ($p < 0,05$). Узорци вина од шљиве су имали и значајни садржај *p*-хидроксибензоеле киселине ($15,61\text{-}30,48 \mu\text{g/mL}$). Садржај овог једињења у шљиви је био највиши у поређењу са осталим винима од коштичавог воћа ($p < 0,05$). Протокатехуинска ($16,25\text{-}22,68 \mu\text{g/mL}$) и гална киселина ($12,85\text{-}24,35 \mu\text{g/mL}$) су, такође, откривене. Протокатехуинска је имала виши садржај у вину од шљиве него у онима произведеним од вишње, кајсије и брескве ($p < 0,05$), док је гална киселина била заступљенија у вину од шљиве него у винима од трешње, кајсије и брескве ($p < 0,05$). Шљива се истиче као добар извор деривата хидроксибензоеле киселине (Kaulmann et al., 2014; Khallouki et al., 2012; Miljić et al., 2017). Узорци вина од шљиве су били најбогатији рутином ($8,62\text{-}13,70 \mu\text{g/mL}$) (Табела 23). Садржај рутина у овом вину је био нижи него збир свих квантификованих фенолних киселина. Исти случај примећен је и у другим студијама (Cendres et al., 2012; Chun et al., 2003; Donovan et al., 1998). Међу винима од коштичавог воћа шљива је имала највиши садржај рутина ($p < 0,05$). Епикатехин и кверцетин су били најзаступљенији у вину од шљиве у односу на вина произведена од брескве и кајсије ($p < 0,05$). Подаци две студије, такође, истичу присуство кверцетина у шљивама (Cendres et al., 2012; Chun et al., 2003; Miljić et al., 2017). Добијени резултати за епикатехин су у складу са литературним подацима (Will and Dietrich, 2006). Садржај нарингенина је у вину од шљиве био виши него у винима од вишње, брескве и кајсије ($p < 0,05$). Кемпферол је био више заступљен у вину од шљиве него у ономе произведеном од брескве ($p < 0,05$). Овакви резултати су у складу са литературним подацима (Sójka et al., 2015).

У винима од брескве су, такође, квантификоване фенолне киселине (Табела 24). Хлорогена киселина је била најзаступљеније једињење у винима од брескве ($127,15\text{-}156,35 \mu\text{g/mL}$). Овакви резултати су у складу са студијом која истиче хлорогену киселину у брескви (Saidani et al., 2017). Хлорогена киселина откривена је у брескви и у другим студијама, такође (Khumalo et al., 2017; Liu et al., 2018). Ипак кафеинска киселина је била присутна са много нижим садржајем ($3,35\text{-}7,42 \mu\text{g/mL}$) што је у сагласности са студијом у којој је ово једињење откривено у бресквама (Khumalo et al., 2017). Узорци вина од брескве су имали највиши садржај кафеинске киселине у односу на сва остала вина од коштичавог воћа ($p < 0,05$). Присуство деривата хидроксициметне киселине је претходно истакнуто у још једној студији из Србије која је поред других узорака испитивала и вина произведена од брескве (Davidović et al., 2013). Исти случај био је и са дериватима хидроксибензоеле киселине чије је присуство истакнуто у неколико студија (Davidović et al., 2013; Liu et al., 2018, 2015a, 2015b).

Табела 22. Садржај фенолних киселина ($\mu\text{g/mL}$) у анализираним узорцима вина од шљиве, вишње и трешње (експеримент 1).

Врста вина	Гална киселина	Протокатехуинска киселина	<i>p</i> -Хидрокси бензоева киселина	Хлорогена киселина	Ванилинска киселина	Кафеинска киселина	<i>p</i> -Кумаринска киселина	Елагинска киселина	Синапинска киселина
1	12,85±0,52	16,25±0,77	15,61±0,83	247,32±6,53	1,84±0,10	3,15±0,15	2,51±0,13	0	0
2	21,92±1,18	21,45±1,08	27,31±1,18	275,38±7,62	2,55±0,12	5,58±0,28	3,32±0,15	0	0
3	14,55±0,69	17,52±0,87	17,81±0,89	258,25±6,87	2,05±0,11	4,62±0,23	2,93±0,16	0	0
4	24,35±1,23	22,68±1,19	30,48±1,37	285,35±7,22	2,70±0,14	6,25±0,33	3,95±0,20	0	0
5	0	17,62±0,56	13,56±0,51	345,74±3,46	9,80±0,24	2,22±0,08	0	0	2,36±0,08
6	0	28,44±0,39	19,43±0,15	370,03±1,85	14,65±0,30	4,49±0,14	0	0	3,98±0,09
7	0	15,10±0,30	11,76±0,43	340,46±2,72	8,78±0,26	1,89±0,08	1,10±0,04	0	2,17±0,10
8	0	17,84±0,53	13,06±0,50	350,09±2,10	12,91±0,24	2,25±0,09	2,11±0,10	0	3,14±0,11
9	5,68±0,28	19,31±0,87	13,68±0,61	312,69±9,22	10,50±0,42	1,77±0,09	1,90±0,10	0	0
10	10,40±0,46	28,65±1,13	22,41±1,05	348,46±11,35	16,44±0,75	4,48±0,22	2,94±0,14	0	0
11	6,82±0,31	21,50±1,21	15,41±0,63	325,45±10,22	11,20±0,44	2,28±0,11	2,10±0,11	0	0
12	12,35±0,61	30,42±1,31	25,86±1,23	355,23±10,63	17,35±0,83	5,27±0,26	3,28±0,17	0	0

1. Шљива – коштица – шећер; 2. Шљива – коштица + шећер; 3. Шљива + коштица – шећер; 4. Шљива + коштица + шећер; 5. Вишња – коштица – шећер
 6. Вишња – коштица + шећер; 7. Вишња + коштица – шећер; 8. Вишња + коштица + шећер; 9. Трешња – коштица – шећер; 10. Трешња – коштица + шећер
 11. Трешња + коштица – шећер; 12. Трешња + коштица + шећер.
 – без ; + са

Табела 23. Садржај изабраних полифенолних једињења ($\mu\text{g/mL}$) у анализираним узорцима вина од шљиве, вишње и трешње (експеримент 1).

Врста вина	Епикатехин	Кемпферол	Катехин	Рутин	Нарингенин	Кверцетин
1	51,35 \pm 1,46	2,70 \pm 0,12	10,35 \pm 0,46	8,62 \pm 0,37	2,25 \pm 0,11	24,62 \pm 1,15
2	64,72 \pm 1,55	3,86 \pm 0,20	14,94 \pm 0,73	12,50 \pm 0,53	3,56 \pm 0,20	31,85 \pm 1,75
3	55,82 \pm 2,06	3,15 \pm 0,15	12,46 \pm 0,61	9,25 \pm 0,39	2,58 \pm 0,13	28,35 \pm 1,32
4	67,88 \pm 2,28	4,27 \pm 0,19	17,75 \pm 0,87	13,70 \pm 0,73	3,85 \pm 0,21	37,45 \pm 1,88
5	111,68 \pm 1,11	2,09 \pm 0,08	23,62 \pm 0,71	0	2,78 \pm 0,11	40,32 \pm 0,80
6	134,42 \pm 1,07	5,00 \pm 0,14	29,73 \pm 0,80	0	4,04 \pm 0,12	50,75 \pm 0,76
7	114,69 \pm 1,26	0	22,32 \pm 0,71	0	2,30 \pm 0,09	39,51 \pm 0,98
8	126,44 \pm 1,26	0	25,67 \pm 0,90	0	3,38 \pm 0,12	48,92 \pm 0,88
9	97,55 \pm 3,58	3,31 \pm 0,15	14,08 \pm 0,67	2,31 \pm 0,11	3,11 \pm 0,15	36,25 \pm 1,32
10	117,83 \pm 4,75	5,19 \pm 0,27	19,86 \pm 0,96	4,30 \pm 0,21	4,67 \pm 0,21	45,88 \pm 1,73
11	104,31 \pm 4,18	4,16 \pm 0,20	16,23 \pm 0,71	3,26 \pm 0,17	3,85 \pm 0,20	38,47 \pm 1,44
12	122,57 \pm 4,96	6,58 \pm 0,30	22,45 \pm 1,06	5,47 \pm 0,25	5,35 \pm 0,27	48,75 \pm 2,07

1. Шљива – коштица – шећер; 2. Шљива – коштица + шећер; 3. Шљива + коштица – шећер;
 4. Шљива + коштица + шећер; 5. Вишња – коштица – шећер; 6. Вишња – коштица + шећер;
 7. Вишња + коштица – шећер; 8. Вишња + коштица + шећер; 9. Трешња – коштица – шећер;
 10. Трешња – коштица + шећер; 11. Трешња + коштица – шећер; 12. Трешња + коштица + шећер. – без ; + са

Од једињења из ове групе, у винима од брескве, гална киселина била је заступљенија него у винима од кајсије и трешње ($p < 0,05$). Вина од брескве су имала виши садржај *p*-хидроксибензоеве киселине него вина од кајсије ($p < 0,05$). Поред фенолних киселина ова вина су била извор и још неких фенолних једињења (**Табела 25**). Кемпферол је био једињење чији је садржај био најнижи у вину од брескве у односу на сва остала једињења. Поред тога постоји податак да је кемпферол пронађен у овом воћу (Campbell and Padilla-Zakour, 2013). Садржај епикатехина је био висок у поређењу са нарингенином. Присуство два претходно истакнута једињења у сагласности је са литературом (Campbell and Padilla-Zakour, 2013; Davidović et al., 2013). Исти случај је примећен и за вино од кајсије, али садржај ова два једињења био је знатно нижи него у вину од брескве ($p < 0,05$). Садржај катехина и кверцетина у винима од брескве у сагласности је са литературним подацима (Campbell and Padilla-Zakour, 2013; Davidović et al., 2013; Khumalo et al., 2017; Liu et al., 2018, 2015a). Садржај рутина у винима од брескве био је виши него у онима од трешње и кајсије ($p < 0,05$).

Фенолне киселине пронађене су и у винима од кајсије (**Табела 24**). Хлорогена киселина била је главно полифенолно једињење и у вину од кајсије (135,33-167,22 $\mu\text{g/mL}$). Овакви подаци у сагласности су и са другим студијама где је испитиван полифенолни профил овог воћа (Carbone et al., 2018; Dragovic-Uzelac et al., 2005). Такође, *p*-кумаринска киселина пронађена је у овом вину што је у складу са још једном студијом (Fan et al., 2018). Управо ова два једињења била су заступљенија у вину од кајсије него од брескве ($p < 0,05$) (**Табела 24**). Вино од кајсије је имало виши садржај *p*-кумаринске киселине него вино од вишње ($p < 0,05$). Као и у анализираним узорцима присуство кафеинске киселине у кајсији је истакнуто и у још једној студији (Iguar et al., 2012). Гална (11,33-20,35 $\mu\text{g/mL}$) и протокатехуинска киселина (11,60-22,50 $\mu\text{g/mL}$) биле су најзаступљеније од свих деривата хидроксибензоеве киселине, што је претходно истакнуто и у две друге студије (Fan et al., 2018; Iguar et al., 2012). Садржај галне киселине био је виши него у вину од трешње ($p < 0,05$), док је протокатехуинске био нижи у вину од брескве него од кајсије ($p < 0,05$). Са друге стране битно је истаћи још нека полифенолна једињења која не спадају међу фенолне киселине (**Табела 25**). Садржај епикатехина био је виши него катехина што је у сагласности са резултатима неколико студија (Campbell and Padilla-Zakour, 2013; Dragovic-Uzelac et al., 2005; Iguar et al., 2012). Најнижи садржај епикатехина у односу на вина произведена од свог другог воћа пронађен је, управо, у вину од кајсије. Ипак посматрајући садржај катехина вино од кајсије је имало виши садржај него вина од брескве и шљиве ($p < 0,05$). Значајан садржај рутина у винима од кајсије је у доброј сагласности са литературним подацима (Campbell and Padilla-Zakour, 2013). Ово једињење је било заступљеније у вину од кајсије него у вину од трешње ($p < 0,05$). Кверцетин је, такође, пронађен што је у сагласности са претходно објављеним студијама (Campbell and Padilla-Zakour, 2013; Dragovic-Uzelac et al., 2005). Његов садржај је био виши у вину од кајсије него у онима произведеним од брескве ($p < 0,05$). Садржај кемпферола је био виши него у винима од брескве и шљиве ($p < 0,05$).

Највиши садржај изабраних једињења је пронађен у узорцима воћних вина произведених са додатком шећера и коштице. Такође, узорци са додатком шећера и без коштице су имали виши садржај полифенолних једињења него они произведени без шећера и без коштице (контрола) и без шећера и са коштицом ($p < 0,05$). Узорци воћних вина произведени без додатка шећера са коштицом су имали виши садржај изабраних полифенолних једињења него они произведени као контрола ($p < 0,05$). Једино воћно вино код кога се појавио изузетак у садржају изабраних полифенолних једињења у односу на претходно истакнуте случајеве је од вишње. Код овог воћа је вино произведено као контрола имало виши садржај изабраних једињења него вино без додатка шећера, али са коштицом ($p < 0,05$). Исти случај је био и у друге две винификације овог воћа, где су вина без коштице и са додатком шећера имала виши садржај изабраних једињења него вина произведена са

Табела 24. Садржај фенолних киселина ($\mu\text{g/mL}$) у анализираним узорцима вина од брескве и кајсије (експеримент 1).

Врста вина	Гална киселина	Протокатехуинска киселина	<i>p</i> -Хидрокси бензоева киселина	Хлорогена киселина	Ванилинска киселина	Кафеинска киселина	<i>p</i> -Кумаринска киселина	Елагинска киселина	Синапинска киселина
1	14,53±0,68	8,82±0,44	7,65±0,35	127,15±3,85	1,07±0,05	3,35±0,17	1,25±0,07	0	0
2	20,30±0,75	18,52±1,00	10,35±0,52	148,32±5,52	2,05±0,10	6,28±0,28	2,52±0,13	0	0
3	15,86±0,75	10,12±0,48	8,25±0,42	131,82±4,58	1,32±0,06	4,52±0,23	1,48±0,08	0	0
4	22,92±1,15	19,46±0,69	12,88±0,58	156,35±4,55	2,25±0,11	7,42±0,37	2,88±0,16	0	0
5	11,33±0,55	11,60±0,48	8,52±0,42	135,33±4,55	1,15±0,06	2,21±0,10	1,72±0,09	0	0
6	18,45±0,76	19,31±0,85	10,21±0,46	158,52±5,51	2,13±0,11	3,15±0,17	2,66±0,14	0	0
7	13,52±0,62	12,78±0,53	9,12±0,39	140,22±4,13	1,52±0,08	2,55±0,12	2,32±0,12	0	0
8	20,35±0,96	22,50±1,12	11,70±0,56	167,22±5,67	2,40±0,12	4,02±0,21	3,15±0,16	0	0

1. Бресква – коштица – шећер; 2. Бресква – коштица + шећер; 3. Бресква + коштица – шећер; 4. Бресква + коштица + шећер; 5. Кајсија – коштица – шећер; 6. Кајсија – коштица + шећер; 7. Кајсија + коштица – шећер; 8. Кајсија + коштица + шећер. – без ; + са

Табела 25. Садржај изабраних полифенолних једињења ($\mu\text{g/mL}$) у анализираним узорцима вина од брескве и кајсије (експеримент 1).

Врста вина	Епикатехин	Кемпферол	Катехин	Рутин	Нарингенин	Кверцетин
1	39,78±1,95	2,16±0,10	9,35±0,43	4,55±0,22	1,80±0,09	12,86±0,61
2	55,63±2,65	3,22±0,16	14,82±0,75	6,92±0,36	3,42±0,18	21,08±0,88
3	43,22±2,25	2,58±0,12	11,42±0,51	4,88±0,23	2,15±0,12	14,53±0,72
4	61,22±2,88	3,86±0,21	17,77±0,83	7,20±0,31	3,65±0,20	23,86±1,15
5	36,22±1,86	2,32±0,12	12,74±0,59	4,72±0,24	1,22±0,06	15,52±0,63
6	51,22±2,28	3,82±0,21	17,52±0,76	5,82±0,29	2,42±0,12	22,38±1,12
7	39,22±1,69	2,85±0,16	14,23±0,71	5,15±0,25	1,43±0,07	16,31±0,73
8	55,41±2,21	4,52±0,25	19,35±0,87	6,50±0,33	2,73±0,14	25,33±1,18

1. Бресква – коштица – шећер; 2. Бресква – коштица + шећер; 3. Бресква + коштица – шећер;
 4. Бресква + коштица + шећер; 5. Кајсија – коштица – шећер; 6. Кајсија – коштица + шећер;
 7. Кајсија + коштица – шећер; 8. Кајсија + коштица + шећер. – без ; + са

коштицом и додатком шећера ($p < 0,05$). Врста воћа коришћена у винификацији је, такође, утицала на садржај полифенолних једињења и то у свим случајевима ($p < 0,05$).

Резултати указују да је садржај флавоноида и фенолних киселина различит и да врста воћа на то значајно утиче. Позитиван утицај ових једињења на људски организам је показан у холандској студији (Hertog et al., 1993a). Истакнуто је да у групи испитаника који су имали највиши унос флавоноида исхраном, опасност од појаве првог инфаркта миокарда и морталитет од коронарне болести смањени су за чак 50% у односу на групу са најнижим уносом ових једињења. Такође је истакнуто да флавоноиди смањују појаву тромбозе тако што утичу на инхибицију циклооксигеназе (Laughton et al., 1991). Управо ови резултати указују колико је битан унос флавоноида исхраном, где се, поред воћних вина, могу унети и црвеним вином које је веома богат извор флавоноида чији је садржај у интервалу од 10–20 mg/L (Hertog et al., 1993b).

5.2.3. Експеримент 2 - вина од бобичастог воћа, вишње и јабуке

Други експеримент подразумевао је испитивање воћних вина произведених од бобичастог, коштичавог и јабучастог воћа и то ароније, боровнице, купине, малине, вишње и јабуке. Анализом узорака воћних вина системом UPLC-TQ-MS/MS добијени су резултати који су обрађени параметарским t тестом, у интервалу сигурности од 95%. Испитивани узорци воћних вина произведени без додатка шећера и без ензимског препарата гликозидаза (контрола) су упоређени са осталим узорцима. За разлику од бобичастог и јабучастог воћа, кљук вишње је био изложен врењу на два начина, и то са и без коштице, што је имало за циљ да покаже утицај коштице на садржај полифенолних једињења у вину. Да би се показао утицај поступка винификације и избора воћа на садржај полифенолних једињења примењена је двофакторска ANOVA.

Фенолне киселине, катехин и епикатехин у винима од вишње произведеним са квасцима *Lievito Secco* и *ICV D254* пронађени су у значајном садржају (Табела 26–28). Најзаступљеније једињење у вину од вишње је била хлорогена киселина (695,91-757,43 $\mu\text{g/mL}$), док су кафеинска и p -кумаринска киселина биле присутне у нижим концентрацијама. Узорци вина од вишње произведени контролисаним врењем уз помоћ квасца *ICV D254* и додатком шећера, ЕПГ-а и коштицом истакли су се као најбољи извор кафеинске киселине (131,53 $\mu\text{g/mL}$). Са друге стране, садржај p -кумаринске киселине је био у интервалу од 2,39 до 6,33 $\mu\text{g/mL}$. Хлорогена и кафеинска киселина су имале виши садржај у вину од вишње него у винима од купине и малине ($p < 0,05$) (Табеле 26, 27, 29 и 30). Узорци вина од вишње произведени са коштицом били су богатији у садржају кафеинске киселине него вино од боровнице ($p < 0,05$) (Табеле 26, 27, 29 и 30). Ипак овакав случај није примећен за вино од вишње произведено без коштице. Са друге стране, p -кумаринска киселина је била више заступљена у винима од вишње него у винима од боровнице, малине и купине ($p < 0,05$) (Табеле 26, 27, 29 и 30). Овакви резултати у сагласности су са претходном тврдњом која истиче хлорогену киселину као главно једињење у вину од вишње (Czyzowska and Rogorzelski, 2002; Pantelić et al., 2014). Међу дериватима хидроксибензоеве киселине, протокатехуинска киселина је била најзаступљенија (159,32-194,40 $\mu\text{g/mL}$) што је у складу са литературним подацима испитивања плода и вина од вишње (Pantelić et al., 2014; Sz wajgier et al., 2014). Ови узорци вина показали су да имају виши садржај протокатехуинске киселине него вина од боровнице и малине ($p < 0,05$) (Табеле 26, 27, 29 и 30). Вина од вишње била су богатија у садржају p -хидроксибензоеве киселине него вина од ароније, боровнице и купине ($p < 0,05$) (Табеле 26, 27, 29 и 30). У поређењу са другим узорцима вино од вишње се истакло по високом садржају ванилинске киселине (111,82 $\mu\text{g/mL}$) ($p < 0,05$). Садржај катехина и његовог епимера је био у сагласности са литературним подацима (de Pascual-Teresa et al., 2000). Управо ова два једињења су била најзаступљенија у вину од вишње у поређењу са

Табела 26. Садржај фенолних киселина ($\mu\text{g/mL}$) у анализираним узорцима вина од вишње и јабуке (квасац *Lievito Secco*, експеримент 2).

Врста вина	Гална киселина	Протокатехуинска киселина	<i>p</i> -Хидрокси бензоева киселина	Хлорогена киселина	Ванилинска киселина	Кафеинска киселина	<i>p</i> -Кумаринска киселина	Елагинска киселина	Синапинска киселина
1	0,55±0,04	161,28±3,25	52,23±1,33	695,91±12,57	67,71±2,90	97,28±3,17	2,39±0,13	0	2,77±0,27
2	0,86±0,05	185,35±3,42	71,66±2,87	722,61±15,21	101,72±3,33	119,49±2,87	4,35±0,23	0	5,42±0,22
3	0,87±0,05	168,46±3,89	57,40±2,35	712,23±12,52	73,74±3,25	107,20±3,17	3,56±0,19	0	4,62±0,19
4	1,24±0,09	192,37±3,66	77,27±2,80	744,48±16,57	108,39±2,47	126,58±3,24	5,80±0,29	0	7,86±0,27
5	0,70±0,04	163,68±4,12	53,53±2,82	697,01±16,44	68,51±2,85	98,48±4,15	2,87±0,16	0	3,78±0,17
6	0,92±0,05	188,25±2,27	70,69±3,64	723,97±14,68	102,13±2,93	121,31±3,17	4,92±0,28	0	6,32±0,27
7	0,87±0,05	168,28±3,67	56,75±1,60	715,81±11,64	73,86±3,07	107,27±2,83	3,56±0,16	0	5,62±0,27
8	1,00±0,07	194,40±4,61	76,41±3,14	747,14±17,55	109,44±2,92	128,27±3,20	5,94±0,29	0	8,58±0,37
9	0	0	1,05±0,02	72,25±0,75	1,25±0,05	0,62±0,01	0	0	0
10	0	0	3,95±0,11	93,72±1,25	4,55±0,15	3,05±0,05	0	0	0
11	0	0	1,32±0,04	73,55±0,81	1,48±0,06	1,88±0,02	0	0	0
12	0	0	4,11±0,12	95,87±1,41	4,72±0,14	3,21±0,06	0	0	0

1. Вишња – шећер – ензим – коштица; 2. Вишња + шећер – ензим – коштица; 3. Вишња – шећер + ензим – коштица; 4. Вишња + шећер + ензим – коштица; 5. Вишња – шећер – ензим + коштица; 6. Вишња + шећер – ензим + коштица; 7. Вишња – шећер + ензим + коштица; 8. Вишња + шећер + ензим + коштица; 9. Јабука – шећер – ензим; 10. Јабука + шећер – ензим; 11. Јабука – шећер + ензим; 12. Јабука + шећер + ензим.
– без ; + са

Табела 27. Садржај фенолних киселина ($\mu\text{g/mL}$) у анализираним узорцима вина од вишње и јабуке (квасац ICV D254, експеримент 2).

Врста вина	Гална киселина	Протокатехуинска киселина	<i>p</i> -Хидрокси бензоева киселина	Хлорогена киселина	Ванилинска киселина	Кафеинска киселина	<i>p</i> -Кумаринска киселина	Елагинска киселина	Синапинска киселина
1	0,53±0,06	159,32±2,95	50,71±2,20	697,06±12,34	68,74±3,05	96,78±3,97	2,48±0,15	0	2,64±0,15
2	1,05±0,16	187,54±3,91	70,63±3,10	727,44±9,97	101,65±2,17	121,55±2,83	4,79±0,25	0	5,10±0,23
3	0,62±0,07	166,74±3,20	56,12±2,31	717,24±12,71	73,69±3,05	109,63±2,82	3,36±0,15	0	4,13±0,16
4	1,35±0,08	190,96±4,11	75,65±2,91	747,07±16,19	110,18±2,92	128,31±2,70	6,18±0,35	0	7,10±0,30
5	0,85±0,09	160,14±3,34	51,50±2,29	707,86±12,67	70,12±2,95	97,00±3,25	2,98±0,19	0	2,83±0,15
6	1,12±0,07	185,28±3,75	71,31±3,83	732,29±14,01	103,64±3,02	123,34±2,64	5,28±0,29	0	5,67±0,27
7	0,95±0,08	165,61±4,17	55,40±2,43	727,80±12,59	74,79±3,15	109,05±2,68	3,65±0,22	0	4,57±0,22
8	1,46±0,09	192,64±3,39	74,55±3,10	757,43±15,21	111,82±3,02	131,53±1,88	6,33±0,34	0	7,69±0,32
9	0	0	1,15±0,02	74,15±0,85	1,31±0,06	0,71±0,03	0	0	0
10	0	0	4,08±0,12	95,51±1,27	4,72±0,17	3,25±0,07	0	0	0
11	0	0	1,41±0,04	74,85±0,92	1,53±0,07	2,17±0,04	0	0	0
12	0	0	4,20±0,13	97,82±1,50	5,12±0,17	3,45±0,08	0	0	0

1. Вишња – шећер – ензим – коштица; 2. Вишња + шећер – ензим – коштица; 3. Вишња – шећер + ензим – коштица; 4. Вишња + шећер+ ензим – коштица; 5. Вишња – шећер – ензим + коштица; 6. Вишња + шећер – ензим + коштица; 7. Вишња – шећер + ензим + коштица; 8. Вишња + шећер + ензим + коштица; 9. Јабука – шећер – ензим; 10. Јабука + шећер – ензим; 11. Јабука – шећер + ензим; 12. Јабука + шећер + ензим.
– без ; + са

Табела 28. Садржај епикатехина и катехина ($\mu\text{g}/\text{mL}$) у анализираним узорцима вина од вишње и јабуке (квасац *Lievito Secco* и *ICV D254*, експеримент 2).

Квасац Врста вина	<i>Lievito Secco</i>		<i>ICV D254</i>	
	Епикатехин	Катехин	Епикатехин	Катехин
1	16,34±0,87	31,09±1,11	17,11±0,88	30,18±1,35
2	27,45±1,25	39,32±1,72	28,50±1,30	40,86±2,04
3	24,24±1,15	32,54±1,42	24,94±1,15	33,84±1,38
4	35,13±1,50	44,65±2,11	35,54±1,40	45,47±2,14
5	17,32±1,20	32,66±1,41	18,29±0,80	31,49±1,50
6	28,28±1,26	43,62±1,89	29,88±1,38	42,22±1,97
7	24,18±1,15	36,27±1,64	23,50±1,05	35,09±1,85
8	36,17±1,68	48,52±2,12	34,40±1,06	46,52±2,12
9	23,05±0,40	1,35±0,05	23,15±0,52	1,40±0,05
10	40,22±0,51	3,82±0,15	39,85±0,58	4,05±0,17
11	23,25±0,45	1,48±0,06	23,41±0,41	1,60±0,05
12	41,35±0,62	3,95±0,16	40,08±0,66	4,22±0,18

1. Вишња – шећер – ензим – коштица; 2. Вишња + шећер – ензим – коштица;
 3. Вишња – шећер + ензим – коштица; 4. Вишња + шећер + ензим – коштица;
 5. Вишња – шећер – ензим + коштица; 6. Вишња + шећер – ензим + коштица;
 7. Вишња – шећер + ензим + коштица; 8. Вишња + шећер + ензим + коштица;
 9. Јабука – шећер – ензим; 10. Јабука + шећер – ензим;
 11. Јабука – шећер + ензим; 12. Јабука + шећер + ензим;
 – без ; + са

аронијом, купиним и малином ($p < 0,05$) (Табеле 28 и 31). Елагинска киселина није пронађена, за разлику од литературних података (Pantelić et al., 2014).

Деривати хидроксициметне киселине су били главна једињења у узорцима вина од боровнице. Тачније, хлорогена киселина је била главно једињење ($730,88\text{--}814,48 \mu\text{g}/\text{mL}$). Управо битно је истаћи да је вино од боровнице било најбогатије хлорогеном киселином у поређењу са купиним, малином и вишњом ($p < 0,05$) (Табеле 26, 27, 29 и 30). Сличан случај примећен је у још једној студији која је истакла боровнице и малине као богат извор хлорогене киселине (Kähkönen et al., 2001). Вино од боровнице произведено са квасцем *Lievito Secco* имало је виши садржај хлорогене киселине него вино од ароније произведено истим поступком ($p < 0,05$) (Табеле 29 и 30). Вино од ароније произведено са квасцем *ICV D254* имало је виши садржај хлорогене киселине него вино од боровнице произведено са истим квасцем ($p < 0,05$) (Табеле 29 и 30). Садржај кафеинске и *p*-кумаринске киселине у вину од боровнице био је у интервалу од $95,77\text{--}125,40 \mu\text{g}/\text{mL}$ и $1,73\text{--}3,95 \mu\text{g}/\text{mL}$. Ови узорци су имали виши садржај кафеинске киселине него они произведени од купине и малине ($p < 0,05$) (Табеле 29 и 30). Оба претходно поменуто једињења су се истакла по садржају у боровницама и у другим студијама (Häkkinen et al., 1999a; Zadernowski et al., 2005). Вина од боровнице су имала виши садржај галне киселине у поређењу са аронијом и вишњом ($p < 0,05$) (Табеле 26, 27, 29 и 30). Протокатехуинска киселина је била највише заступљена од свих других деривата хидроксибензојеве киселине што је истакнуто и у литератури (Zadernowski et al., 2005). Такође, финска студија је потврдила присуство *p*-хидроксибензојеве киселине у боровницама (Häkkinen et al., 1999a). Хидроксициметне киселине биле су више заступљене у вину од боровнице него хидроксибензојеве што је истакнуто и у другој студији везаној за ово вино (Zadernowski et al., 2005). Такође је показан и садржај епикатехина и

катехина који је у сагласности са литературним подацима (Gu et al., 2003). Вина од боровнице су била посебно богата епикатехином (65,84 $\mu\text{g/mL}$) ($p < 0,05$) (Табела 31). Оваква сазнања у сагласности су са студијом из Холандије (Arts et al., 2000b).

Вина од ароније показала су се као један од најбољих извора фенолних киселина док је садржај катехина и епикатехина био знатно нижи (Табеле 29–31). Висок садржај хлорогене, протокатехуинске, *p*-кумаринске и кафеинске киселине пронађен је у анализираним узорцима воћних вина од ароније. Хлорогена (827,55 $\mu\text{g/mL}$) и протокатехуинска киселина (724,54 $\mu\text{g/mL}$) биле су два најистакнутија једињења у вину од ароније. Управо ова вина била су и најбогатији извор протокатехуинске киселине ($p < 0,05$) (Табеле 29 и 30). Садржај хлорогене киселине био је виши у поређењу са вином од боровнице, купине, малине и вишње ($p < 0,05$) (Табеле 26, 27, 29 и 30). Ови резултати у складу су са финском студијом, али и друге две које су се бавиле испитивањима ароније и производа од ње (Grunovaitè et al., 2016; Kähkönen et al., 2001; Sz wajgier et al., 2014). Аронија се, такође, показала као извор *p*-хидроксибензојеве киселине (Sz wajgier et al., 2014). Измерени садржај кафеинске и *p*-кумаринске киселине у складу је са подацима из литературе (Häkkinen et al., 1999a). Вина од ароније су се показала као најбогатија са горе поменутих једињењима ($p < 0,05$) (Табеле 26, 27, 29 и 30). Пољска студија истакла је висок садржај *p*-кумаринске киселине у аронији (Sz wajgier et al., 2014). Насупрот томе садржај катехина (2,34 $\mu\text{g/mL}$) (Табела 31) и елагинске киселине (15,61 $\mu\text{g/mL}$) (Табела 29) био је низак у вину од ароније, при чему су резултати за садржај елагинске киселине у сагласности са литературом (Häkkinen et al., 1999a; Sz wajgier et al., 2014).

Два главна једињења у купини су биле гална (126,40–196,56 $\mu\text{g/mL}$) и протокатехуинска киселина (200,25–257,71 $\mu\text{g/mL}$). Поредџи са осталим винима купиново вино је било најбогатије галном киселином ($p < 0,05$) (Табеле 29 и 30). Такође, вино од купине је имало виши садржај протокатехуинске киселине у поређењу са винима од боровнице, малине и вишње ($p < 0,05$). Управо ово једињење је и најзаступљеније и у купини (Zadernowski et al., 2005). Деривати хидроксибензојеве киселине, *p*-хидроксибензојева и ванилинска киселина, такође, су откривене. Гална киселина била је главно једињење у винима од купине из Хрватске (Klarić et al., 2011). Добијени резултати за садржај полифенолних једињења у складу су са литературом и потврђују да су купине богат извор галне, протокатехуинске и ванилинске киселине (Zadernowski et al., 2005; Ljevar et al., 2016; Joh and McGlynn, 2019). Протокатехуинска киселина показала се као најзаступљенија у односу на сва друга једињења у студији која је испитивала купину (Mosel and Herrmann, 1974). Од деривата хидроксициметне киселине пронађена је хлорогена киселина. Битно је истаћи да је у овим узорцима био најнижи садржај кафеинске (2,24 $\mu\text{g/mL}$) и *p*-кумаринске киселине (1,22 $\mu\text{g/mL}$). Ова сазнања су у складу са претходним резултатима (Klarić et al., 2011). Литературни подаци истичу кафеинску и *p*-кумаринску киселину у купинама (Zadernowski et al., 2005; Ljevar et al., 2016; Joh and McGlynn, 2019). Посматрајући *p*-кумаринску киселину у неким случајевима може да буде у слободном облику док је некада и естерификована (Mertz et al., 2007). Вина од купине су била богата синапинском киселином чији је садржај био виши у поређењу са аронијом, боровницом и вишњом ($p < 0,05$) (Табеле 29 и 30). Литературни подаци иду у прилог присуству катехина и епикатехина у винима од купине (Табела 31) (Arts et al., 2000a; Gu et al., 2003; Mertz et al., 2007; Joh and McGlynn, 2019). Садржај елагинске киселине је био највиши у поређењу са свим осталим винима ($p < 0,05$) (Табеле 29 и 30). Исто једињење је истакнуто и у студији која је испитивала полифенолни састав различитих сорти купине (Siriwoharn and Wrolstad, 2006).

Деривати хидроксибензојеве киселине били су најдоминантнија једињења у винима од малине (Табеле 29 и 30) што потврђује и литература (Ljevar et al., 2016). Гална киселина била је најзаступљенија са садржајем од 127,46 до 171,70 $\mu\text{g/mL}$. Њен садржај је био виши у вину од малине него у аронији, боровници и вишњи ($p < 0,05$). Садржај *p*-хидроксибензојеве киселине се такође истакао ($p < 0,05$) (Табеле 29 и 30). То потврђују литературни подаци

Табела 29. Садржај фенолних киселина ($\mu\text{g/mL}$) у анализираним узорцима вина од бобичастог воћа (квасац *Lievito Secco*, експеримент 2).

Врста вина	Гална киселина	Протокатехуинска киселина	<i>p</i> -Хидрокси бензоева киселина	Хлорогена киселина	Ванилинска киселина	Кафеинска киселина	<i>p</i> -Кумаринска киселина	Елагинска киселина	Синапинска киселина
1	52,31±2,25	77,15±2,96	2,78±0,24	730,88±13,40	36,45±2,10	95,77±3,39	1,83±0,12	24,52±1,09	7,14±0,41
2	63,91±2,44	112,36±3,19	5,23±0,28	783,44±15,04	50,11±2,75	118,47±2,13	3,52±0,19	32,54±1,35	12,73±0,58
3	54,49±2,26	82,50±3,86	3,67±0,21	745,97±15,31	40,32±1,79	99,59±4,00	2,48±0,16	28,79±1,31	10,49±0,39
4	70,57±1,89	116,79±2,55	6,62±0,38	812,73±17,66	53,76±2,34	123,15±2,55	3,95±0,21	39,34±1,77	16,46±0,73
5	6,11±0,30	625,82±13,34	47,55±2,40	729,53±9,28	67,29±3,27	116,07±3,81	4,07±0,14	15,61±0,70	7,31±0,31
6	10,38±0,49	690,68±13,16	55,20±1,92	778,45±12,80	86,45±3,28	146,00±5,56	9,10±0,34	22,85±1,23	12,90±0,58
7	7,36±0,39	640,81±12,35	51,93±2,46	745,85±12,44	73,81±3,49	123,39±5,40	5,86±0,22	18,51±0,82	9,47±0,38
8	12,72±0,60	712,38±13,73	59,70±2,87	795,57±14,25	89,65±4,10	156,95±5,70	11,66±0,58	27,39±1,28	15,94±0,65
9	126,40±2,68	200,25±8,61	12,16±0,48	5,17±0,22	31,56±0,98	2,37±0,13	1,42±0,06	67,70±3,15	14,20±0,86
10	185,15±2,91	245,03±11,23	20,51±0,96	7,23±0,3	51,40±1,9	5,44±0,30	2,58±0,12	82,23±3,08	23,69±1,14
11	131,57±3,46	212,09±9,94	13,51±0,61	6,33±0,37	36,47±1,64	3,08±0,16	1,78±0,08	72,62±3,25	17,26±0,79
12	192,38±3,95	249,00±11,57	22,35±1,11	8,17±0,33	54,76±2,26	6,42±0,28	3,03±0,14	89,40±3,95	28,51±1,34
13	129,52±3,13	77,24±3,20	90,67±4,14	1,13±0,08	21,28±1,13	12,43±0,36	1,75±0,10	28,54±1,40	15,63±0,13
14	157,33±4,84	100,28±3,59	115,56±3,25	3,26±0,23	34,93±1,43	22,39±2,04	4,44±0,24	41,90±2,04	25,66±1,16
15	135,51±2,90	82,34±2,80	97,13±3,51	1,43±0,08	23,87±1,03	14,18±0,70	2,51±0,12	32,15±1,35	19,85±1,08
16	167,26±4,33	104,14±2,75	123,74±3,11	3,84±0,19	38,34±1,81	25,90±2,02	5,65±0,26	47,71±2,15	31,08±1,29

1. Боровница – шећер – ензим; 2. Боровница + шећер – ензим; 3. Боровница – шећер + ензим; 4. Боровница + шећер + ензим; 5. Аронија – шећер – ензим; 6. Аронија + шећер – ензим; 7. Аронија – шећер + ензим; 8. Аронија + шећер + ензим; 9. Купина – шећер – ензим; 10. Купина + шећер – ензим; 11. Купина – шећер + ензим; 12. Купина + шећер + ензим; 13. Малина – шећер – ензим; 14. Малина + шећер – ензим; 15. Малина – шећер + ензим; 16. Малина + шећер + ензим. – без ; + са

Табела 30. Садржај фенолних киселина ($\mu\text{g/mL}$) у анализираним узорцима вина од бобичастог воћа (квасац ICV D254, експеримент 2).

Врста вина	Гална киселина	Протокатехуинска киселина	<i>p</i> -Хидрокси бензоева киселина	Хлорогена киселина	Ванилинска киселина	Кафеинска киселина	<i>p</i> -Кумаринска киселина	Елагинска киселина	Синапинска киселина
1	49,14±2,34	79,80±3,70	3,10±0,17	741,84±14,78	34,69±1,22	98,00±2,60	1,73±0,07	25,29±1,23	6,42±0,27
2	66,34±2,75	115,32±3,94	5,48±0,26	787,39±14,94	47,06±2,15	122,70±2,26	3,23±0,18	34,22±1,71	11,51±0,55
3	55,77±2,25	82,09±1,85	3,99±0,17	754,89±12,72	38,78±1,71	100,67±1,89	2,17±0,13	30,44±1,39	9,65±0,42
4	72,67±2,65	118,93±2,72	6,23±0,27	814,48±15,11	50,70±2,45	125,40±2,12	3,78±0,16	41,09±1,43	15,01±0,64
5	6,46±0,35	632,66±8,96	45,50±2,51	750,64±11,71	80,93±4,65	103,13±2,56	3,23±0,18	16,44±0,90	8,76±0,37
6	11,62±0,60	702,57±17,75	57,81±2,54	808,98±16,83	101,71±4,62	117,65±3,60	8,56±0,38	24,23±1,02	14,33±0,65
7	8,25±0,45	646,72±9,70	50,82±2,48	771,64±12,94	90,81±4,92	106,86±3,33	5,02±0,30	19,93±1,11	10,73±0,47
8	14,68±0,61	724,54±13,07	61,19±3,37	827,55±16,15	111,00±5,35	122,75±3,13	11,00±0,55	30,03±1,29	17,27±0,90
9	128,16±4,34	207,67±3,81	11,16±0,55	4,74±0,23	29,15±1,47	2,24±0,13	1,22±0,07	69,56±3,15	15,76±0,87
10	187,59±3,99	251,95±5,14	19,81±1,07	6,34±0,25	43,85±2,10	5,03±0,28	2,17±0,12	83,34±3,66	25,29±1,25
11	134,73±4,86	215,55±4,38	12,68±0,53	5,52±0,32	34,95±0,87	3,14±0,20	1,83±0,12	74,49±2,93	19,40±1,00
12	196,56±3,70	257,71±5,80	21,29±1,12	7,70±0,28	49,45±2,29	6,11±0,29	2,73±0,13	91,76±3,20	30,30±1,17
13	127,46±3,12	81,45±3,72	94,70±3,15	0,98±0,08	23,10±1,07	15,32±0,67	1,86±0,11	30,48±1,45	17,25±0,73
14	163,53±4,32	102,44±3,67	119,28±1,63	2,45±0,11	36,09±1,84	20,46±0,63	4,76±0,23	43,69±2,16	27,51±1,30
15	130,88±2,30	88,22±0,26	99,21±3,74	1,21±0,07	25,66±1,15	22,74±1,88	2,82±0,15	33,63±1,45	21,61±1,02
16	171,70±4,97	108,56±3,85	123,65±2,94	2,89±0,18	41,39±2,14	28,93±1,73	6,17±0,32	49,39±2,01	33,14±1,35

1. Боровница – шећер – ензим; 2. Боровница + шећер – ензим; 3. Боровница – шећер + ензим; 4. Боровница + шећер + ензим; 5. Аронија – шећер – ензим; 6. Аронија + шећер – ензим; 7. Аронија – шећер + ензим; 8. Аронија + шећер + ензим; 9. Купина – шећер – ензим; 10. Купина + шећер – ензим; 11. Купина – шећер + ензим; 12. Купина + шећер + ензим; 13. Малина – шећер – ензим; 14. Малина + шећер – ензим; 15. Малина – шећер + ензим; 16. Малина + шећер + ензим. - без ; + са

Табела 31. Садржај епикатехина и катехина ($\mu\text{g/mL}$) у анализираним узорцима вина од бобичастог воћа (квасац *Lievito Secco* и *ICV D254*, експеримент 2).

Квасац Врста вина	<i>Lievito Secco</i>		<i>ICV D254</i>	
	Епикатехин	Катехин	Епикатехин	Катехин
1	39,44 \pm 1,98	31,31 \pm 1,25	41,54 \pm 1,75	32,63 \pm 1,44
2	57,38 \pm 2,09	40,49 \pm 1,64	61,56 \pm 2,65	42,60 \pm 1,84
3	43,58 \pm 1,92	35,50 \pm 1,42	44,30 \pm 2,12	37,58 \pm 1,64
4	59,86 \pm 2,65	44,62 \pm 2,06	65,84 \pm 2,56	46,22 \pm 2,08
5	0,98 \pm 0,04	2,34 \pm 0,09	1,10 \pm 0,06	2,99 \pm 0,18
6	1,49 \pm 0,07	5,18 \pm 0,33	1,60 \pm 0,13	5,92 \pm 0,29
7	1,37 \pm 0,06	3,66 \pm 0,16	1,26 \pm 0,07	4,28 \pm 0,25
8	1,83 \pm 0,07	6,95 \pm 0,36	1,70 \pm 0,08	7,43 \pm 0,37
9	0,75 \pm 0,06	16,59 \pm 0,72	0,56 \pm 0,06	17,50 \pm 0,85
10	1,86 \pm 0,06	22,25 \pm 1,17	1,97 \pm 0,12	23,34 \pm 1,20
11	1,32 \pm 0,12	19,73 \pm 1,16	1,21 \pm 0,07	21,55 \pm 1,27
12	2,57 \pm 0,11	27,36 \pm 1,16	2,82 \pm 0,17	29,52 \pm 1,42
13	1,12 \pm 0,07	17,42 \pm 0,82	1,33 \pm 0,10	18,87 \pm 0,76
14	1,66 \pm 0,09	25,39 \pm 1,12	1,85 \pm 0,10	26,68 \pm 1,14
15	1,29 \pm 0,07	21,85 \pm 1,05	1,76 \pm 0,11	23,23 \pm 1,08
16	1,88 \pm 0,09	30,33 \pm 1,24	2,12 \pm 0,12	32,42 \pm 1,52

1. Боровница – шећер – ензим; 2. Боровница + шећер – ензим;
 3. Боровница – шећер + ензим; 4. Боровница + шећер + ензим;
 5. Аронија – шећер – ензим; 6. Аронија + шећер – ензим;
 7. Аронија – шећер + ензим; 8. Аронија + шећер + ензим;
 9. Купина – шећер – ензим; 10. Купина + шећер – ензим;
 11. Купина – шећер + ензим; 12. Купина + шећер + ензим;
 13. Малина – шећер – ензим; 14. Малина + шећер – ензим;
 15. Малина – шећер + ензим; 16. Малина + шећер + ензим.
 – без ; + са

који су у складу са добијеним вредностима за ово једињење у вино од малине (Häkkinen et al., 1999a; Mosel and Herrmann, 1974).

Висок садржај протокатехуинске киселине (108,56 $\mu\text{g/mL}$), такође, је у складу са истакнутим подацима из литературе (Mattila and Kumpulainen, 2002). Садржај протокатехуинске и галне киселине у винима од купине био је виши него у онима од малине што је, такође, истакнуто и у још једној студији (Mosel and Herrmann, 1974). Најнижи садржај ванилинске киселине пронађен је у вино од малине (21,28 $\mu\text{g/mL}$) и управо ти резултати у сагласности су са литературом (Mattila and Kumpulainen, 2002; Szwajgier et al., 2014). Са друге стране синапинска киселина била је најзаступљенија (33,14 $\mu\text{g/mL}$). Још два једињења *p*-кумаринска и кафеинска киселина пронађене су у вино од малине, што је претходно истакнуто и у друге две студије (Häkkinen et al., 1999a; Mattila and Kumpulainen, 2002). Најнижи садржај хлорогене киселине је био у винима од малине (0,98 $\mu\text{g/mL}$) што је у сагласности са резултатима из Финске (Kähkönen et al., 2001). Елагинска киселина је била присутна са значајним садржајем који је био виши него у винима од ароније и боровнице ($p < 0,05$) (Табеле 29 и 30). Ипак елагинска киселина је имала нижи садржај у винима од малине него у купини што је истакнуто и од стране других истраживача из Србије (Milivojević et al.,

2011). Коначно, садржај катехина и епикатехина (**Табела 31**) био је у сагласности са литературом (Arts et al., 2000a; Gu et al., 2003).

Шећер је значајно утицао на садржај изабраних полифенолних једињења ($p < 0,05$). Виши садржај шећера пре почетка врења утицао је на виши ниво алкохола у крајњем производу, чиме је побољшана екстракција полифенолних једињења из покожице воћа. Ензимски препарат гликозидаза (ЕПГ) доводи до ослобађања полифенолних једињења из гликозида. Томе у прилог иде податак из литературе који истиче да је ЕПГ повисио садржај слободних изомера резвератрола у вину од грожђа (Eder et al., 2000). Управо у сагласности са овим податком резултати анализе системом UPLC-TQ-MS/MS воћних вина показали су да присуство ЕПГ у винификацији је значајно утицало ($p < 0,05$) на садржај изабраних полифенолних једињења (Џакар et al., 2018a). Примена два различита квасца *Lievito Secco* и *ICV D254* у микровинификацијама није показала статистичку значајност ($p > 0,05$) у садржају полифенолних једињења.

Узорци који су подвргнути врењу под утицајем квасца *Lievito Secco* су показали статистичку значајност ($p < 0,05$) у свим случајевима када је праћен утицај шећера и ЕПГ-а. Када је посматран утицај коштице статистичке значајности једино није било у микровинификацији без шећера са додатком ЕПГ-а ($p > 0,05$). Примена другог квасца *ICV D254* је показала, такође, статистичку значајност ($p < 0,05$) када је праћен утицај шећера и ЕПГ-а. Утицај коштице у винификацијама са овим квасцем је показао да је статистичка значајност била једино у винификацији без шећера и без ЕПГ-а ($p < 0,05$). Примена два различита квасца је једино показала разлику у садржају полифенолних једињења ($p < 0,05$) у винификацији са шећером и без ензима и коштице.

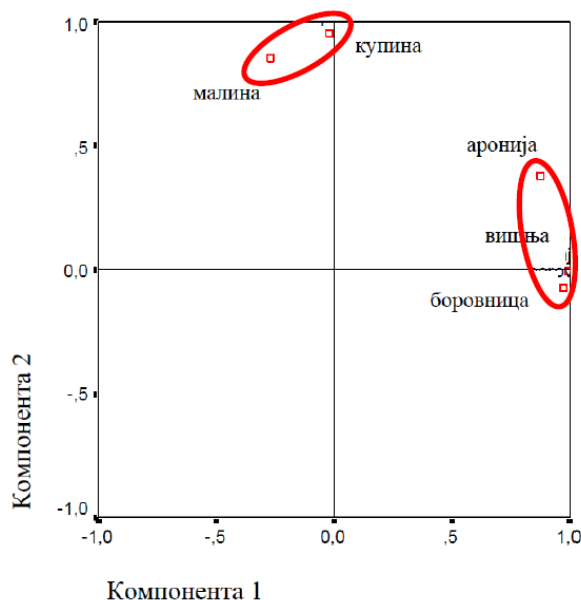
Поступак винификације је утицао на садржај полифенолних једињења ($p < 0,05$) где је највиши садржај пронађен у узорцима произведеним са додатком шећера и ЕПГ. Узорци произведени са додатком шећера и без ЕПГ-а су имали виши садржај полифенолних једињења него узорци без шећера и са ЕПГ-ом као и узорци без шећера и без ЕПГ-а (контрола). Такође је показано да су узорци произведени без додатка шећера и са додатком ЕПГ-а имали виши садржај полифенолних једињења него контрола. Врста воћа коришћена у винификацији показује значајну статистичку разлику ($p < 0,05$) и она, такође, утиче на садржај полифенолних једињења у свим случајевима.

Резултати добијени за садржај појединачних једињења у воћним винима произведеним у оквиру експеримента 2 су анализирани и методом редукције фактора-Principal Component Analysis (PCA). Ова статистичка процедура се примењује када је потребно почетни скуп променљивих, које могу бити међусобно зависне, трансформисати у нови скуп података који су некорелисани. Притом се идентификују оне променљиве које су најбитније за описивање података, а одбацују се оне које нису толико битне. Главна идеја ове методе је да се у првом кораку издвоји компонента која описује највећи део дисперзије података. Затим се тражи следећа компонента, чији је правац простирања података нормалан на правац претходне компоненте, и да друга компонента има другу највећу могућу дисперзију, итд.

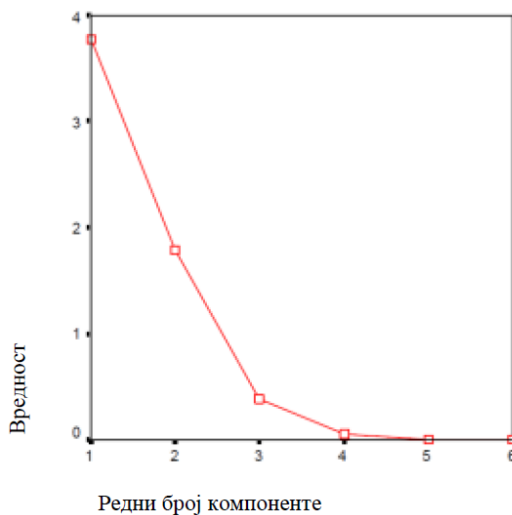
Груписање вина је урађено на основу садржаја десет полифенолних једињења пронађених у свим винификацијама код сваког воћа. Параметри за оправданост анализе су били Кајзер Мајер Олкинов критеријум (Kaiser-Meyer-Olkin criterion) који је био испод 0,57 док је Бартлетов тест сферичности (Bartlett's test of sphericity) показао статистичку значајност ($p < 0,05$). Вредности за Кајзер Мајер Олкинов критеријум се налазе у опсегу од 0 до 1. Када је вредност овог критеријума преко 0,9 подаци се прихватају као савршени, између 0,8 и 0,9 одлични, између 0,7 и 0,8 добри, док између 0,5 и 0,7 су средње адекватности. Ако је вредност испод 0,5 подаци су неадекватни за анализу и ова метода се не може применити.

Примењена је ортогонална *varimax* ротација којој је дата предност у односу на *quartimax* и *equamax*, јер обезбеђује максимално описивање варијанси помоћу нових компоненти. Метода редукује велики број скупова података (појединачна једињења) додајући им факторе који имају своја оптерећења (factor conditions) који садрже својства

редукованих елемената. Посматрајући у односу на најзначајнија факторска оптерећења, вина од малине и купине су се јасно раздвојила у односу на вина од вишње, боровнице и ароније (Слика 15). Две компоненте су се издвојиле и то прва има вредност 3,77 и различитост 62,94% док друга има вредност 1,78 и различитост 29,80%. Применом Кателовог критеријума (Cattell criterion) види се да постоје две издвојене компоненте чија је кумулативна различитост износила 93,2% (Слика 16). Као најзаступљенија једињења у првој групи истакла су се гална и синапинска киселина, док у другој су то били хлорогена и кафеинска киселина.



Слика 15. Груписање воћних вина према најзаступљенијим полифенолним једињењима.



Слика 16. График доприноса једињења проценту различитости.

Квантитативне разлике у садржају полифенолних једињења које се могу пронаћи у литератури зависе од многих фактора, где се могу истаћи сорта воћа, утицај климе и сама припрема узорка (Halvorsen et al., 2002). Унос фенолних киселина веома је важан. Управо због тога је битно и истаћи бобичасто воће које представља веома богат извор ових једињења и због тога је потребно да има важно место у исхрани (Mortaş and Şanlıer, 2017; Tomás-Barberán and Clifford, 2000). Студија спроведена у Норвешкој потврдила је претходне чињенице и истакла битно место бобичастиг воћа у исхрани (Halvorsen et al., 2002). Поред

самог воћа неки производи као што су сокови, такође, представљају добар извор антиоксиданаса у исхрани (Bhardwaj et al., 2014). Ипак интересно је истаћи податке који указују да током врења сока добијеног цеђењем корејске црне малине количине већине фенолних киселина као што су *p*-хидроксибензоева, кафеинска, гална и *p*-кумаринска су порасле након врења и то у интервалу од 27 до 188%. (Lim et al., 2012).

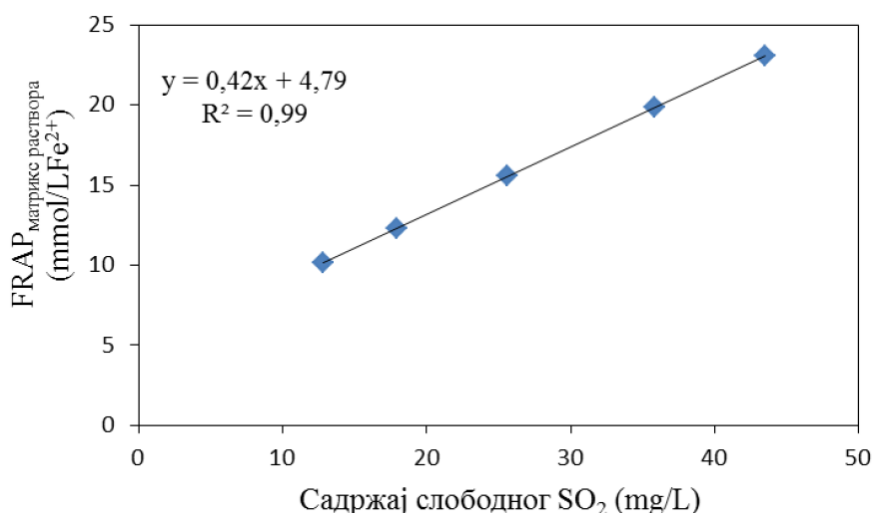
5.3. СПЕКТРОФОТОМЕТРИЈСКЕ МЕТОДЕ

5.3.1. FRAP

Матрикс раствори који су направљени у концентрацији 1 до 7 g/hL $K_2S_2O_5$ су анализирани методом FRAP да би се одредила њихова антиоксидативност која потиче од насталог SO_2 . Претходно је одређен садржај слободног SO_2 у овим растворима у оквиру експеримената 1 и 2 (Табеле 32 и 33). На основу вредности добијених методом FRAP и садржаја слободног SO_2 у матрикс растворима конструисана је калибрациона крива и у експерименту 1 као и у експерименту 2 (Слике 17 и 18). Уз помоћ калибрационе криве одређена је коригована вредност добијена методом FRAP ($FRAP_{\text{кориговано}}$) за сваки узорак воћног вина и то у експериментима 1 и 2. Добијена $FRAP_{\text{кориговано}}$ за све узорке воћних вина резултат је антиоксидативности добијене овом методом. Овако добијена вредност $FRAP_{\text{кориговано}}$ представља антиоксидативност воћних вина која потиче од свих једињења која се налазе у воћу од кога је вино произведено, без утицаја антиоксидативности која потиче од SO_2 . Резултати одређивања антиоксидативне активности методом FRAP у експерименту 1 за вина од бобичастог, јагодичастог воћа и јабуке показали су да вино од купине са додатком шећера има најбољу антиоксидативну активност ($FRAP_{\text{кориговано}} = 103,90 \text{ mmol/L Fe}^{2+}$) ($p < 0,05$) док је најнижа антиоксидативна активност показана за вино од малине са додатком шећера ($FRAP_{\text{кориговано}} = 18,04 \text{ mmol/L Fe}^{2+}$) ($p < 0,05$) (Табела 34). Додатак шећера у воћни кљук пре почетка врења доводи до тога да у вину буде виши садржај алкохола. Виши ниво алкохола побољшава екстракцију једињења одговорних за антиоксидативност воћног вина.

Табела 32. Вредности FRAP за матрикс растворе (експеримент 1).

Концентрација $K_2S_2O_5$ у матрикс растворима (g/hL)	FRAP _{матрикс раствора} (mmol/L Fe^{2+})
1,00	11,15
2,00	13,67
3,00	17,44
5,00	22,46
7,00	26,24

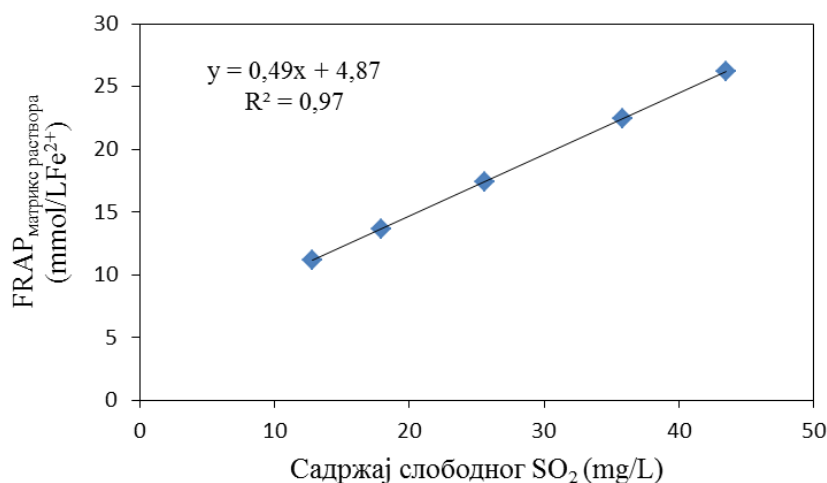


Слика 17. Калибрациона крива вредности FRAP за матрикс растворе у зависности од садржаја слободног SO_2 (експеримент 1).

Једнофакторска ANOVA је показала да узорци вина произведени од различитог воћа без додатка шећера показују статистичку значајност ($p < 0,05$) у антиоксидативној активности приказаној методом FRAP. Исти случај је био и са винима где је био додат шећер у воћни кљук пре почетка врења ($p < 0,05$).

Табела 33. Вредности FRAP за матрикс растворе (експеримент 2).

Концентрација $K_2S_2O_5$ у матрикс растворима (g/hL)	FRAP _{матрикс раствора} (mmol/L Fe^{2+})
1,00	10,16
2,00	12,31
3,00	15,54
5,00	19,84
7,00	23,06



Слика 18. Калибрациона крива вредности FRAP за матрикс растворе у зависности од садржаја слободног SO_2 (експеримент 2).

Воће које има тамно љубичасту, тамно плаву и црну покожицу (боровница, аронија и купина) има боље антиоксидативне особине у поређењу са малином и јабуком. Тако је могуће посебно истаћи купину, боровницу и аронију које су показале приближно сличне вредности са црним грожђем за укупну антиоксидативност мерену методом FRAP (Pantelidis et al., 2007; Sánchez-Moreno et al., 2003; Lachowicz et al., 2017). Статистичка значајност је приказана само код вина без додатка шећера произведених од боровнице ($70,44 \text{ mmol/L } Fe^{2+}$) и ароније ($74,40 \text{ mmol/L } Fe^{2+}$) ($p < 0,05$), док код ових вина са додатком шећера статистичке значајности није било ($p > 0,05$). Вина произведена од ова два воћа показала су статистичку значајност у вредности FRAP у односу на вино од малине, јагоде и јабуке ($p < 0,05$) (Табела 34). Вино произведено од јагоде је показало умерену антиоксидативност методом FRAP ($58,73\text{-}65,23 \text{ mmol/L } Fe^{2+}$) и показана је статистичка значајност у односу на вина од јабуке и малине ($p < 0,05$). Добијени резултати су у сагласности са студијом која истиче вредности за антиоксидативност јагоде добијене методом FRAP (Klopotek et al., 2005; Ljevar et al., 2016). Подаци из литературе указују да антиоксидативна активност вина управо зависи од врсте воћа, па је тако она била највиша у вину од ароније, а нешто слабија у вину од купине, јагоде и малине. Ниже вредности добијене су за вина произведена од јабуке (Kalkan Yildirim, 2006;

Ljevar et al., 2016). Вредности за укупну антиоксидативност методом FRAP зависе од синергистичког ефекта бројних једињења која улазе у састав воћног вина.

Табела 34. Вредности FRAP и FRAP_{кориговано} за вина од бобичастог, јагодичастог воћа и јабуке (експеримент 1).

Врста воћа	Врста винификације	FRAP (mmol/L Fe ²⁺)	FRAP _{коригован} (mmol/L Fe ²⁺)
Малина	– шећер	33,32±0,29	18,30±0,29
Малина	+ шећер	35,48±0,32 ^{a*}	18,04±0,32 ^{a*}
Купина	– шећер	104,38±3,02	94,48±3,02
Купина	+ шећер	115,06±4,02 ^{a*}	103,90±4,02 ^{a*}
Боровница	– шећер	80,34±1,68	70,44±1,68
Боровница	+ шећер	93,94±2,62 ^{a*}	82,78±2,62 ^{a*}
Аронија	– шећер	85,56±2,19	74,40±2,19
Аронија	+ шећер	94,55±2,60 ^{a*}	82,14±2,60 ^{a*}
Јагода	– шећер	67,38±2,55	58,73±2,55
Јагода	+ шећер	75,67±3,05 ^{a*}	65,23±3,05 ^{a*}
Јабука	– шећер	53,18±0,65	42,02±0,65
Јабука	+ шећер	65,58±0,82 ^{a*}	53,17±0,82 ^{a*}

^a - статистички значајна разлика у односу на узорак без додатка шећера,
* p<0,05. – без ; + са

Код вина од коштичавог воћа произведених у оквиру експеримента 1 највише вредности примећене су у винима од шљиве (52,75-61,95 mmol/L Fe²⁺) (p < 0,05) које су биле чак више у односу на неко бобичасто воће, док је најнижа вредност била у винима од брескве (24,77-31,71 mmol/L Fe²⁺). Овакви резултати у сагласности су са литературним подацима који истичу антиоксидативност шљиве, кајсије и брескве (Contessa et al., 2013; Pellegrini et al., 2003; Miljić et al., 2017). Вина од трешње показала су вишу антиоксидативност него од вишње, кајсије и брескве (p < 0,05), док је вино од вишње имало бољу антиоксидативност него вина од кајсије и брескве (p < 0,05) (Табеле 35 и 36). Поред овога, студија која је проучавала антиоксидативност воћних вина, такође, истакла је већу вредност у вину од вишње него кајсије (Kalkan Yildirim, 2006). Литературни подаци указују да вредности FRAP за трешњу могу да буду у широком интервалу у зависности од сорте (Martini et al., 2017). Вина од кајсије показала су више вредности FRAP него узорци од брескве (p < 0,05) (Табела 36) што је у сагласности са литературом (Contessa et al., 2013). Добијене FRAP вредности за вино од брескве су у складу са литературним подацима за овај параметар и истакнути су за различите сорте овог воћа (Liu et al., 2015a).

Табела 35. Вредности FRAP и FRAP_{кориговано} за вина од шљиве, трешње и вишње (експеримент 1).

Врста воћа	Врста винификације	FRAP (mmol/L Fe ²⁺)	FRAP _{коригован} (mmol/L Fe ²⁺)
Шљива	- коштица + шећер	70,63±2,15 ^{a*}	61,22±2,15 ^{a*}
Шљива	+ коштица + шећер	72,85±1,90 ^{a*}	61,95±1,90 ^{a*}
Шљива	- коштица - шећер	63,25±1,55	52,75±1,55
Шљива	+ коштица - шећер	65,55±2,20	54,28±2,20
Трешња	- коштица + шећер	65,54±1,77 ^{a*}	54,76±1,77 ^{a*}
Трешња	+ коштица + шећер	69,52±2,95 ^{a*}	59,77±2,95 ^{a*}
Трешња	- коштица - шећер	57,52±1,78	45,31±1,78
Трешња	+ коштица - шећер	60,25±1,65	50,87±1,65
Вишња	- коштица + шећер	71,64±1,13 ^{a*}	58,17±1,13 ^{a*}
Вишња	+ коштица + шећер	68,20±0,92 ^{a*}	55,79±0,92 ^{a*}
Вишња	- коштица - шећер	59,99±0,71	47,58±0,71
Вишња	+ коштица - шећер	61,18±0,74	46,25±0,74

^a - статистички значајна разлика у односу на узорак без додатка шећера, * p<0,05. - без ; + са

Табела 36. Вредности FRAP и FRAP_{кориговано} за вина од брескве и кајсије (експеримет 1).

Врста воћа	Врста винификације	FRAP (mmol/L Fe ²⁺)	FRAP _{коригован} (mmol/L Fe ²⁺)
Бресква	- коштица + шећер	40,88±0,92 ^{a*}	30,55±0,92 ^{a*}
Бресква	+ коштица + шећер	42,35±1,72 ^{a*}	31,71±1,72 ^{a*}
Бресква	- коштица - шећер	34,11±0,85	24,77±0,85
Бресква	+ коштица - шећер	36,88±1,15	25,56±1,15
Кајсија	- коштица + шећер	44,31 ±1,70 ^{a*}	34,97±1,70 ^{a*}
Кајсија	+ коштица + шећер	47,52±1,80 ^{a*}	36,83±1,80 ^{a*}
Кајсија	- коштица - шећер	39,47±1,05	30,98±1,05
Кајсија	+ коштица - шећер	41,28±1,50	30,87±1,50

^a - статистички значајна разлика у односу на узорак без додатка шећера, * p<0,05. - без ; + са

Код вина од коштичавог воћа произведених у оквиру експеримента 1 посматран је утицај микровинификације и врсте воћа. Анализа двофакторском ANOVA-ом показала је да поступак микровинификације утиче на антиоксидативност добијену методом FRAP, а највише вредности пронађене су у узорцима произведеним са додатком шећера и коштице ($p < 0,05$). Такође, узорци са додатком шећера и без коштице имали су бољу антиоксидативност него они без шећера и коштице (контрола) ($p < 0,05$) као и без шећера са коштицом ($p < 0,05$). Узорци вина произведени без шећера са коштицом показали су бољу антиоксидативност од контроле ($p < 0,05$). Са друге стране врста воћа је, такође, утицала на резултате ($p < 0,05$).

Показано је да на резултате за антиоксидативност вина одређених методом FRAP, произведених у оквиру експеримента 2, су имали утицај врста винификације и воћа. Бобичасто воће поседује добра антиоксидативна својства која се разликују од врсте до врсте. Виши ниво алкохола побољшава екстракцију, чиме се добија боља антиоксидативна активност воћних вина. Такође ЕПГ доприноси бољем антиоксидативном потенцијалу. Двофакторска ANOVA истакла је да најниже вредности за FRAP су пронађене у узорцима воћних вина произведених од малине без додатка шећера и ЕПГ-а у воћни кљук пре почетка врења (Табела 37). Такав је случај био и у винификацијама где је коришћен квасац *Lievito Secco* као и квасац *ICV D254* ($p < 0,05$). Највиша вредност била је у винима са додатком шећера и ЕПГ-а и то је показано у винификацијама где су коришћена оба претходно поменутог квасца ($p < 0,05$). Потребно је још истаћи да интеракције између два истакнута фактора није било. Код јединог коштичавог воћа у овом експерименту, вишње, најниже вредности за антиоксидативност методом FRAP су биле у узорцима вина произведеним без додатка шећера, ЕПГ-а и коштице док су највише вредности биле у винификацијама са шећером, ЕПГ и коштицом ($p < 0,05$) за оба квасца (*Lievito Secco* и *ICV D254*) (Табела 38). Највиша вредност била је у вину од купине $115,23 \text{ mmol/L Fe}^{2+}$, ($p < 0,05$), а најнижа у вину од малине $22,59 \text{ mmol/L Fe}^{2+}$ ($p < 0,05$) (Табела 37). Добијени резултати у доброј су сагласности са претходно урађеном студијом у Србији која је истакла купину као воће са највишим, док малину са најнижим вредностима за антиоксидативност мерену методом FRAP (Mitic et al., 2014). Добијени резултати методом FRAP за купину у сагласности су са литературним подацима (Siriwoharn and Wrolstad, 2006). Такође, и у друге две студије истакнута је већа антиоксидативност купине него малине (Moyer et al., 2002; Pellegrini et al., 2003). Вина од купине показала су знатно више вредности у методи FRAP у односу на вина од црног грожђа. У односу на вина од белог грожђа, купина је имала десет пута вишу вредност у методи FRAP (Mudnic et al., 2012). Антиоксидативност вина од боровнице ($70,11-87,78 \text{ mmol/L Fe}^{2+}$) била је виша од ароније ($72,38-87,13 \text{ mmol/L Fe}^{2+}$) ($p < 0,05$). Поред ова два воћа и вишња има тамну покожицу, али је антиоксидативност овог воћног вина ($50,33-64,89 \text{ mmol/L Fe}^{2+}$) била нижа него вина од ароније и боровнице ($p < 0,05$). Овако добијени резултати су у сагласности са литературним подацима који истичу вишу антиоксидативност у методи FRAP ароније и боровнице у односу на вишњу (Rupasinghe and Clegg, 2007). Италијанска студија, такође, истиче вишу антиоксидативност боровнице него малине (Pellegrini et al., 2003). Воћна вина произведена од воћа које има тамну покожицу показала су да имају слична, а у неким случајевима чак и боља антиоксидативна својства него црвена вина. Још једно истраживање је показало и потврдило сличне претходно истакнуте закључке да купина, аронија и вишња имају највише вредности за укупну антиоксидативност, док су знатно ниже показане код малине (Kalkan Yildirim, 2006).

Табела 37. Вредности FRAP и FRAP_{кориговано} за вина од бобичастог воћа (квасци Lievito Secco и ICV D254, експеримент 2).

Квасц		Lievito Secco		ICV D254	
Врста воћа	Врста винификације	FRAP (mmol/L Fe ²⁺)	FRAP _{коригован} (mmol/ L Fe ²⁺)	FRAP (mmol/L Fe ²⁺)	FRAP _{коригован} (mmol/ L Fe ²⁺)
Малина	– ензим + шећер	38,45±2,55	29,83±2,55	38,23±1,66	29,18±1,66
Малина	+ ензим + шећер	41,27±1,29	34,85±1,29	40,52±1,04	32,06±1,04
Малина	– ензим – шећер	35,23±2,18 ^{a*}	22,59±2,18 ^{a*}	33,67±1,06 ^{a*}	23,42±1,06 ^{a*}
Малина	+ ензим – шећер	36,32±0,60 ^{b*}	25,44±0,60 ^{b*}	34,43±2,36 ^{b*}	26,44±2,36 ^{b*}
Купина	– ензим + шећер	119,32±1,71	109,11±1,71	121,76±2,22	109,16±2,22
Купина	+ ензим + шећер	122,73±2,69	111,77±2,69	125,56±2,66	115,23±2,66
Купина	– ензим – шећер	107,92±1,44 ^{a*}	97,17±1,44 ^{a*}	110,43±2,53 ^{a*}	100,25±2,53 ^{a*}
Купина	+ ензим – шећер	111,86±1,28 ^{b*}	101,52±1,28 ^{b*}	115,56±2,29 ^{b*}	104,52±2,29 ^{b*}
Боровница	– ензим + шећер	91,34±1,14	79,61±1,14	94,87±0,92	84,02±0,92
Боровница	+ ензим + шећер	96,89±1,05	87,78±1,05	98,10±0,46	87,36±0,46
Боровница	– ензим – шећер	81,56±1,75 ^{a*}	70,11±1,75 ^{a*}	82,22±0,95 ^{a*}	70,43±0,95 ^{a*}
Боровница	+ ензим – шећер	85,73±1,24 ^{b*}	75,69±1,24 ^{b*}	86,75±0,63 ^{b*}	75,18±0,63 ^{b*}
Аронија	– ензим + шећер	96,21±1,00	83,70±1,00	97,77±1,12	82,90±1,12
Аронија	+ ензим + шећер	98,56±1,32	86,35±1,32	100,34±1,46	87,13±1,46
Аронија	– ензим – шећер	86,39±0,98 ^{a*}	72,87±0,98 ^{a*}	88,15±1,39 ^{a*}	72,38±1,39 ^{a*}
Аронија	+ ензим – шећер	88,87±0,89 ^{b*}	75,26±0,89 ^{b*}	90,76±1,45 ^{b*}	77,19±1,45 ^{b*}

^a - статистички значајна разлика у односу на узорак са шећером и без додатка ензима;

^b - статистички значајна разлика у односу на узорак са шећером и додатком ензима;

* p<0,05. – без ; + са

Табела 38. Вредности FRAP и FRAP_{кориговано} за вина од вишње и јабуке (квасци Lievito Secco и ICV D254, експеримент 2).

Квасц		Lievito Secco		ICV D254	
Врста воћа	Врста винификације	FRAP (mmol/L Fe ²⁺)	FRAP _{коригован} (mmol/ L Fe ²⁺)	FRAP (mmol/L Fe ²⁺)	FRAP _{коригован} (mmol/ L Fe ²⁺)
Вишња	– ензим	69,15±3,81	58,68±3,81	71,47±1,98	60,30±1,98
	+ шећер				
Вишња	– коштица	72,15±2,38	61,20±2,38	73,36±1,31	62,21±1,31
	+ ензим				
Вишња	– ензим	61,72±2,10 ^{a*}	50,33±2,10 ^{a*}	60,23±1,33 ^{a*}	52,55±1,33 ^{a*}
	– шећер				
Вишња	– ензим	65,17±2,18 ^{b*}	55,43±2,18 ^{b*}	67,21±0,92 ^{b*}	54,48±0,92 ^{b*}
	– шећер				
Вишња	– ензим	71,85±2,23	61,47±2,23	72,98±1,45	62,50±1,45
	+ шећер				
Вишња	+ ензим	74,26±1,92	63,54±1,92 ^{b*}	75,25±0,91	64,89±0,91 ^{b**}
	+ шећер				
Вишња	– ензим	63,85±2,08 ^{a*}	52,12±2,08 ^{a*}	65,43±1,18 ^{a*}	54,27±1,18 ^{a*}
	– шећер				
Вишња	+ ензим	67,14±1,54 ^{b*}	56,26±1,54 ^{b*}	68,52±1,27 ^{b*}	59,76±1,27 ^{b*}
	– шећер				
Јабука	– ензим	57,35±1,00	48,70±1,00	56,77±1,12	49,90±1,12
	+ шећер				
Јабука	+ ензим	59,60±1,32	51,35±1,32	58,34±1,46	52,13±1,46
	+ шећер				
Јабука	– ензим	51,25±0,98 ^{a*}	41,87±0,98 ^{a*}	50,15±1,39 ^{a*}	42,38±1,39 ^{a*}
	– шећер				
Јабука	+ ензим	53,12±0,89 ^{b*}	44,26±0,89 ^{b*}	51,76±1,45 ^{b*}	45,19±1,45 ^{b*}
	– шећер				

^a - статистички значајна разлика у односу на узорак са шећером и без додатка ензима;

^b - статистички значајна разлика у односу на узорак са шећером и додатком ензима;

* p<0,05. – без ; + са

5.3.2. Анти-DPPH радикалска активност

Од воћних вина произведених од бобичастог, јагодичастог воћа и јабуке у експерименту 1, вино од купине са додатком шећера имало је највишу анти-DPPH радикалску активност (IC₅₀ = 1,20%), док је најнижа измерена у вину од јабуке без додатка шећера (IC₅₀ = 83,33%) (Табела 39). Ниже вредности IC₅₀ указују на бољу антирадикалску активност. Битно је истаћи да је антирадикалска активност воћних вина према DPPH радикалу резултат кумулативног доприноса различитих једињења која имају биоактивне антирадикалске особине. Високу антирадикалску активност су показала и вина од боровнице и ароније као воћа са тамном покожицом. Вина од јагоде се могу истаћи као производи од воћа са црвеном покожицом (3,90-4,52%) и ови резултати су у сагласности са литературним подацима (Xu et al., 2014).

Вина од коштичавог воћа произведена са додатком шећера и коштицом пре почетка врења показала су највишу антирадикалску активност, док је најнижа била у узорцима без

дodatка коштице и шећера. Посматрајући анти-DPPH радикалску активност вина од коштичавог воћа у експерименту 1, највиша активност је пронађена за вишњу (1,66%) (Табела 40), док је најнижа била у вину од кајсије (72,28%) (Табела 41). Такође је интересантно истаћи и вино од трешње сорте бурлат (1,87-2,21%) (Табела 40). Ова сорта трешње показала је најбољу анти-DPPH радикалску активност у поређењу са 13 других сорти трешње (Usenik et al., 2008). Знатно ниже вредности у односу на вишњу и трешњу показане су за вино од шљиве (Miljić et al., 2017). Ипак вино од овог воћа је показало бољу антирадикалску активност него вина од кајсије и брескве. Важно је истаћи да су резултати за вино од кајсије, које је показало најнижу антирадикалску активност били у сагласности са литературним подацима (Carbone et al., 2018).

Произведена воћна вина у експерименту 2, такође, су показала анти-DPPH радикалску активност. Винификације са додатком шећера и ЕПГ-а пре почетка врења имале су највише вредности, док су најниже биле у онима где нису додавани ни шећер ни ензим. Код вина од вишње најниже вредности биле су у узорцима без коштице, ензима и шећера, док су највише биле у узорцима са додатком коштице, ензима и шећера. Овакав случај за бобичасто, јабучасто и коштичаво воће је био у винификацијама где су коришћена оба квасца (Lievito Secco и ICV D254). Највиша активност показана је за вино купине 1,11% док је најнижа била у вину од јабуке 87,32% (Табеле 42 и 43). Добијени резултати у доброј су сагласности са претходно урађеном студијом у Србији која је истакла купину као воће са највишим, док малину са нижим вредностима за анти-DPPH радикалску активност (Mitic et al., 2014). Добијени резултати за вина од малине и боровнице у сагласности су са студијама из Бразила које истичу анти-DPPH радикалску активност (Castilho Maro et al., 2013; Santos et al., 2016). У Републици Кореји постоји дуга традиција производње воћних вина тако да се истиче вино од корејске малине *Rubus coreanus* Miq. по доброј биоактивности према слободним радикалима (Ku and Mun, 2008). Поступком контролисаног врења под утицајем квасца рода *S. cerevisiae* анти-DPPH радикалска активност је боља у поређењу са неферментисаним материјалом корејске малине (Ju et al., 2009). Нешто ниже вредности од купине су показала вина од ароније, боровнице и вишње, док у односу на вина од малине су имала значајно вишу антирадикалску активност.

5.3.3. Метода по FOLIN–CIUCALTEU

У оквиру експеримента 1 вино од ароније произведено са додатком шећера пре почетка врења истакло се по највишем садржај укупних полифенола (TPC) (2414,61 mg GAE/L) (Табела 39). Најнижи садржај је био у вину од јабуке без додатка шећера и износио је 584,28 mg GAE/L (Табела 39). Једнофакторска ANOVA је показала да узорци вина произведени од различитог воћа без додатка шећера показују статистичку значајност ($p < 0,05$) у TPC у свим случајевима осим између вина од купине и боровнице ($p > 0,05$). Вина произведена са додатком шећера показала су статистичку значајност у TPC у свим случајевима ($p < 0,05$). Претходно истакнути резултати за TPC за аронију су у сагласности са литературним подацима који су ово воће истакли у односу на друго бобичасто и јагодичасто воће (Zheng and Wang, 2003). Посматрајући узорке воћних вина најнижи TPC је био у вину од јабуке што је у сагласности са литературом (Rupasinghe and Clegg, 2007; Ljevar et al., 2016). Вино од боровнице са додатком шећера имало је садржај укупних полифенола 2289,43 mg GAE/L, док без додатка шећера 2234,46 mg GAE/L. Значајно висок TPC је, такође, истакнут у испитивању антиоксидативних својстава боровнице и вина (Prior et al., 1998; Su and Chien, 2007; Santos et al., 2016). Поред бобичастиг воћа са тамном покожицом интересантно је истаћи и она црвене боје, јагода и малина. Резултати за вино од јагоде су били у интервалу 1438,00-1585,35 mg GAE/L. Сличан случај је примећен у још једној студији која се бавила испитивањем овог воћа (Contessa et al., 2013). Добијене вредности за TPC за јагоду је, нажалост, немогуће упоредити са другим литературним подацима због тога

Табела 39. Анти-DPPH радикалска активност и садржај укупних полифенола вина од бобичастог, јагодичастог воћа и јабуке (експеримент 1).

Врста воћа	Врста винификације	DPPH (IC ₅₀ , %)	Садржај укупних полифенола (mg GAE/L)
Малина	– шећер	5,52±0,09	1418,17±2,90
Малина	+ шећер	5,00±0,08	1458,87± 2,63a*
Купина	– шећер	1,32±0,03	2230,46±1,55
Купина	+ шећер	1,20±0,02	2326,81±1,27a*
Боровница	– шећер	1,49±0,03	2234,46±1,51
Боровница	+ шећер	1,56±0,05	2289,43±1,39a*
Аронија	– шећер	1,56±0,05	2330,96±1,25
Аронија	+ шећер	1,26±0,02	2414,61±0,98a*
Јагода	– шећер	3,90±0,08	1438,00±42,50
Јагода	+ шећер	4,52±0,11	1585,35±43,00a*
Јабука	– шећер	83,33±2,80	584,28±4,98
Јабука	+ шећер	54,05 ±1,70	770,89±3,58a*

^a - статистички значајна разлика у односу на узорак без додатка шећера; * p<0,05. – без ; + са

што су коришћене различите сорте гајене у различитим климатским подручјима, а и узорак за анализу припреман је на другачији начин (Chaves et al., 2017; Mandave et al., 2014; Singh et al., 2011). Резултати за вино од малине су били у интервалу 1418,17-1458,87 mg GAE/L. Претходно истакнути резултати код јагоде и малине указују да вина од ароније и боровнице имају знатно више вредности за садржај укупних полифенола ($p < 0,05$) (Табела 39). Томе у прилог иде и чињеница да је природа воћа другачија, али и то да ситне бобице као што су аронија и боровница које имају тамну боју и тврђу pokožицу, показују боље антиоксидативне особине него воће које има мекшу, тању pokožицу и светлије је боје као што су малине и јагоде (Heinonen et al., 1998). Вино представља једну сложену смешу полифенолних једињења тако да се антиоксидативне особине не могу приписати само једном појединачном једињењу већ је ту кумулативни ефекат свих њих.

Ипак је важно истаћи где се у плодовима воћа налазе полифенолна једињења најзначајнија за антиоксидативне особине вина. Према ауторима (Katalinić et al., 2004) који су испитивали вино од грожђа фенолна једињења из чврстих делова грожђа (семенке, pokožице и шепурине) се током процеса врења уз помоћ алкохола екстархују из тих делова тако да све то доприноси антиоксидативним особинама крајњег производа, вина. То се може видети у узорцима вина произведеним од коштичаваог воћа. Резултати за ТРС добијени у експерименту 1 за вина од бобичастог воћа и јабуке показали су везу између додатка шећера и повећања нивоа алкохола у вину (Табела 39). На овај начин је побољшана екстракција и

TPC у воћним винима. Вина са вишим садржајем етанола имала су виши ниво полифенола услед боље екстракције (Jeong et al., 2010).

Код вина од коштичавог воћа произведених у оквиру експеримента 1 највише вредности примећене су у винима од вишње (1899,90-2180,63 mg GAE/L) које су биле чак више у односу на неко бобичасто и јагодичасто воће, док су најниже биле у брескви (480,72-617,85 mg GAE/L) (Табеле 40 и 41). Од вина произведених од коштичавог воћа највиша вредност је била у вину од вишње ($p < 0,05$), тако да је TPC у овом воћу у сагласности са литературом (Mitić et al., 2013). Интересантно је истаћи и вино од трешње (1586,31-1855,68 mg GAE/L) произведено од сорте бурлат. Литературни подаци истичу ову сорту трешања у односу на 13 других као ону која показује највиши TPC (Liu et al., 2015a). Вино од трешње се истакло по TPC у односу на вина од шљиве, кајсије и брескве ($p < 0,05$) (Табеле 40 и 41). Вино од шљиве је имало виши TPC у поређењу са кајсијом и бресквом ($p < 0,05$) што је у сагласности са литературом (Contessa et al., 2013; Rupasinghe and Clegg, 2007;). Вино од кајсије је имало виши TPC него од брескве ($p < 0,05$) што је у сагласности са литературним подацима (Contessa et al., 2013). Добијене вредности за TPC у вину од брескве су у сагласности са литературом (Liu et al., 2015a). Код вина од коштичавог воћа произведених у оквиру експеримента 1 посматран је утицај микровинификације и врсте воћа (Табеле 40 и 41). Анализа двофакторском ANOVA-ом је показала да поступак микровинификације утиче на TPC, а највише вредности су пронађене у узорцима произведеним са додатком шећера и коштице ($p < 0,05$). Такође, узорци са додатком шећера и без коштице били су богатији фенолним једињењима него они без шећера и без коштице (контрола) ($p < 0,05$), као и без шећера и са коштицом ($p < 0,05$). Узорци вина произведени без шећера са коштицом показали су боље вредности него контрола ($p < 0,05$). Са друге стране врста воћа, такође, је утицала на садржај укупних полифенола ($p < 0,05$).

Табела 40. Анти-DPPH радикалска активност и садржај укупних полифенола вина од шљиве, трешње и вишње (експеримент 1).

Врста воћа	Врста винификације	DPPH (IC ₅₀ , %)	Садржај укупних полифенола (mg GAE/L)
Шљива	- коштица + шећер	33,83±1,05	1217,42±24,50 ^{a*}
Шљива	+ коштица + шећер	27,55±0,57	1389,48±30,00 ^{a*}
Шљива	- коштица - шећер	42,13±1,17	1011,33±21,50
Шљива	+ коштица - шећер	38,15±0,72	1132,35±25,00
Трешња	- коштица + шећер	1,95±0,06	1745,28±40,00 ^{a*}
Трешња	+ коштица + шећер	1,87±0,06	1855,68±34,25 ^{a*}
Трешња	- коштица - шећер	2,21±0,05	1586,31±35,00
Трешња	+ коштица - шећер	2,15±0,06	1620,56±28,65
Вишња	- коштица + шећер	1,72±0,04	2084,28±1,76 ^{a*}
Вишња	+ коштица + шећер	1,66±0,06	2180,63±1,65 ^{a*}
Вишња	- коштица - шећер	1,92±0,07	1899,90±1,88
Вишња	+ коштица - шећер	1,78±0,05	1980,46±1,68

^a - статистички значајна разлика у односу на узорак без додатка шећера;

* $p < 0,05$. - без ; + са

Табела 41. Анти-DRPH радикалска активност и садржај укупних полифенола вина од брескве и кајсије (експеримент 1).

Врста воћа	Врста винификације	DRPH (IC ₅₀ , %)	Садржај укупних полифенола (mg GAE/L)
Бресква	– коштица + шећер	51,32±1,38	563,38±11,72 ^{a*}
Бресква	+ коштица + шећер	47,31±1,08	617,85±15,75 ^{a*}
Бресква	– коштица – шећер	65,38±2,35	480,72±14,35
Бресква	+ коштица – шећер	59,89±1,46	485,92±9,25
Кајсија	– коштица + шећер	53,28±1,17	677,89±10,50 ^{a*}
Кајсија	+ коштица + шећер	51,35±1,22	722,72±13,00 ^{a*}
Кајсија	– коштица – шећер	72,28±1,22	542,21±12,25
Кајсија	+ коштица – шећер	60,93±0,91	581,11±9,00

^a - статистички значајна разлика у односу на узорак без додатка шећера;
* p<0,05. – без ; + са

Резултати за ТРС за вина произведена у оквиру експеримента 2 показали су утицај винификације и воћа. Највиши ТРС је пронађен у вину од ароније (2520,40 mg GAE/L), док је најнижи био у јабуци (605,00 mg GAE/L) (Табеле 42 и 43). Двофакторска ANOVA је показала да је најнижи ТРС пронађен у узорцима вина бобичастог воћа без додатка шећера и ЕПГ у воћни кљук пре почетка врења и то у винификацијама где су коришћени квасци *Lievito Secco* и *ICV D254* (p < 0,05). Највиши садржај је био у винима са додатком шећера и ЕПГ (p < 0,05). Потребно је још истаћи да интеракције између два претходно истакнута фактора није било. Код јединог коштичавог воћа у овом експерименту, вишње, најнижи ТРС је био у узорцима произведеним без додатка шећера, ЕПГ и коштице док је највиши био у винификацијама са шећером, ЕПГ и коштицом (p < 0,05) за оба квасца (*Lievito Secco* и *ICV D254*). Вино од ароније је имало највиши садржај полифенолних једињења у поређењу са осталим бобичастим воћем (2351,00-2520,40 mg GAE/L) (p < 0,05). Истакнути резултати су у сагласности са студијама које потврђују да аронија поседује највише укупних полифенола и да је њихов садржај био виши у вину од ароније него у оном произведеном од црног грожђа (Gumienna et al., 2011; Zheng and Wang, 2003). Нижи ТРС у вину од боровнице (2259,33-2459,43 mg GAE/L) него ароније је, такође, истакнут у литературним подацима (p < 0,05) (Sánchez-Moreno et al., 2003; Santos et al., 2016). Поредиши вина од малине (1441,61-1544,37 mg GAE/L) и купине (2262,33-2395,30 mg GAE/L) виши ТРС је пронађен у купини (p < 0,05) што је, такође, истакнуто и у још једној студији везаној за ова два воћа (Ljevar et al., 2016; Moyer et al., 2002). Поступак контролисаног врења под утицајем рода квасца *S. cerevisiae* може довести до вишег ТРС што је показано у поређењу са неферментисаним материјалом корејске малине *Rubus coreanus* Miq. (Ju et al., 2009). Вино од вишње (1855,43-2281,52 mg GAE/L) и претходно поменуто од малине је имало нижи ТРС него вино од боровнице (p < 0,05) што је, такође, у сагласности са литературним подацима (Rupasinghe and Clegg, 2007).

Табела 42. Анти-DPPH радикалска активност и садржај укупних полифенола вина од бобичастог воћа (квасци Lievito Secco и ICV D254, експеримент 2).

Квацас		Lievito Secco		ICV D254	
Врста воћа	Врста винификације	DPPH (IC ₅₀ , %)	Садржај укупних полифенола (mg GAE/L)	DPPH (IC ₅₀ , %)	Садржај укупних полифенола (mg GAE/L)
Малина	- ензим + шећер	4,35±0,09	1498,54±29,89	4,63±0,08	1496,50±20,22
Малина	+ ензим + шећер	4,18±0,09	1544,37±30,06	4,40±0,07	1531,44±19,72
Малина	- ензим - шећер	5,05±0,10	1448,44±30,11 ^{a*}	5,25±0,08	1441,61±19,95 ^{a*}
Малина	+ ензим - шећер	4,88±0,07	1483,56±29,72 ^{b*}	5,00±0,07	1471,27±19,96 ^{b*}
Купина	- ензим + шећер	1,17±0,05	2351,64±26,80	1,14±0,04	2358,70±25,16
Купина	+ ензим + шећер	1,15±0,03	2388,59±27,26	1,11±0,04	2395,30±25,22
Купина	- ензим - шећер	1,28±0,05	2262,33±27,03 ^{a*}	1,24±0,04	2268,33±24,77 ^{a*}
Купина	+ ензим - шећер	1,24±0,03	2297,71±27,10 ^{b*}	1,20±0,03	2303,56±25,32 ^{b*}
Боровница	- ензим + шећер	1,47±0,03	2412,52±30,16	1,45±0,04	2419,44±29,89
Боровница	+ ензим + шећер	1,44±0,04	2457,56±29,69	1,42±0,05	2459,43±30,12
Боровница	- ензим - шећер	1,51±0,03	2259,33±29,77 ^{a*}	1,49±0,05	2274,14±30,00 ^{a*}
Боровница	+ ензим - шећер	1,49±0,06	2294,45±29,94 ^{b*}	1,47±0,05	2316,34±29,61 ^{b*}
Аронија	- ензим + шећер	1,44±0,05	2471,40±19,56	1,22±0,04	2482,45±21,94
Аронија	+ ензим + шећер	1,21±0,05	2500,47±20,33	1,18±0,04	2520,40±22,11
Аронија	- ензим - шећер	1,53±0,05	2351,00±20,00 ^{a*}	1,49±0,05	2358,54±21,78 ^{a*}
Аронија	+ ензим - шећер	1,26±0,04	2381,58±19,71 ^{b*}	1,41±0,03	2390,66±21,89 ^{b*}

^a - статистички значајна разлика у односу на узорак са шећером и без додатка ензима;

^b - статистички значајна разлика у односу на узорак са шећером и додатком ензима;

* p<0,05. - без ; + са

Табела 43. Анти-DPPH радикалска активност и садржај укупних полифенола вина од вишње и јабуке (квасци *Lievito Secco* и *ICV D254*, експеримент 2).

Квасас		<i>Lievito Secco</i>		<i>ICV D254</i>	
Врста воћа	Врста винификације	DPPH (IC ₅₀ , %)	Садржај укупних полифенола (mg GAE/L)	DPPH (IC ₅₀ , %)	Садржај укупних полифенола (mg GAE/L)
Вишња	- ензим + шећер	1,71±0,06	2141,58±26,94	1,69±0,05	2148,45±25,06
Вишња	- коштица + ензим + шећер	1,65±0,05	2214,37±26,88	1,64±0,06	2219,65±24,95
Вишња	- коштица - ензим - шећер	1,95±0,07	1855,43±27,01 ^{a*}	1,97±0,06	1860,45±24,89 ^{a*}
Вишња	- коштица + ензим - шећер	1,81±0,06	1953,29±27,04 ^{b*}	1,79±0,05	1959,42±25,00 ^{b*}
Вишња	- коштица - ензим + шећер	1,69±0,06	2165,52±22,32	1,67±0,04	2170,36±17,93
Вишња	+ коштица + ензим + шећер	1,61±0,04	2276,52±21,86	1,59±0,06	2281,52±17,98
Вишња	+ коштица - ензим - шећер	1,86±0,05	1915,47±22,01 ^{a*}	1,88±0,06	1921,48±17,95 ^{a*}
Вишња	+ коштица + ензим - шећер	1,77±0,05	1989,40±22,01 ^{b*}	1,75±0,05	1994,30±17,94 ^{b*}
Јабука	+ коштица - ензим + шећер	60,44±1,82	750,40±19,56	61,22±1,95	753,45±21,94
Јабука	+ ензим + шећер	52,25±1,65	790,47±20,33	51,18±1,82	798,40±22,11
Јабука	- ензим - шећер	87,32±2,35	605,00±20,00 ^{a*}	86,49±2,43	608,54±21,78 ^{a*}
Јабука	+ ензим - шећер	80,65±2,03	657,58±19,71 ^{b*}	79,28±1,95	662,77±21,89 ^{b*}

^a - статистички значајна разлика у односу на узорак са шећером и без додатка ензима;

^b - статистички значајна разлика у односу на узорак са шећером и додатком ензима;

* p<0,05. - без ; + са

5.4. АНТИ α -ГЛУКОЗИДАЗНА АКТИВНОСТ

Унос воћа и поврћа свакодневном исхраном превентивно може да утиче на смањење појаве дијабетес мелитуса и других хроничних незаразних болести (Costacou and Mayer-Davis, 2003; Hung et al., 2004). Препоруке Светске здравствене организације истичу да дневни унос од 400 g воћа и поврћа доприноси смањењу фактора одговорних за појаву ових обољења (WHO, 2015). Нажалост, поражавајући подаци из 2012 године истичу да је за смрт 1,5 милиона људи био одговоран дијабетес, док за 2,2 милиона висок ниво глукозе у крви. Нема сумње да је превенција најбоља борба, тако да су редовни преглед, балансирана исхрана и физичка активност битни кораци који морају да се спроводе у контроли дијабетес мелитуса (WHO, 2016).

Бобичасто воће је богат извор полифенолних и других биоактивних једињења која могу допринети очувању здравља (Szajdek and Borowska, 2008). Посебно се могу истаћи флавоноиди и нефлавоноиди због њиховог антиоксидативног потенцијала и инхибиторне ензимске активности (α -амилаза и α -глукозидаза) (Kim et al, 2000; Sawa et al., 1999). Анти α -глукозидазну активност показују неки од флавоноида као што су морин, апигенин, мирицетин, али и једињења која нису флавоноиди као што је калистегин (Jocković et al., 2013; Zeng et al., 2016). Ензим α -глукозидаза се налази у танком цреву и укључен је у крајње кораке варења угљених-хидрата, што подразумева разградњу скроба и дисахарида до глукозе. Дати ензим активан је при рН од 6 до 7,4 и температури 37°C. Инхибитори овог ензима из хране важни су у снижавању нивоа глукозе у крви, чиме се у ствари смањује постпрандијална хипергликемија (Bailey, 2003; Hafeez et al., 2017; Romanucci et al., 2016; Nabtemariam and Varghese, 2014).

Најчешће коришћени синтетски инхибитори акарбоза, воглибоза и миглитол успоравају разлагање скроба. На тај начин се смањује апсорпција глукозе у систему органа за варење, јер се утиче на ензиме који у томе учествују. Они тако снижавају постпрандијалну хипергликемију и ране симптоме дијабетес мелитуса типа 2 (Basha and Rao, 2017; Kusuma et al., 2018; Rotipiranun et al., 2018). Ипак поред тога што делују на варење угљених-хидрата, ови лекови показују и бројне нежељене ефекте као што су болови у стомаку, надутост и дијареа. Управо због тога потрага за новим инхибиторима α -глукозидазе, пореклом из природе, у целости је оправдана (Bailey, 2003). Већина природних инхибитора α -глукозидазе показује слабије нежељене ефекте (болове у стомаку, надутост и дијареу) од неких синтетичких инхибитора (Adisakwattana et al., 2009; Su et al., 2018; Vinholes et al., 2017; Zhao et al., 2016).

Постпрандијална хипергликемија може се контролисати храном биљног порекла (Kwon et al., 2006; McDougall et al., 2005). Подаци из литературе указују на једињења из воћа која могу да снизе постпрандијалну хипергликемију тако што утичу на спречавање хидролизе угљених хидрата, па тако и производи од воћа попут воћних вина, показују исту биолошку активност (Hossain et al., 2008). Главни ефекат инхибитора α -глукозидазе огледа се у смањењу преласка глукозе, из сложених угљених хидрата исхраном унетих, у крвоток, чиме се снижава постпрандијални утицај скроба на ниво глукозе у крви, што може да буде узрок за развој дијабетеса (Bolen et al., 2007).

5.4.1. Воћна вина

Лиофилизоване узорци воћних вина која су произведени у оквиру експеримента 1 и 2 су испитани као инхибитори ензима α -глукозидазе. Сви узорци, у оба експеримента, су показали различиту способност инхибиције.

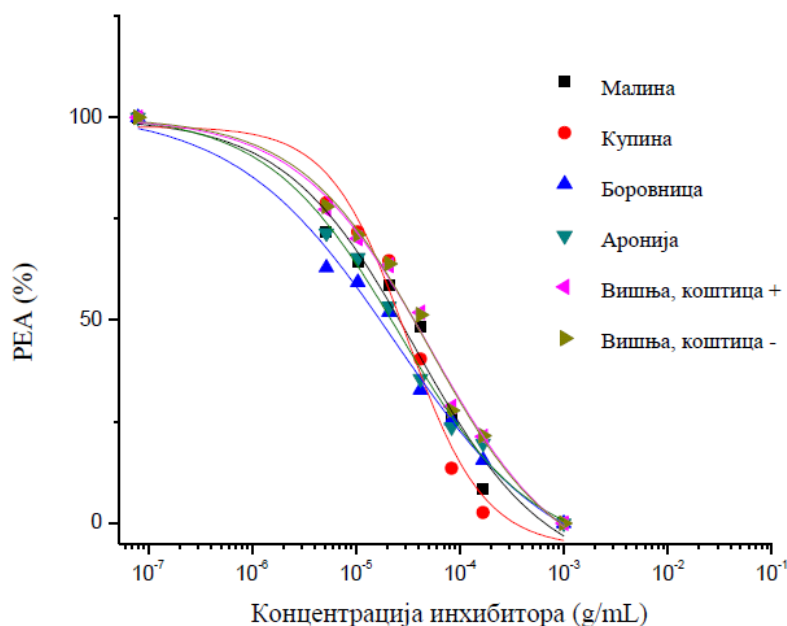
У оквиру експеримента 1 зависност релативне ензимске активности (РЕА) изражене у процентима у односу на садржај сваког лиофилизованог узорка вина, приказана је сигмоидалном кривом. Сигмоидалном кривом је добијена вредност IC_{50} која представља концентрацију анализираних узорка вина, који доводи до 50% инхибиције ензимске активности (Табела 44; Слике 19 и 20).

Добијене вредности IC_{50} за узорке воћних вина у експерименту 1 указују да је њихова инхибиторна активност према α -глукозидази значајна. Узорци вина од боровнице (са и без додатка шећера) су се истакли као најбољи инхибитори, док су најслабији инхибитори били узорци вина од вишње са коштицом (са и без додатка шећера) и малине (са и без додатка шећера). Овако добијени резултати који истичу веома добру активност боровнице и слабију малине у сагласности су са литературним подацима (Johnson et al., 2011; McDougall et al., 2005). Студија норвешких аутора (Wangensteen et al., 2014), подржава добијене резултате за анти α -глукозидазну активност вина од ароније. Наиме, у овој студији примећена је јака инхибиторна активност метанолних и етанолних екстраката ароније у поређењу са акарбозом као стандардом. Друга студија истиче да се водени и етанолни екстракти купине могу користити у исхрани и на тај начин доводе до превенције постпрандијалне хипергликемије. Ови екстракти су, такође, показали и значајнију анти α -глукозидазну активност што је у сагласности са резултатима за вино од купине (Sarkar et al., 2016). Такође, поред овог воћа, исту активност су показали метанолни и ацетонски екстракти малине (Zhang et al., 2010). Веома је битно истаћи да су екстракти малине показали знатно већу инхибицију према α -глукозидази него према α -амилази. Пољски аутори (Nowicka et al., 2016) су истакли *in vitro* анти α -глукозидазну активност сока од вишње. Управо разлика између анти α -глукозидазне активност воћа се може објаснити употребом различитих сорти, али и услова гајења.

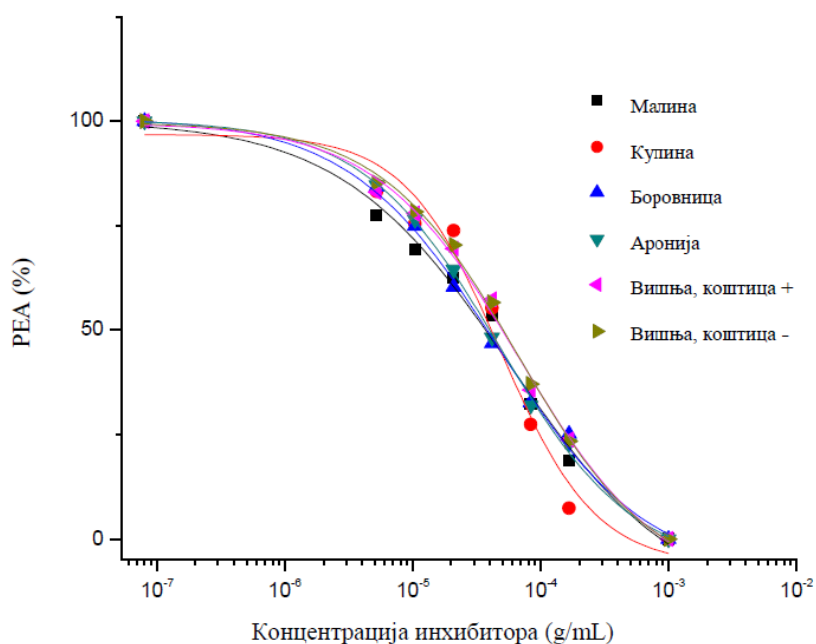
Табела 44. Вредности IC_{50} и принос након лиофилизације за узорке воћних вина (експеримент 1).

Врста воћа	Врста винификације	IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)	Принос након лиофилизације (%)
Боровница	– шећер	46,32±3,17	2,89
Боровница	+ шећер	24,17±1,36 ^{a*}	3,23
Аронија	– шећер	46,95±3,81	3,84
Аронија	+ шећер	26,37±2,15 ^{a*}	3,58
Купина	– шећер	48,18±2,83	1,68
Купина	+ шећер	30,84±2,27 ^{a*}	1,12
Малина	– шећер	56,93±5,17	1,48
Малина	+ шећер	37,25±2,85 ^{a*}	2,80
Вишња	– шећер – коштица	65,62±5,93	3,38
Вишња	+ шећер – коштица	49,36±3,47 ^{a*}	4,82
Вишња	– шећер + коштица	67,15±5,91	4,08
Вишња	+ шећер + коштица	52,17±2,37 ^{a*}	4,07

Вредност IC_{50} за акарбозу 77,85±5,77 $\mu\text{g/mL}$, ^a-статистички значајна разлика у односу на вино без додатка шећера, * $p < 0,01$. – без ; + са



Слика 19. Анти α -глюкозидазна активност узорка воћних вина произведених са додатком шећера пре почетка врења (експеримент 1). – без ; + са



Слика 20. Анти α -глюкозидазна активност узорка воћних вина произведених без додатка шећера пре почетка врења (експеримент 1). – без ; + са

Свакако је потребно истаћи да воћна вина произведена микровинификацијом како је описано у експерименту 1, раније нису била никада испитивана као инхибитори α -глюкозидазе.

Тестом упарених узорка ($p < 0,01$) показана је статистичка значајност за вредности IC_{50} узорка воћних вина произведених са и без додатка шећера у воћни кљук пре почетка врења. Наиме узорци воћних вина произведени са додатком шећера пре почетка врења, показали су вишу анти α -глюкозидазну активност у односу на оне где није додаван шећер (Сакар et al., 2017). Разлог је ниво етанола који доприноси ефикаснијој екстракцији биоактивних принципа. Битно је поменути да висока антиоксидативна активност и садржај полифенолних једињења у воћним винима зависе од поступка микровинификације и воћа од кога се производи (Џакар et al., 2016; Џакар et al., 2018a). Природна једињења одговорна за анти α -глюкозидазну активност налазе се искључиво у чврстим деловима воћа као што је на

пример, покожица боровнице. Управо њихова екстракција представља важан корак у повећању позитивних здравствених ефеката производа од воћа као што је воћно вино (Wang et al., 2012).

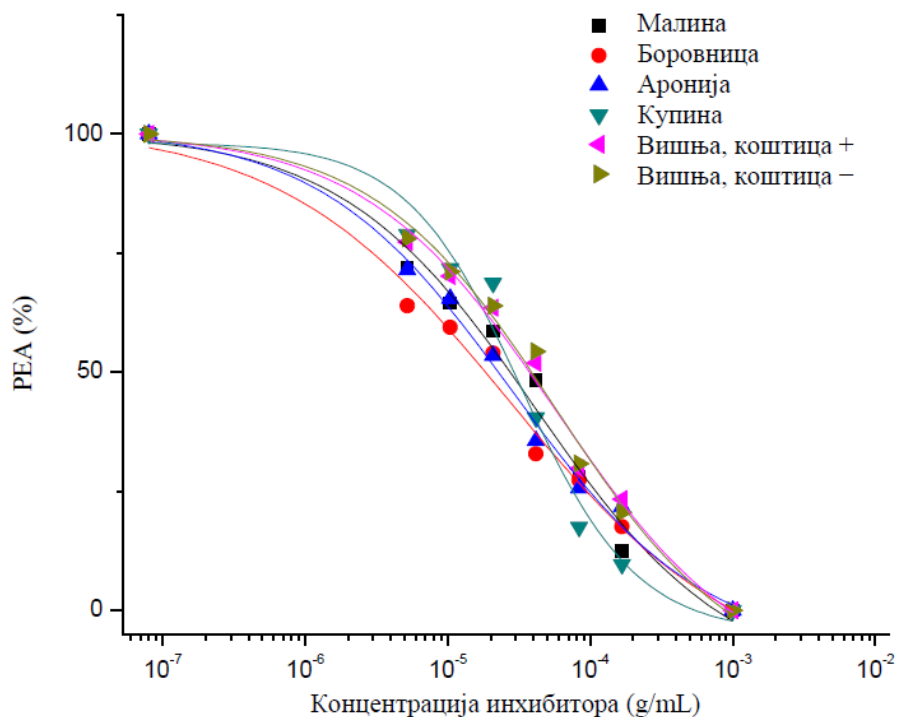
У оквиру експеримента 2 зависност релативне ензимске активности (РЕА) изражене у процентима у односу на садржај сваког лиофилизованог узорка вина је, такође, приказана сигмоидалном кривом. Вредности IC_{50} добијене из сигмоидалних кривих за узорке воћних вина показали су значајну анти α -глукозидазну активност (Табела 45; Сликe 21–24). Узорци вина од боровнице и ароније (са и без шећера) били су најактивнији. Вина од вишње и малине без шећера и ензима показала су најнижу активност. Дати резултати су у доброј сагласности са студијом фокусираном на ацетонске екстракте боровнице и малине (McDougall et al., 2005). Добијени резултати за вино од ароније су у складу са студијом из Норвешке која је проучавала вино од ароније (Wangensteen et al., 2014). Још једна студија на бази водених и етанолних екстраката купине указала је да се они могу користити у свакодневной исхрани и да као такви могу да имају улогу у превенцији и лечењу постпрандијалне хипергликемије (Sarkar et al., 2016). Коначно, метанолни и ацетонски екстракти малине показали су јаку анти α -глукозидазну активност (Zhang et al., 2010).

Узорци воћних вина произведени са додатком шећера и ензима пре почетка врења показали су статистички значјно вишу инхибиторну активност од других узорака ($p < 0,01$). Поред тога, додаток ензима је имао за циљ да повећа садржај полифенолних једињења у крајњем производу, воћном вину (Џакар et al., 2018b). Ипак, тестом упарених узорака није

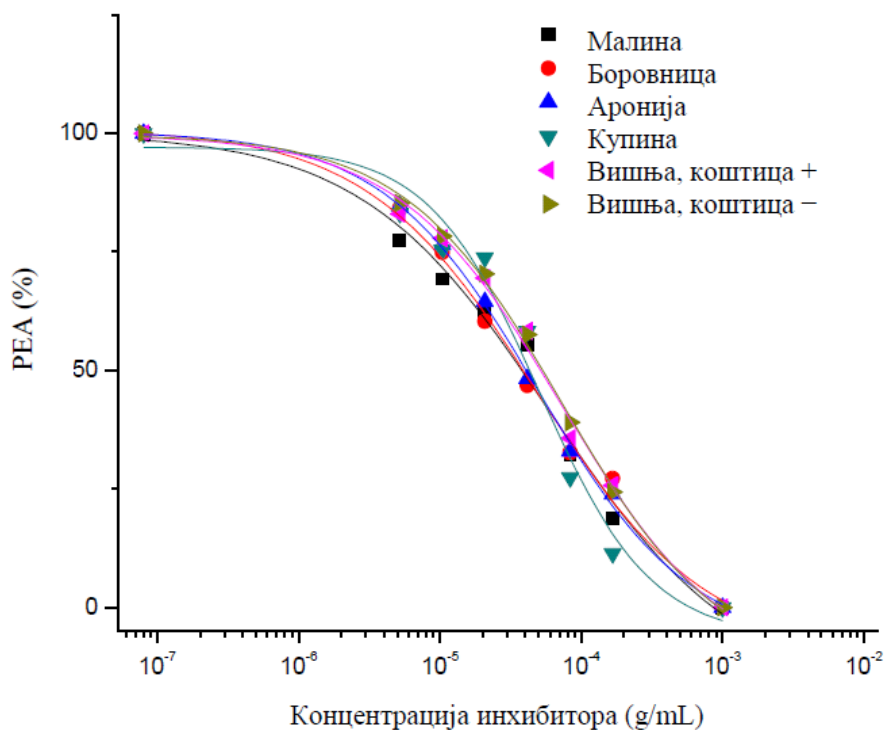
Табела 45. Вредности IC_{50} за узорке воћних вина и принос након лиофилизације (експеримент 2).

Врста воћа	Врста винификације	Квасац Lievito Secco		Квасац ICV D254	
		IC_{50} ($\mu\text{g/ml}$)	Принос након лиофилизације (%)	IC_{50} ($\mu\text{g/ml}$)	Принос након лиофилизације (%)
Аронија	– шећер	49,27±2,43	4,71	50,23±2,18	4,93
	– ензим				
Аронија	+ шећер	28,51±1,77 ^{a*}	4,68	30,31±1,45 ^{a*}	4,81
	+ ензим				
Боровница	– шећер	48,12±1,53	2,67	49,77±2,68	2,41
	– ензим				
Боровница	+ шећер	27,51±1,72 ^{a*}	2,81	29,45±1,82 ^{a*}	2,51
	+ ензим				
Купина	– шећер	50,47±1,51	2,32	53,45±2,12	2,32
	– ензим				
Купина	+ шећер	33,82±1,35 ^{a*}	1,93	35,83±2,89 ^{a*}	2,14
	+ ензим				
Малина	– шећер	60,82±1,58	2,43	59,17±2,45	2,75
	– ензим				
Малина	+ шећер	41,45±1,98 ^{a*}	2,81	43,58±1,23 ^{a*}	2,78
	+ ензим				
Вишња	– шећер	73,47±1,32	2,73	71,58±2,51	2,71
	– ензим/ – коштица				
Вишња	+ шећер	57,67±2,82 ^{b*}	2,77	55,47±2,41 ^{b*}	2,92
	+ ензим/ – коштица				
Вишња	– шећер	72,43±1,67	2,62	71,83±2,31	3,03
	– ензим/ +коштица				
Вишња	+ шећер	57,77±2,83 ^{c*}	2,81	58,51±2,43 ^{c*}	3,08
	+ ензим/ +коштица				

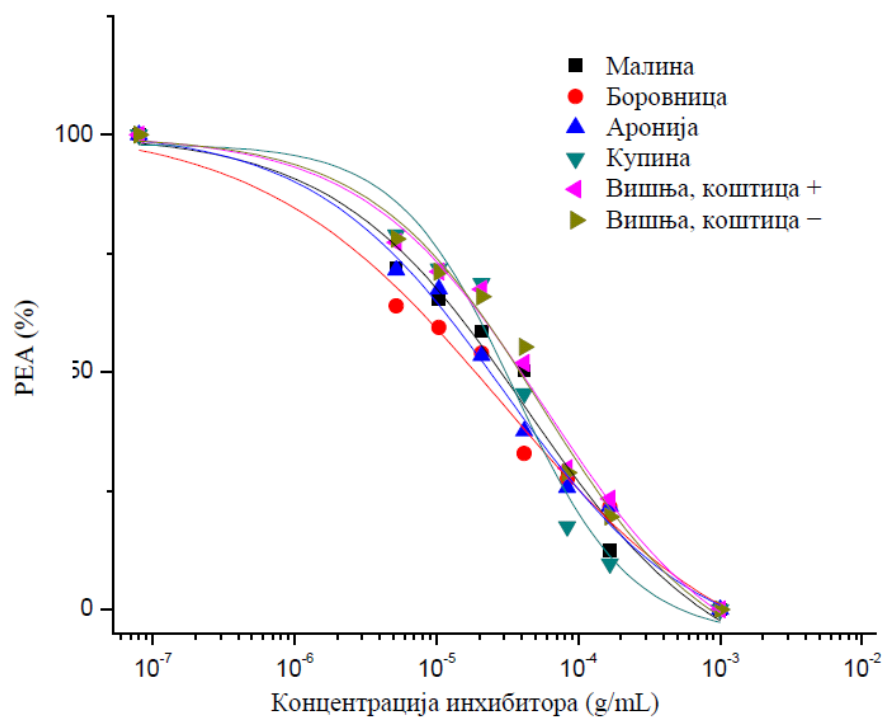
Вредност IC_{50} за акарбозу износила је 77,85±5,77 $\mu\text{g/mL}$, ^a- статистички значајна разлика у односу на вино без додатка шећера и ензима, ^b- статистички значајна разлика у односу на вино без додатка шећера, ензима и коштице, ^c- статистички значајна разлика у односу на вино без додатка шећера и ензима са коштицом, * $p < 0,01$



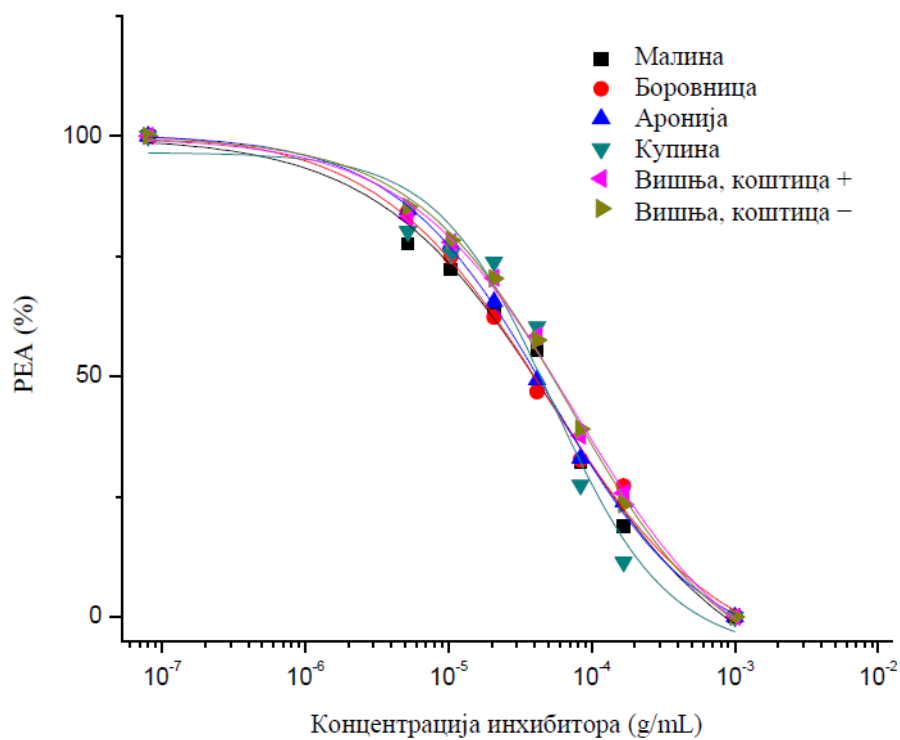
Слика 21. Анти α -глюкозидазна активност узорака воћних вина произведених са додатком шећера и ензима пре почетка врења (квасац *Lievito Secco*, експеримент 2). – без ; + са



Слика 22. Анти α -глюкозидазна активност узорака воћних вина произведених без додатка шећера и ензима пре почетка врења (квасац *Lievito Secco*, експеримент 2). – без ; + са



Слика 23. Анти α -глюкозидазна активност узорака воћних вина произведених са додатком шећера и ензима пре почетка врења (квасац ICV D254, експеримент 2). – без ; + са



Слика 24. Анти α -глюкозидазна активност узорака воћних вина произведених без додатка шећера и ензима пре почетка врења (квасац ICV D254, експеримент 2). – без ; + са

показана статистичка значајност ($p \geq 0,05$) за вредности IC_{50} узорака воћних вина произведених помоћу различитих квасаца (Lievito Secco и ICV D254). Једињења одговорна за анти α -глукозидазну активност углавном су распоређена у чврстим деловима воћа као што је покожица боровнице и другог бобичастог воћа (Johnson et al., 2011; McDougall et al., 2005; Wangensteen et al., 2014). Управо њихова успешна екстракција представља важан корак у повећању здравствене вредности воћних вина (Wang et al., 2012). Ова једињења морају прећи у вино, јер се остатак, чврсти део воћа, након завршетка врења и екстракције одбацује. У оба експеримента (1 и 2) коришћени су лиофилизати вина, уместо самих вина, због интерференција растварача - етанола на методу примењену за одређивање анти α -глукозидазне активности. У сваком случају, 12% раствор етанола (концентрација присутна у узорцима воћних вина) није показао анти α -глукозидазну активност.

Као код лиофилизованих узорака и за изабране стандарде полифенолних једињења добијена је зависност РЕА (изражена у процентима), у односу на њихову концентрацију која је представљена сигмоидалним кривама. Добијене су инхибиторне криве стандарда полифенолних једињења (Слика 25). Параметри инхибиције одабраних једињења (Табела 46) добијени су коришћењем Хилове анализе инхибиционих кривих (Слика 26), према једначини линеаризације криве (1) (Prinz, 2010):

$$\log \left(\frac{REA}{100 - REA} \right) = -n \log [I] + n \log IC_{50} \quad (1)$$

где [I] представља концентрацију полифенолног једињења, док је n Хилов коефицијент кооперативности. Хилов коефицијент показује степен интеракције између лиганда и везујућих места, дати коефицијент заправо описује кооперативност везивања лиганда.

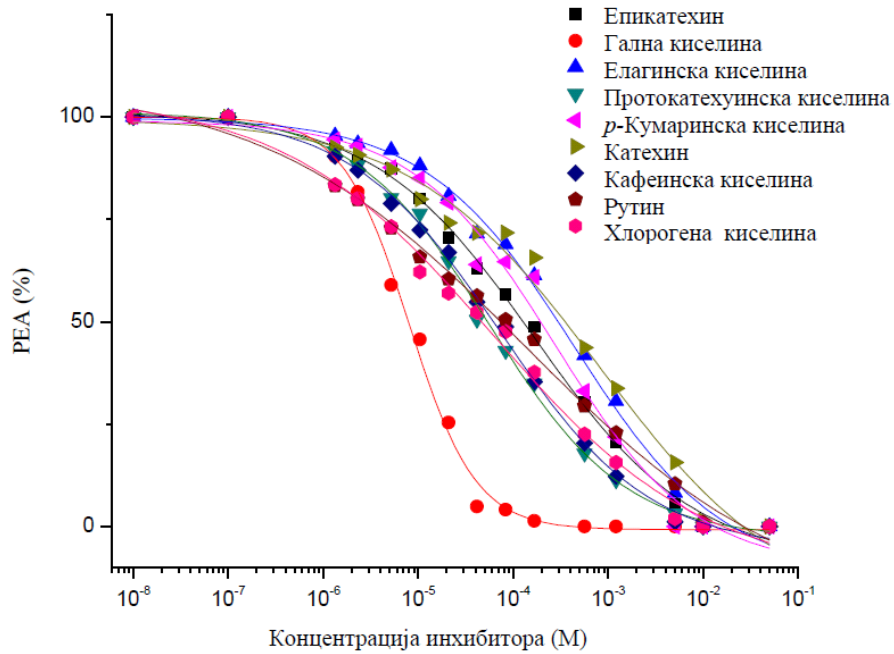
Одабрана су иста полфенолна једињења у оквиру експеримента (1 и 2) која су показала различите анти α -глукозидазне активности (Табела 46). Највиша инхибиторна активност уочена је за елагинску киселину ($7,98 \times 10^{-6}$ М), хлорогену киселину ($4,83 \times 10^{-5}$ М) и катехин ($5,63 \times 10^{-5}$ М), док су рутин и *p*-кумаринска киселина показали нешто ниже инхибиторне активности. Вредности за Хилов коефицијент (n) за већину анализираних полифенолних једињења биле су испод 1 ($n < 1$) што је указало на негативно кооперативно везивање за ензим. Насупрот томе вредност за Хилов коефицијент за елагинску киселину $n = 1,26$ ($n > 1$) указала је на позитивно кооперативно везивање. Управо оваква кооперативност повећава афинитет других везујућих места код једињења која показују инхибиторну способност.

Табела 46. Анти α -глукозидазна активност стандарда одабраних полифенолних једињења: вредности IC_{50} и Хилов коефицијент.

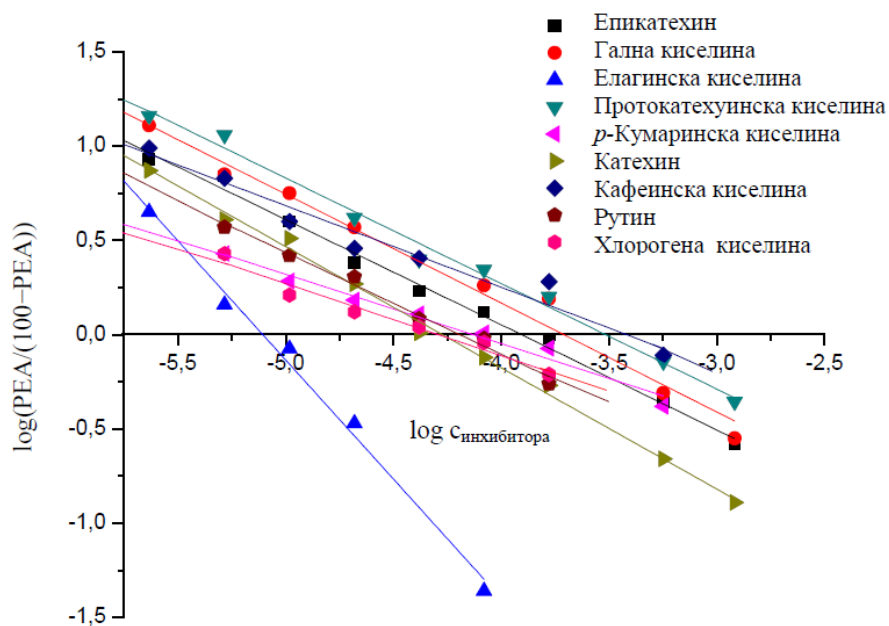
Једињење	IC_{50} (M)		n вредност	p вредност
	Сигмоидна анализа	Хилова анализа		
Епикатехин	$(1,65 \pm 0,23) \times 10^{-4}$	$(1,23 \pm 0,04) \times 10^{-4}$	$0,56 \pm 0,02$	$0,52 \pm 0,03$
Протокатехуинска киселина	$(2,89 \pm 0,21) \times 10^{-4}$	$(2,97 \pm 0,07) \times 10^{-4}$	$0,57 \pm 0,03$	$0,56 \pm 0,05$
Катехин	$(5,63 \pm 0,45) \times 10^{-5}$	$(5,32 \pm 0,23) \times 10^{-5}$	$0,64 \pm 0,04$	$0,61 \pm 0,03$
Гална киселина	$(2,03 \pm 0,16) \times 10^{-4}$	$(2,28 \pm 0,12) \times 10^{-4}$	$0,58 \pm 0,02$	$0,59 \pm 0,04$
Хлорогена киселина	$(4,83 \pm 0,38) \times 10^{-5}$	$(5,04 \pm 0,17) \times 10^{-5}$	$0,43 \pm 0,02$	$0,40 \pm 0,03$
Кафеинска киселина	$(3,47 \pm 0,31) \times 10^{-4}$	$(3,74 \pm 0,14) \times 10^{-4}$	$0,43 \pm 0,03$	$0,44 \pm 0,03$
<i>p</i> -Кумаринска киселина	$(7,56 \pm 0,61) \times 10^{-5}$	$(7,33 \pm 0,29) \times 10^{-5}$	$0,36 \pm 0,01$	$0,31 \pm 0,02$
Рутин	$(6,10 \pm 0,55) \times 10^{-5}$	$(6,36 \pm 0,17) \times 10^{-5}$	$0,54 \pm 0,03$	$0,55 \pm 0,03$
Елагинска киселина	$(7,98 \pm 0,53) \times 10^{-6}$	$(7,77 \pm 0,28) \times 10^{-6}$	$1,26 \pm 0,06$	$1,23 \pm 0,08$

n - Хилов коефицијент, p - параметар сигмоидалне криве

Досадашњи литературни подаци истакли су високу анти α -глюкозидазну активност кверцетина и кемпферола (Eid and Haddad, 2017; Tadera et al., 2006; Masayoshi et al., 1984). Неке фенолне киселине укључујући кафеинску, протокатехуинску и галну, такође, имају способност да инхибирају дати ензим (Kwon et al., 2006).



Слика 25. Анти α -глюкозидазна активност одабраних стандарда полифенолних једињења (експеримент 1 и 2).



Слика 26. Хилова анализа, крива за анти α -глюкозидазну активност одабраних стандарда полифенолних једињења (експеримент 1 и 2).

5.4.2. Допринос појединачних полифенолних једињења вредностима IC₅₀ узорака

Квантитативна анализа вина од бобичастог воћа и вишње произведених у експерименту 1, као и принос након лиофилизације ових вина (**Табела 44**) су искоришћени да би се одредила заступљеност изабраног полифенолног једињења у узорку. Концентрација изабраног полифенолног једињења у количини узорка воћног вина која смањује активност α -глукозидазе за 50% је коришћена као параметар да се одреди допринос ових једињења вредностима IC₅₀ анализираних узорака воћних вина произведених са (**Табела 47**) и без (**Табела 48**) додатка шећера пре почетка врења.

Анти α -глукозидазној активности узорака вина од боровнице значајно су допринеле хлорогена, кафеинска и *p*-кумаринска киселина. Међу дериватима хидроксибензоове киселине посебно су се издвојиле протокатехуинска (1,81 – 2,10%) и гална киселина (2,10 – 2,73%). У случају вина од ароније хлорогена (12,69 – 16,75%) и кафеинска киселина (3,37 – 3,43%) највише су доприносиле поменутој активности. Гална (1,41 – 1,81%) и протокатехуинска киселина (1,47 – 3,10%), међутим, мање су утицале на активност истакнутих узорака воћних вина. Наведени резултати у сагласности су са литературним подацима који истичу хипогликемијску активност хлорогене и кафеинске киселине (Hemmerle et al., 1997; Kwon et al., 2008). За разлику од претходно поменутих узорака елагинска киселина је највише допринела вредностима IC₅₀ вина од купине, како оних са (16,69%), тако и без (16,52%) додатка шећера. Потребно је истаћи хидроксибензоове киселине, конкретно галну и протокатехуинску (2,10 – 6,15%), али и епикатехин (3,32 – 3,81%). Код вина од малине епикатехин, гална и елагинска киселина (2,27 – 5,11%) предњачиле су у доприносу у инхибиторној активности. Досадашњи литературни подаци истичу да гална киселина поседује могућност да инхибира активност α -глукозидазе (Oboh et al., 2016). Код вина од вишње са и без коштице, истакао се садржај хлорогене киселине (13,96 – 18,31%) и епикатехина (3,81 – 4,86%). За разлику од других воћних вина, катехин је имао утицаја на анти α -глукозидазну активност воћних вина вишње (0,88 – 1,45%).

Квантитативна анализа вина од бобичастог воћа и вишње произведених у експерименту 2, као и принос након лиофилизације ових вина (**Табела 45**) искоришћени су да би се одредила концентрација одабраног полифенолног једињења у узорцима вина произведеним одабраним квасцима (**Табела 49 и 50**). За разлику од елагинске киселине, хлорогена и кафеинска киселина значајно су доприносиле инхибиторној активности узорака вина од боровнице. Од деривата хидроксибензоове киселине, протокатехуинска и гална киселина биле су најактивније. Хлорогена киселина је највише допринела инхибиторној активности вина од ароније, заједно са протокатехуинском киселином. Са друге стране кафеинска и гална киселина мање су доприносиле активности датих узорака вина. Претходне тврдње су у доброј сагласности са литературним подацима који истичу хипогликемијски ефекат хлорогене и кафеинске киселине (Hemmerle et al., 1997; Kwon et al., 2008). Протокатехуинска киселина највише је доприносила вредностима IC₅₀ вина од купине у експерименту 2, како онима са додатком, тако и узорцима без додатка шећера. Гална и елагинска киселина, такође, су дале значајан допринос. У сваком случају кафеинска, гална и протокатехуинска киселина су доприносиле анти α -глукозидазној активности узорака вина од малине. Код узорака вина од вишње са и без коштице, хлорогена и кафеинска киселина биле су најактивније. У поређењу са другим узорцима, гална киселина није имала утицаја на биоактивност већине анализираних вина од вишње (**Табела 49 и 50**).

Недостатак доприноса одређених полифенолних једињења вредностима IC₅₀ испитаних узорака воћних вина може се објаснити њиховом ниском или веома ниском концентрацијом. Такође, битно је истаћи синергистички ефекат свих ових једињења чиме она, на тај начин, доприносе укупној инхибиторној активности према ензиму α -глукозидази. Баш такав случај примећен је и код других биљака (Suraiya et al., 2018). Осим тога, студија усмерена на екстракте ароније истакла је антоцијане (који спадају у полифеноле) као веома битне инхибиторе овог ензима (Bräunlich et al., 2013). Танини су, такође, показали ову биолошку активност (Toda et al., 2001). У већини случајева допринос полифенолних

Табела 47. Концентрације одабраних полифенолних једињења (М) и њихови доприноси (%) вредностима IC₅₀ узорка воћних вина са додатком шећера пре почетка врења (експеримент 1).

Једињење	1		2		3		4		5		6	
	М	%	М	%	М	%	М	%	М	%	М	%
Епикатехин	1,10 ×10 ⁻⁷	1,49	1,72 ×10 ⁻⁸	-	4,98 ×10 ⁻⁷	3,81	3,47 ×10 ⁻⁷	3,04	4,75 ×10 ⁻⁷	3,81	5,57 ×10 ⁻⁷	3,95
Протокатехуинска киселина	2,05 ×10 ⁻⁷	1,81	2,19 ×10 ⁻⁷	1,47	4,48 ×10 ⁻⁷	2,73	0	-	1,89 ×10 ⁻⁷	1,72	1,49 ×10 ⁻⁷	1,35
Катехин	1,16 ×10 ⁻⁸	-	0	-	2,02 ×10 ⁻⁸	-	1,79 ×10 ⁻⁸	-	1,05 ×10 ⁻⁷	0,88	1,13 ×10 ⁻⁷	1,05
Гална киселина	1,40 ×10 ⁻⁷	2,10	1,08 ×10 ⁻⁸	1,41	1,61 ×10 ⁻⁶	6,15	4,35 ×10 ⁻⁷	3,37	0	-	0	-
Хлорогена киселина	1,00 ×10 ⁻⁶	14,26	7,75 ×10 ⁻⁷	12,69	0	-	0	-	1,07 ×10 ⁻⁶	13,96	1,26 ×10 ⁻⁶	15,19
Кафеинска киселина	2,29 ×10 ⁻⁷	3,66	1,34 ×10 ⁻⁷	3,37	5,82 ×10 ⁻⁸	2,44	1,65 ×10 ⁻⁸	1,43	2,47 ×10 ⁻⁸	1,47	1,74 ×10 ⁻⁸	1,32
<i>p</i> -Кумаринска киселина	8,38 ×10 ⁻⁸	3,96	6,41 ×10 ⁻⁹	-	0	-	2,49 ×10 ⁻⁸	-	0	-	0	-
Рутин	n.d.	-	4,10 ×10 ⁻⁸	0,54	0	-	0	-	0	-	0	-
Елагинска киселина	4,31 ×10 ⁻⁸	0,70	2,26 ×10 ⁻⁸	0,38	1,27 ×10 ⁻⁶	16,69	1,48 ×10 ⁻⁷	2,27	0	-	0	-

1 - Боровница; 2 - Аронија; 3 - Купина; 4 - Малина; 5 - Вишња без коштице; 6 - Вишња са коштицом. 0 – није присутно једињење у узорку ; - не доприноси инхибицији

Табела 48. Концентрације одабраних полифенолних једињења (М) и њихови доприноси (%) вредностима IC₅₀ узорака воћних вина без додатка шећера пре почетка врења (експеримент 1).

Једињење	1		2		3		4		5		6	
	М	%	М	%	М	%	М	%	М	%	М	%
Епикатехин	1,53 ×10 ⁻⁷	1,74	2,75 ×10 ⁻⁸	-	3,51 ×10 ⁻⁷	3,32	7,34 ×10 ⁻⁷	5,11	7,46 ×10 ⁻⁷	4,86	6,50 ×10 ⁻⁷	4,75
Протокатехуинска киселина	3,10 ×10 ⁻⁷	2,10	3,62 ×10 ⁻⁷	3,10	3,22 ×10 ⁻⁷	2,10	0	-	2,21 ×10 ⁻⁷	1,81	1,61 ×10 ⁻⁷	1,47
Катехин	9,59 ×10 ⁻⁹	-	0	-	1,82 ×10 ⁻⁸	-	4,52 ×10 ⁻⁸	-	1,58 ×10 ⁻⁷	1,45	1,27 ×10 ⁻⁷	1,17
Гална киселина	1,88 ×10 ⁻⁷	2,73	1,38 ×10 ⁻⁸	1,81	1,55 ×10 ⁻⁶	5,86	8,64 ×10 ⁻⁷	4,30	0	-	0	-
Хлорогена киселина	1,77 ×10 ⁻⁶	18,31	1,45 ×10 ⁻⁶	16,75	0	-	0	-	1,89 ×10 ⁻⁶	18,31	1,58 ×10 ⁻⁶	17,04
Кафеинска киселина	3,50 ×10 ⁻⁷	4,30	1,85 ×10 ⁻⁷	3,43	3,74 ×10 ⁻⁸	1,81	3,80 ×10 ⁻⁸	2,10	2,55 ×10 ⁻⁸	1,81	1,86 ×10 ⁻⁸	1,35
<i>p</i> -Кумаринска киселина	9,61 ×10 ⁻⁸	4,15	1,14 ×10 ⁻⁸	-	0	-	0	-	0	-	0	-
Рутин	0	-	6,68 ×10 ⁻⁸	0,88	0	-	0	-	0	-	0.	-
Елагинска киселина	5,06 ×10 ⁻⁸	0,81	3,42 ×10 ⁻⁸	0,56	1,26 ×10 ⁻⁶	16,52	2,77 ×10 ⁻⁷	4,16	0	-	0	-

1 - Боровница; 2- Аронија; 3- Купина; 4- Малина; 5- Вишња без коштице; 6- Випња са коштицом. 0 – није присутно једињење у узорку ; - не доприноси инхибицији

једињења није нарочито висок, али ипак постоји (Табела 49 и 50) (Kwon et al., 2008; Rodrigo et al., 2014). Без даљњег, природа намирнице, такође, утиче на анти α -глюкозидазну активност, па тако примера ради протеини могу да реагују са полифенолима и да тако сниже анти α -глюкозидазну активност (Lavelli et al., 2016). Водоничне везе и хидрофобне интеракције између полифенола и протеина доводе до тога да се стварају растворна и нерастворна једињења (Granato et al., 2010; Zhao et al., 2013). Заправо, при *in vitro* симулацији услова у гастро-интестиналном тракту дошло је до ослобађања полифенола из ових комплекса (Oliveira and Pintado, 2015).

Наиме, док су неки од деривата хидроксициметне киселине (хлорогена и кафеинска) значајно доприносили ензимској инхибицији, друга једињења из исте групе била су мање активна. Управо ова природна једињења добро су позната по свом позитивном здравственом утицају на људски организам, при чему се посебно истичу антидијабетички и хепатопротективни ефекти (Liu et al., 2000). Друга студија истакла је њихову добру инхибиторну активност према α -глюкозидази (Adisakwattana et al., 2004). Деривати хидроксициметне киселине могу се користити заједно са акарбозом и другим инхибиторима у контроли (регулацији) хипергликемије, уколико додатне студије потврде успешност оваквог приступа. Наиме дневни унос ових једињења може значајно да утиче на снижавање постпрандијалне хипергликемије и превенцију дијабетес мелитуса (Adisakwattana et al., 2009). Оваква сазнања значајно охрабрују баш као и чињенице везане за унос флавоноида. Дневно, може се унети до 1g полифенола што зависи од типа исхране. Просечан дневни унос полифенолних једињења, посебно флавоноида је, међутим, различит широм света. Тако је дневни унос 23 mg у Холандији, 55,2 mg у Финској, 28,00 mg у Данској, а чак 70,50 mg у Бразилу (Arabbi et al., 2004; Adisakwattana et al., 2009; Hertog et al., 1992a; Hertog et al., 1993b). Просечан дневни унос полифенола у Француској је око 1,2 g дневно (40% флавоноиди, 60% фенолне киселине) и мало је виши у односу на податке из Шпаније који износе 0,82 g дневно (Zamora-Ros et al., 2016). Познато је да обе популације у свакодневној исхрани користе сокове, вино, чај и кафу. Јасно различите навике у исхрани, као и култура живљења, утичу на мање и веће присуство полифенола у исхрани. Све у свему, храна биљног порекла представља веома добар извор природних једињења, која показују добру анти α -глюкозидазну активност праћену веома малим нежељеним ефектима (Benalla et al., 2010).

Табела 49. Концентрације одабраних полифенолних једињења (М) и њихови доприноси (%) вредностима IC₅₀ узорака воћних вина произведених са квасцем Lievito Secco (експеримент 2).

Врста воћа	Врста винификације	Епикатехин		Протокатехуинска киселина		Катехин		Гална киселина		Хлорогена киселина		Кафеинска киселина		p-Кумаринска киселина		Елагинска киселина	
		М	%	М	%	М	%	М	%	М	%	М	%	М	%	М	%
Аронија	- шећер	3,52		4,25	7,71	8,44		3,74	1,47	2,16	18,91	6,73	5,67	2,60	-	5,40	-
	- ензим	×10 ⁻⁹	-	×10 ⁻⁶		×10 ⁻⁹	-	×10 ⁻⁸		×10 ⁻⁶		×10 ⁻⁷		×10 ⁻⁸		×10 ⁻⁸	
Аронија	+ шећер	6,52		4,78	8,35	2,48		7,73	1,81	2,32	19,57	9,01	6,15	7,33	2,87	9,37	-
	+ ензим	×10 ⁻⁹	-	×10 ⁻⁶		×10 ⁻⁸	-	×10 ⁻⁸		×10 ⁻⁶		×10 ⁻⁷		×10 ⁻⁸		×10 ⁻⁸	
Боровница	- шећер	2,40	2,51	8,84	1,17	1,90	2,10	5,43	3,37	3,64	21,92	9,39	6,38	1,97	-	1,43	1,37
	- ензим	×10 ⁻⁷		×10 ⁻⁷		×10 ⁻⁷		×10 ⁻⁷		×10 ⁻⁶		×10 ⁻⁷		×10 ⁻⁸		×10 ⁻⁷	
Боровница	+ шећер	2,03	2,02	7,47	1,05	1,52	1,87	4,09	3,19	2,26	19,02	6,74	5,67	2,38	-	1,28	1,15
	+ ензим	×10 ⁻⁷		×10 ⁻⁷		×10 ⁻⁷		×10 ⁻⁷		×10 ⁻⁶		×10 ⁻⁷		×10 ⁻⁸		×10 ⁻⁷	
Купина	- шећер	5,77		2,86	6,45	1,26	1,45	1,64	5,86	3,21	-	2,90	1,17	1,92	-	4,93	3,30
	- ензим	×10 ⁻⁹	-	×10 ⁻⁶		×10 ⁻⁷		×10 ⁻⁶		×10 ⁻⁸		×10 ⁻⁸		×10 ⁻⁸		×10 ⁻⁷	
Купина	+ шећер	1,52		2,77	6,27	1,62	1,91	1,94	6,15	3,96	1,03	6,11	1,37	3,18	1,03	5,07	3,32
	+ ензим	×10 ⁻⁸	-	×10 ⁻⁶		×10 ⁻⁷		×10 ⁻⁶		×10 ⁻⁸		×10 ⁻⁸		×10 ⁻⁸		×10 ⁻⁷	
Малина	- шећер	9,52		1,24	3,96	1,49	1,85	1,89	6,11	7,97	-	1,71	1,63	2,64	-	2,34	2,31
	- ензим	×10 ⁻⁹	-	×10 ⁻⁶		×10 ⁻⁷		×10 ⁻⁶		×10 ⁻⁹		×10 ⁻⁷		×10 ⁻⁸		×10 ⁻⁷	
Малина	+ шећер	9,52		9,91	1,48	1,53	1,87	1,44	4,93	1,58	-	2,11	3,76	5,06	2,44	2,31	2,30
	+ ензим	×10 ⁻⁹	-	×10 ⁻⁷		×10 ⁻⁷		×10 ⁻⁶		×10 ⁻⁸		×10 ⁻⁷		×10 ⁻⁸		×10 ⁻⁷	
Вишња	- шећер	1,47	1,57	2,75	6,15	2,81	3,03	8,55	-	5,16	29,35	1,42	7,67	3,81	1,23	0	-
	- ензим	×10 ⁻⁷		×10 ⁻⁶		×10 ⁻⁷		×10 ⁻⁹		×10 ⁻⁶		×10 ⁻⁶		×10 ⁻⁸			
Вишња	+ шећер	2,60	2,60	2,68	6,03	3,31	3,27	1,58	1,12	4,52	27,21	1,51	7,87	7,60	3,35	0	-
	+ ензим	×10 ⁻⁷		×10 ⁻⁶		×10 ⁻⁷		×10 ⁻⁸		×10 ⁻⁶		×10 ⁻⁶		×10 ⁻⁸			
Вишња	- шећер	1,65	1,74	2,95	6,57	3,12	3,11	1,15	-	5,46	31,27	1,52	7,90	4,85	2,32	0	-
	- ензим	×10 ⁻⁷		×10 ⁻⁶		×10 ⁻⁷		×10 ⁻⁸		×10 ⁻⁶		×10 ⁻⁶		×10 ⁻⁸			
Вишња	+ коштица																
	+ шећер	2,47	2,55	2,50	5,52	3,31	3,27	1,17	-	4,18	25,25	1,41	7,65	7,19	2,92	0	-
	+ ензим	×10 ⁻⁷		×10 ⁻⁶		×10 ⁻⁷		×10 ⁻⁸		×10 ⁻⁶		×10 ⁻⁶		×10 ⁻⁸			
	+ коштица																

0 – није присутно једињење у узорку ; - не доприноси инхибицији

Табела 50. Концентрације одабраних полифенолних једињења (М) и њихови доприноси (%) вредностима IC₅₀ узорака воћних вина произведених са квасцем ICV D254 (експеримент 2).

Врста воћа	Врста винификације	Епикатехин		Протокатехуинска киселина		Катехин		Гална киселина		Хлорогена киселина		Кафеинска киселина		p-Кумаринска киселина		Елагинска киселина	
		М	%	М	%	М	%	М	%	М	%	М	%	М	%	М	%
Аронија	- шећер	3,80		4,21	7,59	1,06		3,90	1,57	2,17	19,05	5,86	5,15	2,02	-	5,57	-
	- ензим	$\times 10^{-9}$	-	$\times 10^{-6}$		$\times 10^{-8}$	-	$\times 10^{-8}$		$\times 10^{-6}$		$\times 10^{-7}$		$\times 10^{-8}$		$\times 10^{-8}$	
Аронија	+ шећер	3,63		2,96	6,55	1,61		5,42	1,68	1,47	16,47	4,28	4,78	4,21	1,81	6,24	-
	+ ензим	$\times 10^{-9}$	-	$\times 10^{-6}$		$\times 10^{-8}$	-	$\times 10^{-8}$		$\times 10^{-6}$		$\times 10^{-7}$		$\times 10^{-8}$		$\times 10^{-8}$	
Боровница	- шећер	2,84	2,79	1,03	3,71	2,24	2,15	5,75	3,51	4,17	25,25	1,08	7,13	2,11	-	1,67	1,43
	- ензим	$\times 10^{-7}$		$\times 10^{-6}$		$\times 10^{-7}$		$\times 10^{-7}$		$\times 10^{-6}$		$\times 10^{-6}$		$\times 10^{-8}$		$\times 10^{-7}$	
Боровница	+ шећер	2,66	2,62	9,07	1,21	1,87	2,07	5,02	3,17	2,70	19,67	8,18	5,97	2,71	-	1,60	1,41
	+ ензим	$\times 10^{-7}$		$\times 10^{-7}$		$\times 10^{-7}$		$\times 10^{-7}$		$\times 10^{-6}$		$\times 10^{-7}$		$\times 10^{-8}$		$\times 10^{-7}$	
Купина	- шећер	4,38		3,12	6,74	1,40	1,83	1,75	5,97	3,10	-	2,88	1,11	1,71	-	5,33	3,61
	- ензим	$\times 10^{-9}$	-	$\times 10^{-6}$		$\times 10^{-7}$		$\times 10^{-6}$		$\times 10^{-8}$		$\times 10^{-8}$		$\times 10^{-8}$		$\times 10^{-7}$	
Купина	+ шећер	1,61		2,79	6,18	1,70	1,93	1,93	6,15	3,63	-	5,65	1,21	2,78	-	5,07	3,32
	+ ензим	$\times 10^{-8}$	-	$\times 10^{-6}$		$\times 10^{-7}$		$\times 10^{-6}$		$\times 10^{-8}$		$\times 10^{-8}$		$\times 10^{-8}$		$\times 10^{-7}$	
Малина	- шећер	1,00		7,03	0,97	8,65		9,97	4,45	3,69	-	1,13	1,47	1,51	-	1,34	-
	- ензим	$\times 10^{-8}$	-	$\times 10^{-7}$		$\times 10^{-8}$	-	$\times 10^{-7}$		$\times 10^{-9}$		$\times 10^{-7}$		$\times 10^{-8}$		$\times 10^{-7}$	
Малина	+ шећер	1,18		1,14	3,72	1,81	2,06	1,64	5,25	1,32	-	2,60	3,91	6,09	2,56	2,65	2,41
	+ ензим	$\times 10^{-8}$	-	$\times 10^{-6}$		$\times 10^{-7}$		$\times 10^{-6}$		$\times 10^{-8}$		$\times 10^{-7}$		$\times 10^{-8}$		$\times 10^{-7}$	
Вишња	- шећер	1,57	1,61	2,76	6,15	2,78	2,98	8,33	-	5,26	29,85	1,44	7,71	4,06	1,55	0	-
	- ензим	$\times 10^{-7}$		$\times 10^{-6}$		$\times 10^{-7}$		$\times 10^{-9}$		$\times 10^{-6}$		$\times 10^{-6}$		$\times 10^{-8}$			
Вишња	+ шећер	2,30	2,47	2,33	5,31	2,95	3,23	1,51	1,07	3,97	23,05	1,34	7,47	7,08	3,07	0	-
	+ ензим	$\times 10^{-7}$		$\times 10^{-6}$		$\times 10^{-7}$		$\times 10^{-8}$		$\times 10^{-6}$		$\times 10^{-6}$		$\times 10^{-8}$			
Вишња	- шећер	1,63	1,73	2,70	6,07	2,82	3,18	1,28	-	5,19	29,37	1,40	7,57	4,72	2,17	0	-
	- ензим	$\times 10^{-7}$		$\times 10^{-6}$		$\times 10^{-7}$		$\times 10^{-8}$		$\times 10^{-6}$		$\times 10^{-6}$		$\times 10^{-8}$			
Вишња	+ шећер	2,25	2,37	2,38	5,38	3,05	3,30	1,64	1,14	4,06	23,17	1,39	7,55	7,35	3,25	0	-
	+ ензим	$\times 10^{-7}$		$\times 10^{-6}$		$\times 10^{-7}$		$\times 10^{-8}$		$\times 10^{-6}$		$\times 10^{-6}$		$\times 10^{-8}$			

0 – није присутно једињење у узорку ; - не доприноси инхибицији

5.4.3. Молекуларна докинг студија

Везујуће енергије одабраних полифенолних једињења биле су различите (**Табела 51**). Добра корелација везујућих енергија и експериментално добијених вредности IC_{50} је примећена за хлорогену киселину (-8,5 kcal/mol, $IC_{50} = 4,83 \times 10^{-5}$ M). Сматра се да једињења са везујућим енергијама нижим од - 6 kcal/mol имају већи афинитет за везивање за ензим. Осим тога резултати добијени за неке од деривата хидроксициметне киселине (кафеинска и *p*-кумаринска) и хидроксибензоеве (гална и протокатехуинска) у доброј су сагласности са литературним подацима. Конкретно у оквиру литературе истакнуте су истоветне вредности везујуће енергије за рутин (Tae Kyung et al. 2014).

Табела 51. Везујуће енергије одабраних полифенолних једињења инхибитора ензима α -глукозидазе.

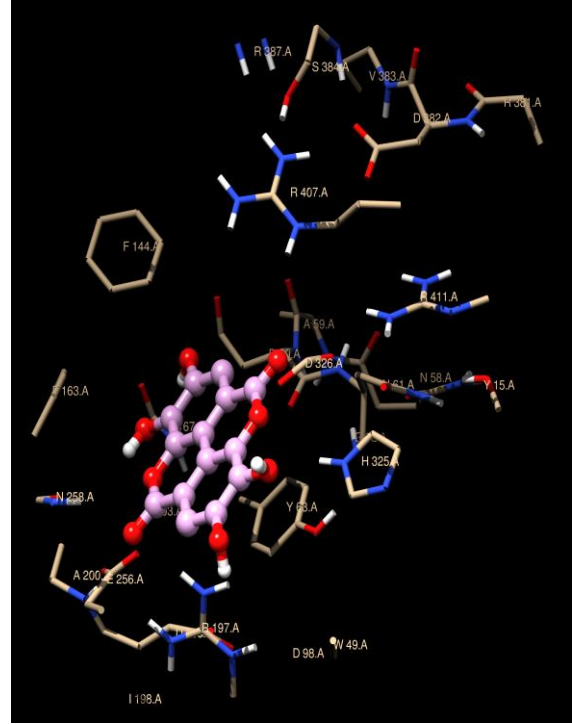
Једињење	Везујућа енергија (kcal/mol)
Рутин	-9,6
Елагинска киселина	-9,1
Хлорогена киселина	-8,5
Епикатехин	-8,3
Катехин	-8,1
<i>p</i> -Кумаринска киселина	-6,8
Кафеинска киселина	-6,8
Гална киселина	-5,7
Протокатехуинска киселина	-5,7
Акарбоза	-9,7

Осим везујућих енергија, потребно је истаћи интеракције са осталим аминокиселинама ензима. Главне интеракције (водоничне везе) укључују следеће остатке аминокиселина: ASP199, ARG407, GLN167, ARG197, HIS325, TYR63 и GLU256. Интеракције између ових аминокиселина и акарбозе, предмет ове докинг студије, у доброј су сагласности са претходно истакнутим литературним подацима (Huang et al., 2008). Важно је истаћи да је планарна структура елагинске киселине (**Слика 27**) одговорна за ниже вредности везујуће енергије што за последицу има бољу инхибицију ензима. Упркос томе што немају потпуно планарну структуру, кверцетин, кемпферол и нарингенин показују значајан степен инхибиције. Са друге стране због присуства ротирајућих веза, хлорогена киселина, епикатехин и катехин (**Слике 28–30**) могу да имају скоро планарну структуру у везујућем цепу.

Најнижа вредност везујуће енергије нађена је за рутин (рутинозид). Рутинозид представља гликозиловани облик кверцетина који у структури садржи дисахарид рутинозу (α -L-рамнопиранозил-(1 \rightarrow 6)- β -D-глукопираноза) (**Слика 31**) који му омогућава да ствара додатне водоничне везе са остацима аминокиселина ензима. Такође су приказане структуре четири фенолне киселине *p*-кумаринске, кафеинске, галне и протокатехуинске које су квантификоване у узорцима воћних вина (**Слике 32–35**).



(1)

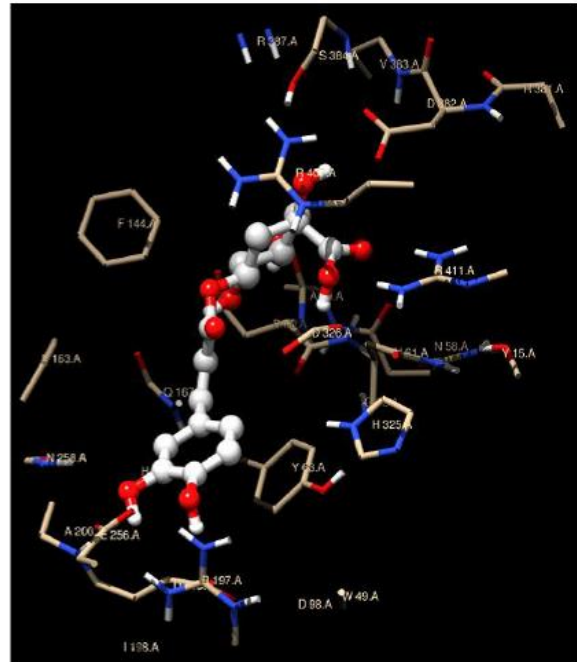


(2)

Слика 27. Везујућа места за акарбозу и елагинску киселину на α -глукозидази (1) и водоничне везе специфичне за елагинску киселину (2).



(1)

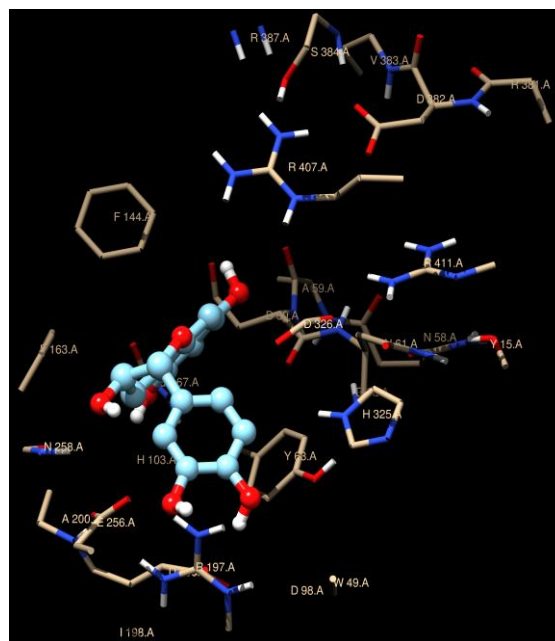


(2)

Слика 28. Везујућа места за акарбозу и хлорогену киселину на α -глукозидази (1) и водоничне везе специфичне за хлорогену киселину (2).



(1)

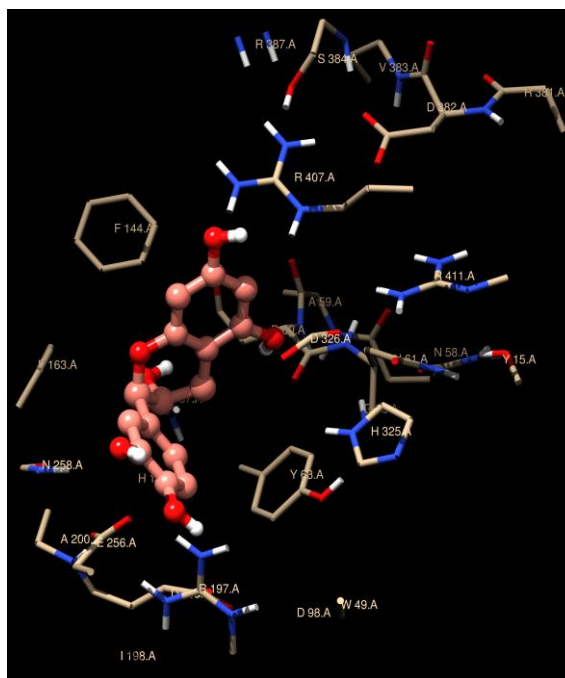


(2)

Слика 29. Везујућа места за акарбозу и епикатехин на α -глукозидази (1) и водоничне везе специфичне за епикатехин (2).



(1)

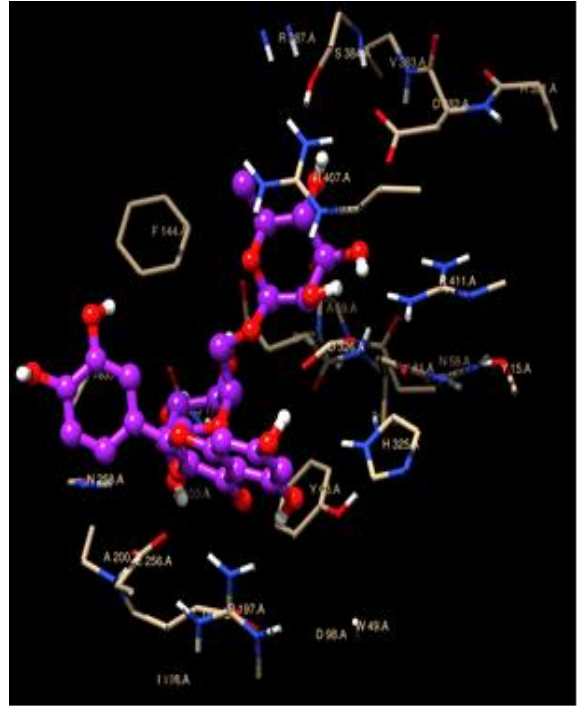


(2)

Слика 30. Везујућа места за акарбозу и катехин на α -глукозидази (1) и водоничне везе специфичне за катехин (2).



(1)

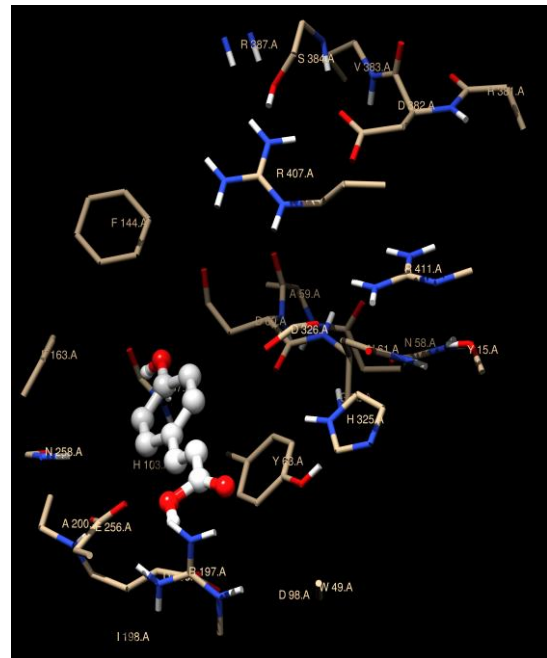


(2)

Слика 31. Везујућа места за акарбозу и рутин на α -глукозидази (1) и водоничне везе специфичне за рутин (2).



(1)

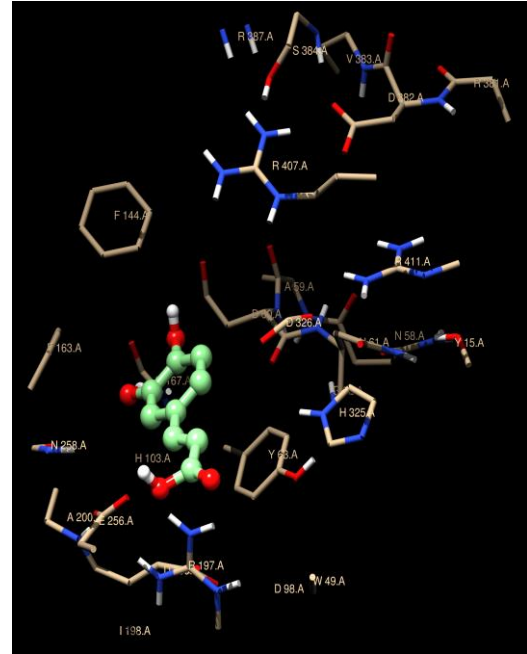


(2)

Слика 32. Везујућа места за акарбозу и *p*-кумаринску киселину на α -глукозидази (1) и водоничне везе специфичне за *p*-кумаринску киселину (2).



(1)

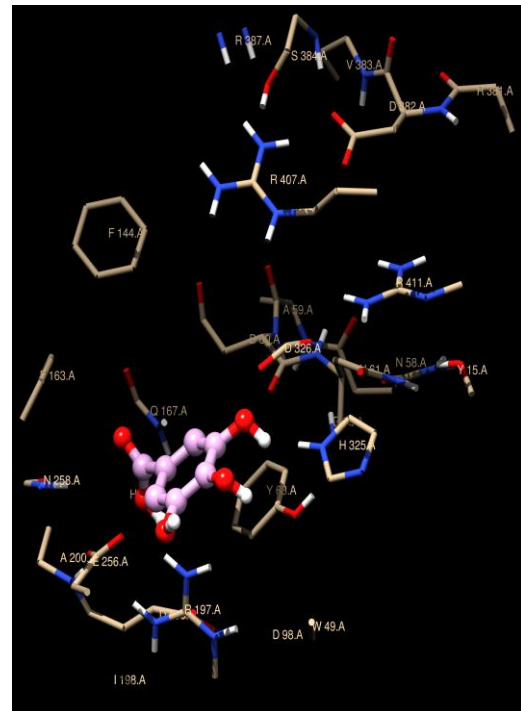


(2)

Слика 33. Везујућа места за акарбозу и кафеинску киселину на α -глукозидази (1) и водоничне везе специфичне за кафеинску киселину (2).



(1)

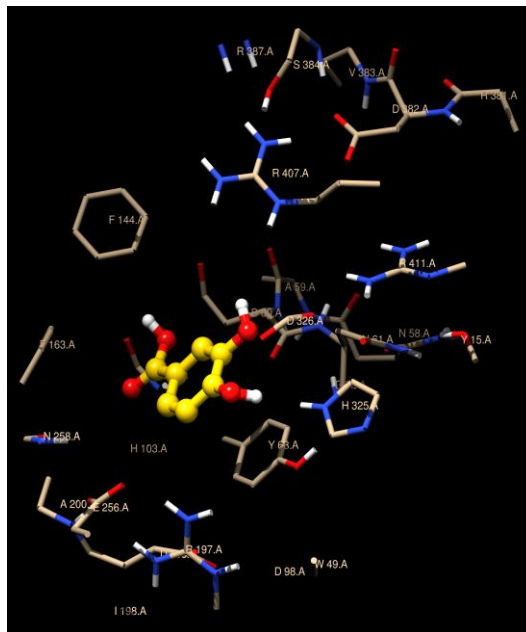


(2)

Слика 34. Везујућа места за акарбозу и галну киселину на α -глукозидази (1) и водоничне везе специфичне за галну киселину (2).



(1)



(2)

Слика 35. Везујућа места за акарбозу и протокатехуинску киселину на α -глукозидази (1) и водоничне везе специфичне за протокатехуинску киселину (2).

5.4.4. Нутритивни значај воћних вина

Поред тога што су извори једињења која показују инхибиторну активност према α -глукозидази, воћна вина су богата и многим другим једињењима која су битна за балансирану исхрану. Нутритивна вредност воћних вина није занемарљива и она је у тесној вези са нутритивном вредношћу самог воћа. Током прераде и сам крајњи производ у овом случају вино, задржава, а у неким случајевима има и већу нутритивну вредност од самог воћа од кога је произведено. Тако се посебно у винима могу истаћи шећери, органске киселине, витамин Ц и наравно полифенолна једињења (Giampieri et al., 2012; Mikulic-Petkovsek et al., 2012).

Висока калоријска вредност вина је резултат садржаја етанола. Постуапак врења доводи до тога да почетне сировине које се прерађују, пролазе кроз низ биохемијских процеса где се састав крајњег производа у овом случају вина разликује у односу на онај почетни. Поступак винфикације и порекло воћа су неки од фактора који утичу на калоријску вредност, у овом случају на садржај етанола. Квасац који се користи доводи до врења шећера који прелазе у алкохоле, где поред њих настају и још нека једињења као што су органске киселине, биогени амини и витамини Б групе.

Посматрајући метаболизам етанола када се унесе вином или било којим другим алкохолним пићем, може се видети да се потпуно апсорбује након 30 минута до 2 сата од уноса. Један од разлога за брз метаболизам етанола је и чињеница да се не вари већ се преко зидова црева апсорбује и чак 95% метаболише у јетри. Управо висока калоријска вредност истиче вино као једну од намирница која представља главни извор енергије код одрасле популације (Fuller et al., 2011). Бобичасто воће, такође, позитивно утиче на когнитивне способности код људи, заједно са смањењем могућности за појаву неуродегенеративних болести (Lamport et al., 2014).

5.5. УТИЦАЈ ВОЋНИХ ВИНА НА ПАРАМЕТРЕ ОКСИДАТИВНОГ СТРЕСА

Слободни радикали се налазе у људском организму и настају услед физиолошких процеса који се свакодневно дешавају. Они имају важну улогу у активирању разних сигналних путева не само код људи (Jabs, 1999). Када се слободни радикали створе у великој количини, могу да доведу до оштећења ћелија и то до промена у структури ДНК, али и до реакција као што је липидна пероксидација и оксидација протеина. На тај начин може да се поспешу развој неких неуродегенеративних оболења као што је Паркинсонова болест, Алцхајмерова болест, мултипла склероза и амиотрофична латерална склероза (Kelsey et al., 2011). Слободни радикали укључени су у различите патолошке процесе као што је развој кардиоваскуларних болести, карцинома, запаљења, неуролошких поремећаја и дијабетеса (Halliwell, 2008). Када дође у опасност, од слободних радикала, организам свакако активира свој одбрамбени систем антиоксидативне заштите. На овај начин обезбеђује се хомеостаза између настанка и неутралисања слободних радикала. Ћелије се штите од оксидативног стреса тако што се повећава активност (ниво) ензима антиоксидативне заштите: супероксид дисмутазе, каталазе и глутатион пероксидазе, одговорних за неутралисање слободних радикала (Junli et al., 2009).

Као извор дијетарних антиоксиданаса посебно се истичу воће, поврће, језграсти плодови, семена и пића (вино од грожђа и воћа као и чај) (Wang et al., 2011; Yao et al., 2004). Нека једињења као што су, флавоноиди, су познати као добри антиоксиданси и захваљујући својој полифенолној структури показују способност "хватања" слободних радикала, других оксиданаса и хелирања двовалентних катјона (Procházková et al., 2011). Такве особине флавоноида у живим организмима се приписују могућности да надокнаде електрон слободном радикалу, активирају ензиме антиоксидативне заштите, утичу на ензимске и ћелијске сигналне путеве, али и генску експресију (Rodrigo and Libuy, 2014).

Узајамна реакција између слободних радикала и антиоксиданаса је веома важна у одржавању здравља током живота. Смањење изложености слободним радикалима и повећани унос намирница богатих антиоксидансима доводи до тога да се појачава одбрамбена моћ организма. На овај начин се смањује могућност за појаву болести које настају услед утицаја слободних радикала (Lobo et al., 2010; Rahman, 2007).

5.5.1. Експериментални подаци

Узорци воћних вина којима су синаптозоми у којима је изазван оксидативни стрес, били изложени, произведени су на два начина. Коришћени су узорци вина из експеримента 2 и то они у којима је контролисано врење урађено квасцима *Lievito Secco* и *ICV D254*. Са оба квасца вина су произведена на два начина и то, без додатка ензима и шећера пре почетка врења, као и са додатком и ензима и шећера пре почетка врења. Управо овакав избор узорака имао је за циљ да покаже како технолошки поступци током производње утичу на садржај антиоксидативних једињења у воћним винима, која делују на активност синаптомалних ензима антиоксидативне заштите и на садржај *MDA* који настаје услед липидне пероксидације. Контрола са водоник пероксидом је добијена, код одређивања активности свих испитиваних ензима антиоксидативне заштите и при одређивању садржаја *MDA*, и подразумевала је синаптозоми у којима је оксидативни стрес изазван водоник пероксидом. Вредности за контролу са водоник пероксидом, код одређивања свих ензима антиоксидативне заштите и *MDA*, су поређене са вредностима када су синаптозоми, под експериментално изазваним оксидативним стресом, били изложени лиофилизатима воћних вина. Воћна вина су лиофилизована да би се избегао утицај етанола (индукује активност параметара оксидативног стреса) из вина на активност ензима и липидну пероксидацију током експеримента (Noguer et al., 2012).

Представљени резултати добијени за активност ензима антиоксидативне заштите и садржај MDA, код синаптозома третираних винима без додатка шећера и ензима пре почетка врења, показали су статистичку значајност добијену тестом упарених узорака (Табеле 52–55). Активност антиоксидативних ензима у синаптозома, третираним претходно наведеним узорцима, била је виша у свим случајевима у односу на контролу са пероксидом ($p < 0,05$). За разлику од активности ензима, садржај MDA је био нижи у свим случајевима у односу на контролу са пероксидом ($p < 0,05$). Такође је, исти утицај, на ензиме антиоксидативне заштите и садржај MDA примећен у синаптозома третираним лиофилизованим узорцима воћних вина произведених са додатком шећера и ензима пре почетка врења што је и потврђено тестом упарених узорака (Табеле 52–55). Активност антиоксидативних ензима била је виша ($p < 0,05$), док је садржај MDA био нижи у свим случајевима ($p < 0,05$). Разлог за ово је била чињеница да су антиоксидативна једињења из вина утицала на активности у синаптозома, које се истичу у добијеним резултатима и смањењу садржаја MDA. Такође, приказано је у односу на контролу са пероксидом и процентуално повећање ензимске активности и смањење садржаја MDA (Табеле 52–55).

Табела 52. Активност супероксид дисмутазе у синаптозома током оксидативног стреса у присуству лиофилизата воћних вина.

Врста воћа	Врста винификације	Квасац Lievito Secco		Квасац ICV D254	
		U/mg	%	U/mg	%
Аронја	– шећер – ензим	5,81±0,50	28,82	5,95±0,55	31,99
Аронија	+ шећер + ензим	6,26±0,62 ^{a*}	38,80	6,22±0,52 ^{b*}	37,91
Боровница	– шећер – ензим	6,08±0,45	34,81	5,86±0,40	30,00
Боровница	+ шећер + ензим	6,35±0,50 ^{a*}	40,79	6,22±0,56 ^{b*}	37,90
Купина	– шећер – ензим	6,17±0,47	36,80	6,26±0,51	38,80
Купина	+ шећер + ензим	6,53±0,62 ^{a*}	44,78	6,81±0,65 ^{b*}	50,90
Вишња	– шећер – ензим	5,45±0,48	21,00	5,59±0,55	23,94
Вишња	+ шећер + ензим + коштица	5,63±0,52 ^{a*}	24,98	5,50±0,58 ^{b*}	21,95
Малина	– шећер – ензим	5,23±0,49	15,96	5,01±0,38	11,08
Малина	+ шећер + ензим	5,09±0,41 ^{a*}	12,86	5,32±0,40 ^{b*}	17,96
Јабука	– шећер – ензим	4,67±0,38	3,54	4,58±0,42	1,67
Јабука	+ шећер + ензим	4,79±0,40 ^{a*}	6,20	4,73±0,45 ^{b*}	4,87

^a – статистички значајна разлика у односу на вино произведено без додатка шећера и ензима са квасцем Lievito Secco;

^b – статистички значајна разлика у односу на вино произведено без додатка шећера и ензима са квасцем ICV D254; * $p < 0,05$. Контрола пероксид 4,51±0,35 U/mg
Контрола 3,87±0,30 U/mg

Сви лиофилизати узорака воћних вина утицали су на повећану активност супероксид дисмутазе (Табела 52). Највиша активност примећена је код синаптозома третираних лиофилизатом вина од купине (6,81 U/mg), а најнижа за лиофилизат вина од јабуке (4,58 U/mg).

Сви лиофилизати довели су до више активности ензима каталазе (Табела 53). Највиша активност је добијена код синаптозома третираних лиофилизатом вина од боровнице 0,058 U/mg, док је најмање изражена активност била показана за лиофилизат вина од јабуке 0,034 U/mg.

Табела 53. Активност каталазе у синаптозома током оксидативног стреса у присуству лиофилизата воћних вина.

Врста воћа	Врста винификације	Квасац Lievito Secco		Квасац ICV D254	
		U/mg	%	U/mg	%
Аронја	– шећер – ензим	0,041±0,005	28,12	0,042±0,004	31,87
Аронија	+ шећер + ензим	0,049±0,005 ^{a*}	55,31	0,048±0,004 ^{b*}	52,50
Боровница	– шећер – ензим	0,047±0,005	49,00	0,043±0,004	34,30
Боровница	+ шећер + ензим	0,058±0,004 ^{a*}	82,80	0,054±0,005 ^{b*}	71,25
Купина	– шећер – ензим	0,042±0,004	30,31	0,043±0,004	34,37
Купина	+ шећер + ензим	0,051±0,005 ^{a*}	60,93	0,050±0,004 ^{b*}	56,25
Вишња	– шећер – ензим	0,034±0,003	6,87	0,035±0,004	9,37
Вишња	– шећер + ензим + коштица	0,039±0,003 ^{a*}	23,43	0,037±0,004 ^{b*}	15,93
Малина	– шећер – ензим	0,035±0,003	10,93	0,036±0,003	15,00
Малина	+ шећер + ензим	0,039±0,004 ^{a*}	21,87	0,040±0,003 ^{b*}	25,00
Јабука	– шећер – ензим	0,036±0,003	12,50	0,034±0,003	8,75
Јабука	+ шећер + ензим	0,038±0,003 ^{a*}	21,25	0,039±0,004 ^{b*}	22,18

^a – статистички значајна разлика у односу на вино произведено без додатка шећера и ензима са квасцем Lievito Secco;

^b – статистички значајна разлика у односу на вино произведено без додатка шећера и ензима са квасцем ICV D254; * $p < 0,05$. Контрола пероксид 0,0326±0,003 U/mg
Контрола 0,0275±0,002 U/mg

Сви лиофилизати испитиваних воћних вина допринели су бољој (вишој) активности глутатион пероксидазе (Табела 54). Највиша активност примећена је код синаптозома третираних лиофилизатом вина од боровнице 0,017 U/mg, док је најмање изражена активност била показана за лиофилизат вина од вишње 0,00972 U/mg.

Табела 54. Активност глутатион пероксидазе у синаптозомима током оксидативног стреса у присуству лиофилизата воћних вина.

Врста воћа	Врста винификације	Квасац Lievito Secco		Квасац ICV D254	
		U/mg	%	U/mg	%
Аронја	– шећер – ензим	0,0147±0,002	63,15	0,0141±0,001	56,49
Аронија	+ шећер + ензим	0,0163±0,002 ^{a*}	80,91	0,0159±0,002 ^{b*}	76,47
Боровница	– шећер – ензим	0,0153±0,002	69,81	0,0148±0,002	64,26
Боровница	+ шећер + ензим	0,017±0,002 ^{a*}	88,67	0,0166±0,002 ^{b*}	84,23
Купина	– шећер – ензим	0,0158±0,002	75,36	0,0138±0,001	53,16
Купина	+ шећер + ензим	0,0142±0,002 ^{a*}	57,60	0,0155±0,002 ^{b*}	72,03
Вишња	– шећер – ензим	0,00972±0,001	7,88	0,0099±0,001	9,87
Вишња	+ шећер + ензим + коштица	0,0105±0,001 ^{a*}	16,53	0,0110±0,001 ^{b*}	22,08
Малина	– шећер – ензим	0,0128±0,001	42,06	0,0131±0,001	45,39
Малина	+ шећер + ензим	0,0137±0,002 ^{a*}	52,05	0,0141±0,002 ^{b*}	56,49
Јабука	– шећер – ензим	0,0117±0,001	29,85	0,0112±0,001	24,31
Јабука	+ шећер + ензим	0,0121±0,001 ^{a*}	40,95	0,0125±0,001 ^{b*}	38,73

^a – статистички значајна разлика у односу на вино произведено без додатка шећера и ензима са квасцем Lievito Secco;

^b – статистички значајна разлика у односу на вино произведено без додатка шећера и ензима са квасцем BDX D254; * p < 0,05. Контрола пероксид 0,00901±0,001 U/mg
Контрола 0,0075±0,001 U/mg

Сви испитивани лиофилизати воћних вина су снизили вредности за MDA (Табела 55). Најниже вредности за MDA су биле у синаптозомима третираним лиофилизатом вина од ароније 1,42 pmol/mg, који се показао као најбољи у заштити од липидне пероксидације. Највиши садржај за MDA био је у винима од јабуке и то 3,62 pmol/mg. Технолошки поступак производње, који је подразумевао додаток ензима и шећера воћном кљуку пре почетка врења, показао је статистички значајну разлику (p < 0,05) за вредности параметара оксидативног стреса (супероксид дисмутаза, каталаза, глутатион пероксидаза и MDA), док применом различитих квасаца то није био случај (p > 0,05).

Табела 55. Садржај MDA у синаптозоима током оксидативног стреса у присуству лиофилизата воћних вина.

Врста воћа	Врста винификације	Квасац Lievito Secco		Квасац ICV D254	
		nmol/mg	%	nmol/mg	%
Аронја	– шећер – ензим	1,65±0,15	56,37	1,74±0,14	53,99
Аронија	+ шећер + ензим	1,42±0,11 ^{a*}	62,45	1,50±0,12 ^{b*}	60,31
Боровница	– шећер – ензим	2,69±0,22	28,87	2,57±0,15	32,41
Боровница	+ шећер + ензим	2,25±0,18 ^{a*}	40,50	2,32±0,17 ^{b*}	38,44
Купина	– шећер – ензим	2,15±0,16	43,15	2,31±0,18	38,84
Купина	+ шећер + ензим	1,63±0,16 ^{a*}	56,82	1,85±0,15 ^{b*}	51,08
Вишња	– шећер – ензим	1,91±0,15	49,55	1,79±0,12	52,67
Вишња	– коштица + шећер + ензим	1,72±0,14 ^{a*}	54,57	1,85±0,13 ^{b*}	51,08
Малина	– шећер – ензим	2,91±0,25	22,97	2,62±0,14	30,72
Малина	+ шећер + ензим	2,52±0,13 ^{a*}	33,36	2,43±0,15 ^{b*}	35,74
Јабука	– шећер – ензим	3,49±0,22	7,56	3,37±0,25	10,73
Јабука	+ шећер + ензим	3,62±0,20 ^{a*}	4,28	3,52±0,23 ^{b*}	6,92

^a – статистички значајна разлика у односу на вино произведено без додатка шећера и ензима са квасцем Lievito Secco;

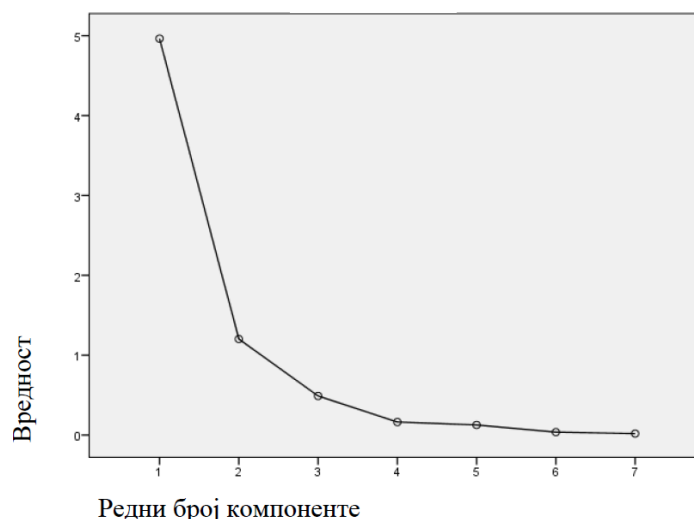
^b – статистички значајна разлика у односу на вино произведено без додатка шећера и ензима са квасцем ICV D254; * p < 0,05. Контрола пероксид 3,78±0,25 nmol/mg
Контрола 2,65±0,20 nmol/mg

Синаптозоми, третираны лиофилизатима произведеним без додатка шећера и ензима пре почетка врења, показали су нижу активност испитиваних ензима антиоксидативне заштите и више вредности MDA, од лиофилизата вина произведених са шећером и ензимом. Повећан ниво шећера довео је до вишег нивоа алкохола у крајњем производу – вину, који је, утицао на бољу екстракцију антиоксиданаса. Гликозидолитички ензимски препарат условио је повишен садржај агликона (с акцентом на флавоноиде) кључних биоактивних принципа. Литературни подаци у сагласности су са претходно истакнутим и указују на активност агликона флавоноида као добрих “хватача” слободних радикала и хелатора металних јона (Noguer et al., 2012). Применом биљног екстракта, богатог агликонима флавоноида, на ћелијске линије значајно је снижен настанак слободних радикала и стварање MDA, док је активност ензима антиоксидативне заштите (супероксид дисмутазе, глутатион пероксидазе и каталазе) повећана. Оваква активност истиче заштитини ефекат агликона флавоноида, који је у сагласности са њиховим антиоксидативним особинама (Sun et al., 2011b).

Добијени резултати за параметре оксидативног стреса (SOD, CAT, GPx и MDA, Табеле 52 – 55) и вредности за FRAP, DPPH и Садржај укупних полифенола (Табеле 37, 38, 42, 43) су биле променљиве анализирание методом редукције фактора - Principal Component

Analysis (PCA). Анализа је урађена са вредностима ових параметара за вина произведена са оба квасца (Lievito Secco и ICV D254).

Параметри за оправданост анализе у случају вина произведених квасцем Lievito Secco су били: Кајзер Мајер Олкинов критеријум који је био 0,788 док је Бартлетов тест сферичности показао статистичку значајност ($p < 0,05$). Две компоненте су се издвојиле и то прва која има вредност 4,964 и различитост 70,91% док друга има вредност 1,202 и различитост 17,17%. Применом Кателовог критеријума (Cattell criterion) види се да постоје две издвојене компоненте чија је кумулативна различитост износила 88,09% (Слика 36).

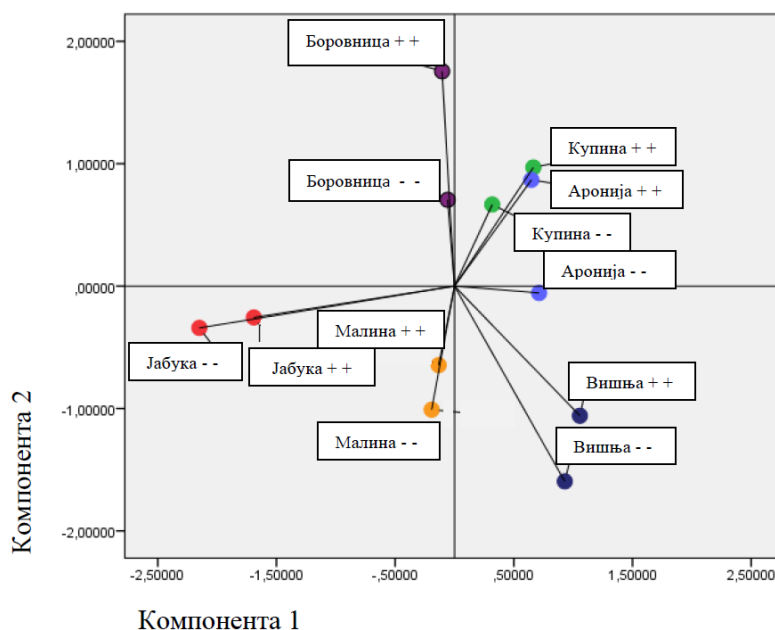


Слика 36. Допринос једињења проценту различитости (квасац Lievito Secco).

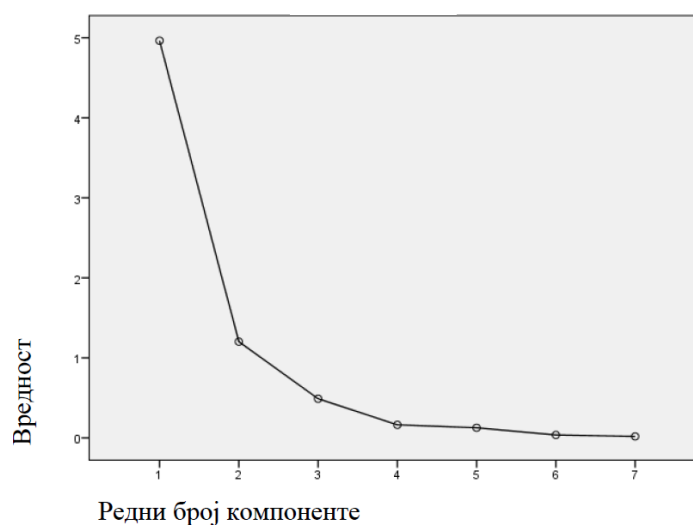
Прва компонента која је имала највећу вредност описује у великој мери све променљиве у PCA анализи док их друга описује знатно мање. Да би се побољшала интерпретабилност помоћу ове две компоненте примењује се ротација којом се постиже максимална искористљивост обе изабране компоненте за објашњавање постојећих променљивих. Примењена је ортогонална varimax ротација којој је дата предност у односу на quartimax и equamax, јер обезбеђује максимално описивање варијанси помоћу нових компоненти. После ротације примећено је да прва компонента боље описује променљиве MDA, DPPH и Садржај купних полифенола док друга CAT, GPx, FRAP и SOD. На графику (Слика 37) се примећују јасно груписана вина од ароније, боровнице и купине. Управо она су се истакла по вредностима за FRAP, DPPH и Садржај укупних полифенола док су она и највише утицала и на повећање активности ензима антиоксидативне заштите (SOD, GPx, CAT) и снижавање вредности за MDA. У другој групи су се налазила вина од вишње, малине и јабуке која су знатно мање утицала на повећање активности ензима антиоксидативне заштите (SOD, GPx, CAT) и снижавање вредности MDA. Њихове вредности за FRAP, DPPH и Садржај укупних полифенола су биле ниже у односу на вина из прве групе.

Параметри за оправданост анализе у случају вина произведених квасцем ICV D254 су били: Кајзер Мајер Олкинов критеријум чија је вредност била 0,656 док је Бартлетов тест сферичности показао статистичку значајност ($p < 0,05$). Две компоненте су се издвојиле и то прва има вредност 4,963 и различитост 70,90% док друга има вредност 1,236 и различитост 17,65%. Применом Кателовог критеријума (Cattell criterion) види се да постоје две издвојене компоненте чија је кумулативна различитост износила 88,55% (Слика 38).

Прва компонента која је имала највећу вредност описује у великој мери све променљиве у PCA анализи док друга знатно мање. После ортогоналне varimax ротације



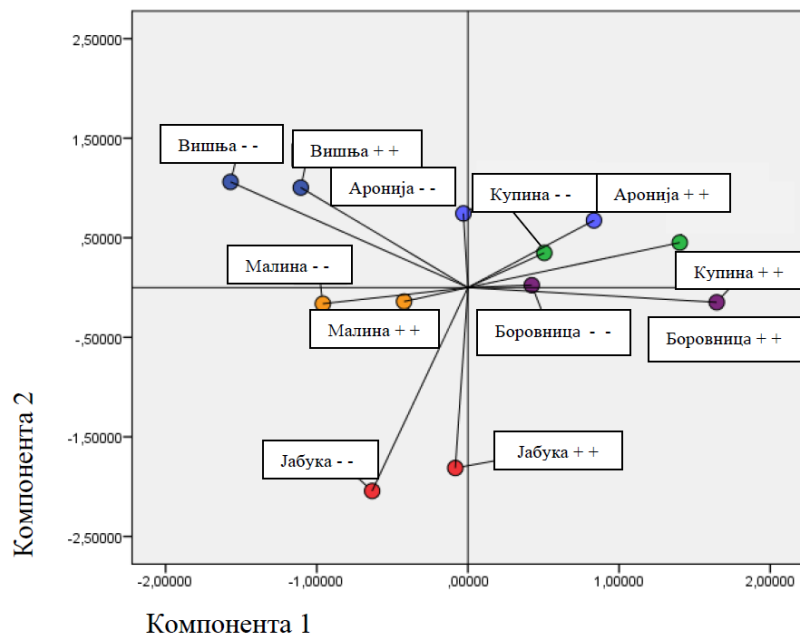
Слика 37. Распрострањеност воћних вина у зависности од новоиздвојених компоненти (квасац *Lievito Secco*, ++ са шећером и ензимом, -- без шећера и ензима).



Слика 38. Допринос једињења проценту различитости (квасац *ICV D254*).

примећено је да прва компонента боље описује променљиве CAT, GPx, FRAP и SOD док друга MDA, DPPH и Садржај укупних полифенола. На графикону (**Слика 39**) се примећују као и код вина произведених квасцем *Lievito Secco* да су се из истих разлога са једне стране груписала вина од ароније, боровнице и купине, док су са друге стране била вина од вишње, малине и јабуке.

Добијени резултати за параметре оксидативног стреса (SOD, GPx, CAT и MDA, **Табеле 52-55**) и вредности за FRAP, DPPH и Садржај укупних полифенола (**Табеле 37, 38, 42, 43**) анализирани су и уз помоћ хијерархијске кластер анализе (Hierarchical Cluster Analysis, HCA). Ова статистичка анализа рачуна растојање између свих јединица међусобно

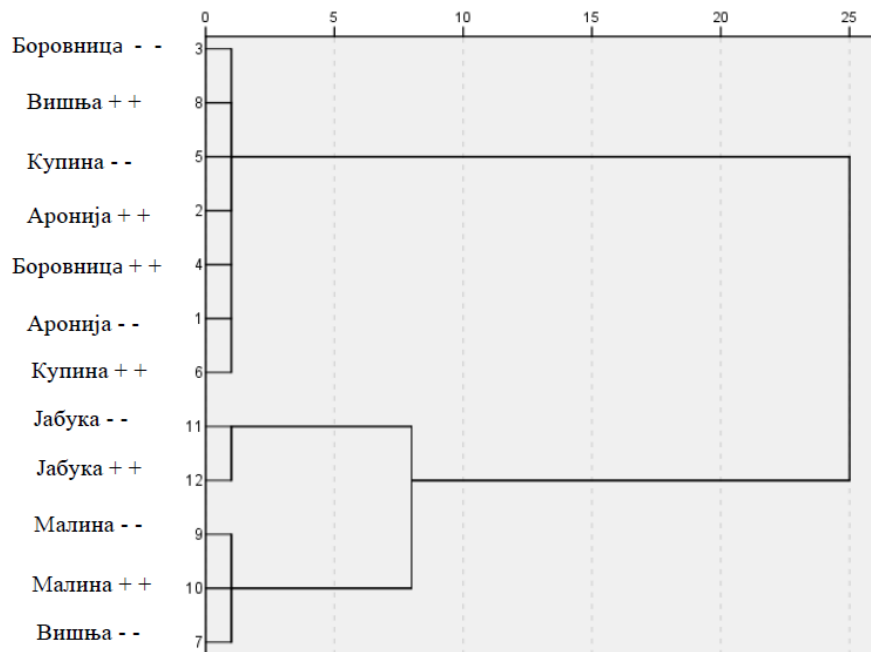


Слика 39. Распрострањеност воћних вина у зависности од новоиздвојених компоненти (квасац ICV D254 , ++ са шећером и ензимом, -- без шећера и ензима).

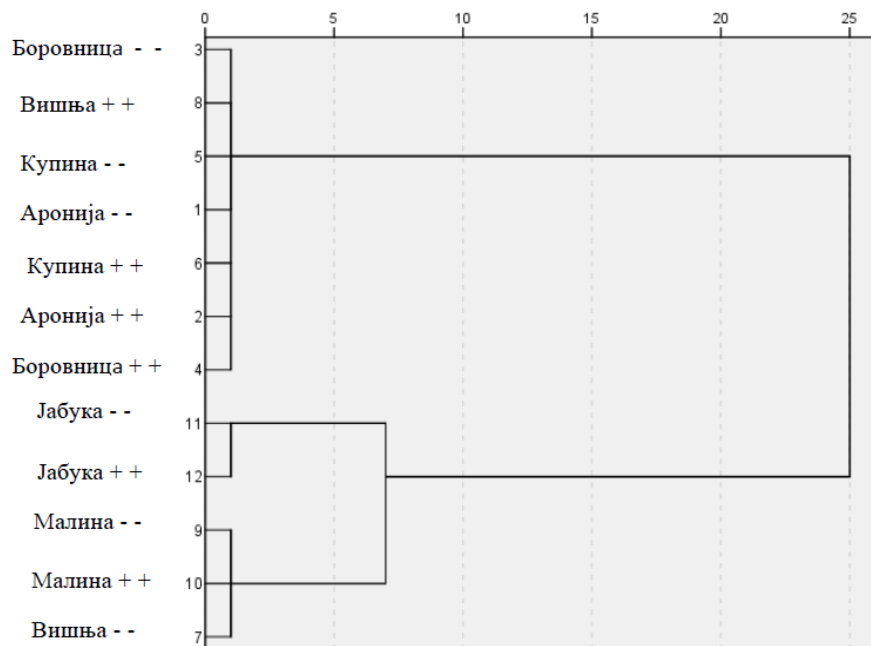
где се касније формирање група (кластера) врши тако што се спајају јединице које су блиске једна другој (сличне јединице се налазе у истој групи). На тај начин долази до груписања јединица у класе и смањивања броја кластера. Ова метода се може користити када је податке потребно раздвојити у више група.

На основу података везаних за вина произведена са оба квасца (Lievito Secco и ICV D254) направљен је графички приказ хијерархијске кластер анализе - дендограм где се различита воћа обједињују према групама. Слични кластери се спајају, тако да ће се у овом случају спојити она воћа која показују сличније резултате. То се постиже Wald-овим алгоритмом који спаја хомогене групе (групе које имају најмањи раст суме квадрата грешака, односно варијансе)

На дендограмима (Слике 40 и 41) у првом кораку издвојила су се три кластера. У првом је било вино од воћа које има тамнију pokožицу, а другом јабука. У трећем су се нашала вина од малине и једно од вишње због сличних вредности за параметре који су укључени у анализу. Кластер са тамним воћем је остао посебно, док су се кластер јабука и малина спојили због сличности резултата. Воће са тамнијом pokožицом било је сличније по понашању у односу на друго. Без обзира на врсту квасца који је коришћен у производњи вина може се закључити да је воће са тамнијом pokožицом показало хомогеније особине у поређењу са малином и јабуком.



Слика 40. Дендограм воћних вина (квасац *Lievito Secco*, ++ са шећером и ензимом, -- без шећера и ензима).



Слика 41. Дендограм воћних вина (квасац *ICV D254*, ++ са шећером и ензимом, -- без шећера и ензима).

Важно је истаћи и чињеницу да се антиоксидативна активност полифенола значајно разликује када се испитују појединачно или у смеши као и да сам избор методе утиче на добијене резултате. Појединачно, сматра се, да кверцетин поседује вишу антиоксидативност, од кафеинске киселине и резвератрола (Kurin et al., 2012). Тако епикатехин и катехин су

повећали активност супероксид дисмутазе код експерименталних животиња (Simos et al., 2012). Кверцетин и гална киселина као најдоминантнији полифеноли у винима од грозђа утицали су на повећање активности супероксид дисмутазе, глутатион пероксидазе и каталазе у културама ћелија где је експериментално изазван оксидативни стрес (Martín et al., 2013). Неуропротективни ефекат истих једињења је показан, такође, кроз повећање активности претходно истакнутих ензима антиоксидативне заштите у астроцитима (ћелијским културама пореклом из нервног ткива) (Martín et al., 2011). Антиоксидативност полифенолних једињења у узорку често није једнака збиру вредности за антиоксидативности појединачних фенола (Rodrigo and Libuy, 2014).

Утицај активних једињења из воћа и вина на ензиме антиоксидативне заштите је различит, па је у неким случајевима истакнута активација или инхибиција ензимске активности. Тако неке од студија истичу повишену активност каталазе у присуству флавоноида (Elavarasan et al., 2012; Noguer et al., 2012; Sun et al., 2011b), док у другима није било утицаја, или је чак дошло до неког снижења (Doronicheva et al., 2007; Simos et al., 2012). Слично је било и у студијама где су праћене активности супероксид дисмутазе и глутатион пероксидазе које су у присуству вина од грозђа биле повишене (Noguer et al., 2012; Srikanta et al., 2016; Lingua et al., 2016), а било је и случајева снижења њихове активности (Estruch et al., 2011).

Неке од фенолних киселина које су пронађене као доминантне у анализираним воћним винима показале су активност према ензимима антиоксидативне заштите у различитим ткивима. Тако *p*-кумаринска киселина показује своју антиоксидативну активност у адипоцитима (Yen et al., 2011). То се види кроз повећање активности различитих ензима антиоксидативне заштите и то глутатион пероксидазе, глутатион S трансферазе, супероксид дисмутазе, али и других једињења (глутатион и адипонектин) која утичу на снижење штетног дејства оксидативног стреса. Кафеинска киселина, такође, утиче на повећање активности ензима супероксид дисмутазе, каталазе, глутатион пероксидазе и снижавање оксидације еритроцита код експерименталних животиња у дијабетесу (Jung et al., 2006). На истом експерименталном моделу је показана и активност галне киселине која је снизила оксидативни стрес у ћелијама. Повећање активности ензима антиоксидативне заштите од стране галне киселине довело је до превенције некрозе Лангерхансових ћелија панкреаса (Punithavathi et al., 2011).

Различите студије указују на утицај вина на параметре оксидативног стреса. Тако орално примењен деалкохолизован екстракт вина од грозђа код експерименталних животиња је довео до значајног снижења нивоа MDA у серуму и вазорелаксације крвних судова. Добијени резултати управо указују на добру биорасположивост полифенолних једињења унесених на овај начин (de Figueiredo et al., 2017). Исхрана обogaћена екстрактима белих вина указала је да катехин и деривати хидроксибензојеве киселине пролазе крвно-мождану баријеру. Њихово присуство у ћелијама можданог ткива доводи до повећања активности каталазе и снижавања оксидације липида ћелијске мембране (Mendes et al., 2018). Способност снижавања нивоа MDA су показали сви екстракти вина добијени од различитих сорти грозђа, чак и поред другачијег садржаја полифенола (Deiana et al., 2012). Управо истакнути екстракти су били богат извор деривата хидроксибензојеве и хидроксициметне киселине, али и неких флавоноида (катехин и епикатехин) који су били одговорни за овакву активност. Студија спроведена на здравим добровољцима је показала да унос деалкохолизованог црвеног вина доводи до повећања активности супероксид дисмутазе и каталазе, док је глутатион пероксидаза остала непромењена (Noguer et al., 2012). Ово истраживање указује да повећање активности ензима антиоксидативне заштите није само због присуства етанола у вину већ и због полифенолних једињења.

Једињења истакнута у претходној студији су, такође, пронађена и у воћним винима што управо и потврђује њихову способност да активирају ензиме антиоксидативне заштите

током експериментално изазваног оксидативног стреса у синаптозомима. Унос бобичастог воћа је везан за снижавање негативног утицаја оксидативног стреса. Управо за то су одговорни полифеноли који своје дејство показују кроз повећање активности ензима који су важни у одржавању хомеостазе (Jia et al., 2014; Shahidi and Ambigaipalan, 2015). Утицај полифенола из бобичастог воћа је посматран *ex vivo* и *in vivo*, тако да се екстракт купине показао као добар у заштити од оксидативног стреса на моделу јетре пацова. То потврђују повећане активности супероксид дисмутазе, каталазе и глутатион пероксидазе које су се мењале у зависности од примењене дозе CCl_4 којима је проузрокован оксидативни стрес (Cho et al., 2011). Студија спроведена у Србији која је окупила здраве добровољце је показала да је унос производа од ароније, током три месеца, повећао активност еритроцитне супероксид дисмутазе и глутатион пероксидазе (Kardum et al., 2014). Елаготанински екстракти из купине и малине су се показали као добар извор једињења важних за очување антиоксидативне заштите ћелија желудачне мукозе код животињских модела. Томе у прилог иде чињеница да је оштећење оксидативним стресом снижено, док је активност супероксид дисмутазе и каталазе повећана у односу на случајеве где екстракти нису примењени (Sangiovanni et al., 2013). Примена екстракта боровнице је смањила ниво MDA у мозгу експерименталних животиња (Miller and Shukitt-Hale, 2012). Поред тога што је истакнута активност појединачних полифенолних једињења из вина и бобичастог воћа, важно је истаћи да позитиван утицај на параметре оксидативног стреса потиче управо од синергистичког ефекта свих биолошки активних једињења.

5.5.2. Здравствени ефекат

Прво место дејства полифенолних једињења јесте управо у систему органа за варење и један од главних проблема је чињеница да током овог процеса се утиче на њихову стабилност. Апсорпцију и биорасположивост полифенолних једињења побољшава присуство етанола и због тога се вино, било да је од грожђа или неког другог воћа, сматра као добар извор ових једињења. Томе у прилог иде и чињеница да су вина њихов бољи извор него екстракти полифенолних једињења и деалкохолизована вина (Manach et al., 2004). Након апсорпције полифенолна једињења и њихови метаболити се преносе циркулацијом везани за серумалбумине и тако се дистрибуирају у ткива где могу да се метаболишу. У оквиру ових једињења битно је истаћи фенолне киселине које се реапсорбују, подложне су коњугацији и О-метилацији у јетри одакле одлазе у циркулацију. Њихов метаболизам је важан, јер фенолне киселине чине велики део апсорбованих полифенолих једињења (30 до 60%), али и због тога што могу да неутралишу слободне радикале (Pietta, 2000). Управо ово је и био разлог за испитивање фенолних киселина у воћним винима.

Посматрајући структуре флавоноида само агликони и неки глукозидовани облици могу да се апсорбују у танком цреву. Флавоноиди су у храни најчешће присутни као гликозиди, полимеризовани и естарски везани за друге биомолекуле што смањује њихову апсорпцију (Murota et al., 2018). Полифеноли делују у гастро-интестиналном систему као хватачи слободних радикала чиме смањују могућност за појаву липидне пероксидације. Флавоноиди везани за шећере као што је рамноза морају да буду претходно хидролизоване рамнозидама које се налазе у микрофлори колона. Рамнозиди и остали везани облици флавоноида много се слабије апсорбују и поред деловња одговарајућих ензима у колону, јер је и сама апсорпција у овом делу дигестивног тракта нижа него у танком цреву. Чак и поред тога једињења настала бактеријском разградњом полифенола показују позитиван утицај у колону (Halliwell et al., 2005; Hollman and Katan, 1999). Управо због тога је и у узорцима воћних вина произведених у експериментима 1 и 2 полифенолни састав приказан кроз садржај слободних облика ових једињења, а не оних везаних за угљене хидрате. Главни извор једног од врло значајних флавоноида у исхрани, катехина, је црно грожђе и бобичасто воће, а његова апсорпција је знатно боља него кверцетина. Утицај алкохола на апсорпцију

катехина је веома битан, па је тако показано да је садржај катехина у плазми, након сат времена од уноса 120 mL црвеног вина, био 91 ± 14 nmol/L. Унос исте количине деалкохолизованог вина показао је садржај катехина у плазми од 81 ± 11 nmol/L. (Dopovan et al., 1999). Многи радови истичу високу разлику у апсорпцији флавоноида која зависи од особе до особе и то на првом месту због полиморфизма ензима дигестивног система и осталих транспортних протеина (Hollman et al., 1999). Све ово указује да позитиван здравствени утицај различитих флавоноида зависи од њихове кинетике апсорпције и елиминације, али и самог облика у коме се налазе у људском организму.

Различити механизми су укључени и њима је показан позитиван здравствени утицај једињења из вина на људски организам и то посебно код кардиоваскуларних болести. Вина од купине имају значајно бољи вазодилататорни ефекат него вина од белог грожђа, док је слабији у односу на она од црног грожђа (Mudnic et al., 2012). Поред овога испитана је и вазодилататорна активност неких једињења присутних у овим винима и то фенолних киселина. Као најбољи вазодилататори показали су се ванилинска, *p*-хидроксибензоева, протокатехуинска, сиригинска и гална киселина. Од деривата хидроксициметне киселине посебно су се истакли кафеинска, *p*-кумаринска, ферулинска и синапинска киселина (Mudnic et al., 2010). Управо ова једињења су и пронађена као доминантна током одређивања полифенолног састава произведених узорака воћних вина у експерименту 1 и 2. Присуство ових једињења у винима од воћа, посебно онима од бобичастог, указује да се она могу сматрати потенцијалном функционалном намирницом погодном за превенцију кардиоваскуларних болести.

Нека од полифенолних једињења су се показала као веома добра у потенцијалној превенцији атеросклерозе. Један од узрока овог патолошког проблема јесте и губитак правилне функције васкуларног ендотела који ствара азот(II)-оксид (NO), најјачи природни вазодилататор. Управо код проблема у функцији ендотела конзумирање вина може да побољша његову активност, доведе до вазодилатације и спречавања агрегације тромбоцита. Бобичасто воће и производи од њега су показали у једној студији да могу да доведу до смањења агрегације тромбоцита за чак 11% у поређењу са контролном групом. На тај начин се значајно утиче и на смањење крвног притиска, повећавање концентрације HDL холестерола, али и на метаболизам NO (Erlund et al., 2008). Један од механизма којим се може објаснити превентивна улога полифенола код кардиоваскуларних поремећаја јесте и тај да они могу да снижавају експресију гена који су одговорни за регулисање адхезије ћелија. На тај начин се смањује активност моноцита из крвотока који су одговорни за појаву запаљења када се уграде у ендотел крвних судова (Choi et al., 2004). Бобичасто воће и производи од њега могу да утичу на редуковање симптома метаболичког синдрома који представља основу за појаву гојазности и дијабетеса типа 2 (Basu and Lyons, 2012). Овој тврдњи у прилог иде и чињеница која је показала да код групе испитаника који су редовно пили вино је значајно мања могућност за појаву метаболичког синдрома (Barrio-Lopez et al., 2013). Пошто је вино, било да је оно од грожђа или воћа, једна сложена смеша различитих природних биолошки активних једињења, за позитиван утицај на људски организам је управо заслужан њихов синергистички ефекат.

Присуство полифенола у можданим ћелијама може утицати на превенцију појаве неких неуродегенеративних болести. Претходно је важно да апсорбовани део полифенола из ГИТ-а прође крвно-мождану баријеру што указује њихово присуство у можданом ткиву експерименталних животиња (Tavares et al., 2013). Пролазак полифенола кроз крвно-мождану баријеру зависи од липофилности где мање поларни метаболити (настали *O*-метиловањем) лакше пролазе, за разлику од поларних (сулфата и глукуронида). На ћелијском моделу показано је да катехин, епикатехин, нарингенин, гална и елагинска киселина се могу наћи у можданом ткиву где показују неуропротективна својства (González-Sarrías et al., 2017; Vauzour, 2012). Полифенолна једињења из купине су, такође, показала способност

проласка кроз крвно-моздану баријеру, док тачан механизам њиховог транспорта остаје предмет неких будућих истраживања (Figueira et al., 2019). Производи од воћа, као што је сок од вишње, показали су неуропротективну активност инхибицијом ензима у ЦНС-у (Cásedas et al., 2016). Такође, код експерименталних животиња са старосним недостацима је истакнут неуропротективни ефекат кроз побољшање понашања и бољу неуронску активност (Thangthaeng et al., 2016). Један од узрока за настанак неуродегенеративних болести је и оксидативни стрес који се може смањити уносом бобичастог воћа и производима од њих (Gomes-Rochette et al., 2016). Антиоксидативне особине једињења из овог воћа нису показане само *in vitro* и на експерименталним животињама, већ и на људима. Студија у којој је испитиван утицај сока од бобичастог воћа је показала снижавање маркера оксидативног стреса (Skrovankova et al., 2015). Примена сока од боровнице током 12 недеља код испитаника старијих од седамдесет година је показала побољшање памћења (Krikorian et al., 2011), док је важно истаћи и позитиван утицај воћа на неуронску активност и превенцију Алцхајмерове болести (Keservani et al., 2016).

Биолошки активна једињења у винима од воћа се могу сматрати потенцијалним модулаторима људског метаболизма и то у циљу превенције хроничних незаразних болести. Умерени унос вина од воћа (једна до две чаше дневно) може да помогне у смањењу могућности за појаву кардио-васкуларних болести, хипертензије, дијабетеса, гастроинтестиналних проблема, неуродегенеративних оболења као и многих других патолошких стања организма.

6. ЗАКЉУЧАК

На основу постављених циљева и добијених резултата могу се извести следећи закључци:

1. Аутохтоне и успешно интродуковане сорте бобичастог, јагодичастог, коштичавог и јабучастог воћа које су узгајане на територији Србије и у региону, у оквиру истраживања показала су се као одлична сировина за производњу воћних вина.

2. Воћно вино је произведено поступком микровинификације, који раније није био примењиван, како у експерименталним тако и у комерцијалним условима. Технолошки поступци примењени током микровинификације истакли су да додатак шећера и ензимског препарата гликозидаза (појединачно и заједно), у воћни кљук пре почетак врења, повећава садржај појединачних полифенолних једињења, као и антиоксидативне и антирадикалске особине узорака воћних вина. Примена различитих квасаца није показала значајан утицај на претходно истакнуте резултате.

3. Основни параметри квалитета воћних вина се разликују у зависности од технолошког поступка примењеног у микровинификацији. Виши садржај шећера у воћном кљуку утиче на повећање садржаја алкохола израженог у v/v %, што је показано код свог воћа у експериментима 1 и 2. Садржај киселина и рН вредност произведених вина су у складу са литературним подацима чиме се утиче на њихову свежину, арому и природно очување од кварења.

4. У оквиру експеримента 1, у свим узорцима вина произведеним са додатком шећера у кљук, је био виши садржај алкохола, као и вредности за квантитативни садржај полифенолних једињења, а антиоксидативна и антирадикалска својства су била боља, у односу на узорке без додатка шећера и са нижим садржајем алкохола. Према квантитативном садржају полифенолних једињења посебно се истичу вина од бобичастог и јагодичастог воћа, боровница, аронија и јагода док код коштичавог, вишња и трешња. Најзаступљеније су фенолне киселине (хлорогена, гална, протокатехуинска, елагинска, кафеинска), док су се по садржају још истакли епикатехин и кверцетин. Најјачу антиоксидативну активност од вина производног од бобичастог воћа је показало вино од купине ($103,90 \text{ mmol/L Fe}^{2+}$) док од коштичавог шљива $61,95 \text{ (mmol/L Fe}^{2+})$. Према антирадикалској активности од бобичастог воћа истакло се вино од купине ($IC_{50} = 1,20 \%$), док од коштичавог воћа вишња ($IC_{50} = 1,66 \%$). Садржај укупних полифенола у винима од бобичастог воћа је био највиши код ароније ($2414,61 \text{ mg GAE/L}$), док од коштичавог воћа код вишње ($2180,63 \text{ mg GAE/L}$).

5. У оквиру експеримента 2 у свим узорцима вина вишег садржаја алкохола и произведених уз коришћење ензимског препарата гликозидаза, вредности за квантитативни садржај полифенолних једињења, антиоксидативна и антирадикалска својства су била виша, у односу на узорке где није било шећера и ензимског препарата гликозидаза. Ензимски препарат је утицао на повећање садржаја слободних облика полифенола. Према квантитативном садржају полифенолних једињења посебно се истиче вино од ароније и боровнице. Вино од вишње као једино произведено од коштичавог воћа је показало чак виши садржај неких полифенолних једињења у односу на малину. Воћна вина су класификована у две групе на основу њиховог полифенолног састава. Прву групу су чинили малина и купина, где су најзаступљенија једињења управо били гална и синапинска киселина. Другу групу чиниле су аронија, боровница и вишња са хлорогеном и кафеинском киселином као најистакнутијима. Управо претходно издвојена једињења и класификују воћна вина у ове две групе. Најјачу

антиоксидативну ($115,23 \text{ mmol/L Fe}^{2+}$) и антирадикалску ($IC_{50} = 1,11\%$) активност показало је вино од купине. Највиши садржај укупних полифенола је био у вину од ароније ($2520,40 \text{ mg GAE/L}$).

6. Воћна вина произведена микровинификацијом описаним у експерименту 1 и 2, раније нису била никада испитивана као инхибитори α -глукозидазе.

7. Испитивање, *in vitro*, анти α -глукозидазне активности од стране лиофилизата воћних вина произведених у оквиру експеримента 1, истиче да воћна вина показују својство да инхибирају овај ензим. Вина произведена са додатком шећера су показала бољу инхибиторну активност услед вишег садржаја полифенолних једињења која на то утичу. Као најбољи инхибитор се истакло вино од боровнице. Најзначајнији допринос инхибиторној активности вина од боровнице, ароније и вишње је показала хлорогена киселина, док су епикатехин, гална, протокатехуинска и кафеинска киселина имале значајан допринос.

8. Испитивање, *in vitro*, анти α -глукозидазне активности од стране лиофилизата воћних вина произведених у оквиру експеримента 2 истичу да воћна вина показују својство да инхибирају овај ензим. Вина произведена са додатком шећера и ензимског препарата гликозидаза показала су бољу инхибиторну активност, услед вишег садржаја полифенолних једињења која на то утичу. Као најбољи инхибитори су се истакла вина од боровнице и ароније. Најзначајнији допринос инхибиторној активности вина показала је хлорогена киселина, док су, такође, значајан допринос имале и кафеинска, протокатехуинска и *p*-кумаринска киселина.

9. Молекуларном докинг студијом потврђена је експериментално добијена висока вредност за анти α -глукозидазну активност катехина, хлорогене и елагинске киселине, чиме они доприносе укупној инхибиторној активности узорка.

10. Сви лиофилизати воћних вина су повећавали активност ензима антиоксидативне заштите и снижавали су вредности MDA. Већа је била активност узорака произведених са додатком шећера и ензимског препарата гликозидаза пре почетка врења. Вина од купине и боровнице показала су да највише утичу на ензимску активност, док се аронија показала као најбоља у снижавњу степена липидне пероксидације (вредности MDA).

11. Резултати спроведених експеримената, везаних за квантификовање појединачних полифенолних једињења, антиоксидативне и антирадикалске активности, као и *in vitro* анти α -глукозидазне активности и утицаја на ензиме антиоксидативне заштите, отвара могућност даљим *in vivo* испитивањима воћних вина као потенцијалних функционалних намирница. Резултати ове дисертација потенцијално указују на значајан допринос изради будућег Правилника о квалитету и другим захтевима за воћно вино који тренутно не постоји у Републици Србији.

7. ЛИТЕРАТУРА

- Adisakwattana, S., et al., 2004. Structure–activity relationships of trans-cinnamic acid derivatives on α -glucosidase inhibition. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 14, 2893–2896.
- Adisakwattana, S., et al., 2009. A series of cinnamic acid derivatives and their inhibitory activity on intestinal α -glucosidase. *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.* 24, 1194–1200.
- AICV, 2010. Association of the cider and fruit wine industry of the European Union <http://www.aicv.org/pages/industry-data/production-and-sales.html>.
Приступљено 06.11.2018.
- AICV, 2014. Association of the cider and fruit wine industry of the European Union, Code of Practice <http://www.aicv.org/pages/aicv/definitions.html><http://aicv.org/file.handler?f=CiderTrends2014.pdf>. Приступљено 06.11.2018.
- Akubor, P.I., et al., 2003. Production and quality evaluation of banana wine. *Plant Foods Hum. Nutr.* 58, 1–6.
- Arabbi, P.R., et al., 2004. Flavonoids in vegetable foods commonly consumed in Brazil and estimated ingestion by the Brazilian population. *J. Agric. Food Chem.* 52, 1124–1131.
- Arai, K., et al., 1987. Glycation and inactivation of human Cu-Zn-superoxide dismutase. *J. Biol. Chem.* 262, 16969–16972.
- Arnao, M.B., et al., 1990. Inactivation of peroxidase by hydrogen peroxide and its protection by a reductant agent. *Biochim. Biophys. Acta - Protein Struct. Mol. Enzymol.* 1038, 85–89.
- Arts, I.C.W., et al., 2000a. Catechin contents of foods commonly consumed in The Netherlands. 1. Fruits, Vegetables, Staple Foods, and Processed Foods. *J. Agric. Food Chem.* 48, 1746–1751.
- Arts, I.C., et al., 2000b. Catechin contents of foods commonly consumed in The Netherlands. 2. Tea, wine, fruit juices, and chocolate milk. *J. Agric. Food Chem.*, 48, 1752–1757.
- Aruoma, O.I., et al., 1989. The mechanism of initiation of lipid peroxidation. Evidence against a requirement for an iron(II)-iron(III) complex. *Biochem. J.* 258, 617 LP-620.
- Austrian Wine Act, 2009. Federal Act on the marketing of wine and fruit-made wine. *Bundesgesetzblatt für die Republik Österreich*, Part I, No. 111, November 17, 2009. 35 pp <http://faolex.fao.org/docs/pdf/aut97740.pdf> Приступљено 06.11.2018.
- Awad, M.A. and de Jager, A., 2000. Flavonoid and chlorogenic acid concentrations in skin of ‘Jonagold’ and ‘Elstar’ apples during and after regular and ultra low oxygen storage. *Postharvest Biol. Technol.* 20, 15–24.
- Bailey, C.J., 2003. New approaches to the pharmacotherapy of diabetes. in: Pickup, J.C., Williams, G. (Eds.), *Textbook of diabetes 2*, Blackwell Science, Oxford, UK, pp. 73.1–73.21.
- Barbosa-Canovas, G., et al., 2003. Food And Agriculture Organization Of The United Nations (FAO) Technical manual FAO agricultural services bulletin 149, Rome, p. 3.
- Barrio-Lopez, M.T., et al., 2013. Different types of alcoholic beverages and incidence of metabolic syndrome and its components in a Mediterranean cohort. *Clin. Nutr.* 32, 797–804.
- Bartowsky, E.J., 2009. Bacterial spoilage of wine and approaches to minimize it. *Lett. Appl. Microbiol.* 48, 149–156.
- Basha, S.A. and Rao, U.J.S.P., 2017. Bioactivities of fractions obtained from green gram (*Vigna radiata*) milled by-products. *Food Biosci.* 19, 134–141.
- Basu, A. and Lyons, T.J., 2012. Strawberries, blueberries, and cranberries in the metabolic syndrome: clinical perspectives. *J. Agric. Food Chem.* 60, 5687–5692.
- Belitz, H.D. and Grosch, W., 1987. *Food chemistry*, Springer Verlag, Berlin, p. 774.
- Benalla, W., et al., 2010. Antidiabetic medicinal plants as a source of alpha glucosidase inhibitors. *Curr. Diabetes Rev.*
- Benzie, I.F.F. and Strain, J.J., 1996. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”: the FRAP assay. *Anal. Biochem.* 239, 70–76.

- Beutler, E., 1984. Red Cell Metabolism, A Manual of Biochemical Methods (third ed.). Grune and Startton, New York, USA p. 133.
- Bhardwaj, J. and Joshi, V., 2009. Effect of cultivar, addition of yeast type, extract and form of yeast culture on foaming characteristics, secondary fermentation and quality of sparkling plum wine. *Nat. Prod. Radiance* 8, 452–464.
- Bhardwaj, R.L., et al., 2014. Bioactive compounds and medicinal properties of fruit juices. *Fruits* 69, 391–412.
- Bisbal, C., et al., 2010. Antioxidants and glucose metabolism disorders. *Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care* 13.
- Blando, F., et al., 2004. Sour cherry (*Prunus cerasus* L) anthocyanins as ingredients for functional foods. *J. Biomed. Biotechnol.* 2004, 253–258.
- Blois, M.S., 1958. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature* 181, 1199.
- Bolen, S., et al., 2007. Systematic review: Comparative effectiveness and safety of oral medications for type 2 diabetes mellitus. *Ann. Intern. Med.* 147, 386–399.
- Boulton, R., 1980. The relationships between total acidity, titratable acidity and ph in wine. *Am. J. Enol. Vitic.* 31, 76 LP-80.
- Brasil, 2009. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Decreto nº 6.871, de 4 de junho de 2009. Regulamenta a Lei no 8.918, de 14 de julho de 1994, que dispõe sobre a padronização, a classificação, o registro, a inspeção, a produção e a fiscalização de bebidas, Brasília, DF. http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_Ato2007-2010/2009/Decreto/D6871.htm. Приступљено 06.11.2018.
- Bräunlich, M., et al., 2013. Extracts, anthocyanins and procyanidins from *Aronia melanocarpa* as radical scavengers and enzyme inhibitors. *Nutr.* 5, 663–678.
- Brigelius-Flohe, R., et al., 1994. Phospholipid-hydroperoxide glutathione peroxidase. Genomic DNA, cDNA, and deduced amino acid sequence. *J. Biol. Chem.* 269, 7342–7348.
- Britsch, L. and Grisebach, H., 1985. Improved preparation and assay of chalcone synthase. *Phytochemistry* 24, 1975–1976.
- Burlingame, B., 2008. Wine: Food of poets and scientists. *J. Food Compos. Anal.* 21, 587–588.
- Čakar, U., et al., 2016. Phenolic profile of some fruit wines and their antioxidant properties. *Hem. Ind.* 70, 661–672.
- Čakar, U., et al., 2018a. Differentiation of wines made from berry and drupe fruits according to their phenolic profiles. *Eur. J. Hortic. Sci.* 83, 49–61.
- Čakar, U., et al., 2018b. Impact of vinification procedure on fruit wine inhibitory activity against α -glucosidase. *Food Biosci.* 25, 1–7.
- Čakar, U., et al., 2019. Fruit as a substrate for a wine: A case study of selected berry and drupe fruit wines. *Sci. Hortic. (Amsterdam)*. 244.
- Čakar, U., et al., 2017. Fruit wines inhibitory activity against α -glucosidase. *Curr. Pharm. Biotechnol.* 18.
- Campbell, O.E. and Padilla-Zakour, O.I., 2013. Phenolic and carotenoid composition of canned peaches (*Prunus persica*) and apricots (*Prunus armeniaca*) as affected by variety and peeling. *Food Res. Int.* 54, 448–455.
- Cao, G., et al., 1997. Antioxidant and prooxidant behavior of flavonoids: structure-activity relationships. *Free Radic. Biol. Med.* 22, 749–760.
- Cao, J., et al., 2010. Content of selected flavonoids in 100 edible vegetables and fruits. *Food Sci. Technol. Res.* 16, 395–402.
- Carbone, K., et al., 2018. Chemometric classification of early-ripening apricot (*Prunus armeniaca*, L.) germplasm based on quality traits, biochemical profiling and in vitro biological activity. *Sci. Hortic. (Amsterdam)*. 227, 187–195.
- Cásedas, G., et al., 2016. Bioactive and functional properties of sour cherry juice (*Prunus cerasus*). *Food Funct.* 7, 4675–4682.

- Castilho Maro, L.A., et al., 2013. Bioactive compounds, antioxidant activity and mineral composition of fruits of raspberry cultivars grown in subtropical areas in Brazil. *Fruits* 68, 209–217.
- Cendres, A., et al., 2012. Comparison between microwave hydrodiffusion and pressing for plum juice extraction. *LWT - Food Sci. Technol.* 49, 229–237.
- Céspedes, C.L., et al., 2010. Phytochemical profile and the antioxidant activity of Chilean wild black-berry fruits, *Aristotelia chilensis* (Mol) Stuntz (Elaeocarpaceae). *Food Chem.* 119, 886–895.
- CFR, 2015. Code of federal regulations. Title 27-Alcohol, tobacco products and firearms. Chapter I – Alcohol and tobacco tax and trade bureau, department of the treasury. Subchapter a – alcohol. part 4-labeling and advertising of wine. Subpart C –standards of identity for wine. Section 4.21-The Standards of Identity http://www.ecfr.gov/cgi-bin/text-idx?SID=82a2effe84149c7b68fa58a0b12e4cb8&andmc=true&tpl=/ecfrbrowse/Title27/27cfrv1_02.tpl#0. Приступљено 06.11.2018
- Chanprasartsuk, O., et al., 2012. Pineapple wine fermentation with yeasts isolated from fruit as single and mixed starter cultures. *Asian J. Food Agro -Industry* 5, 104–111.
- Chaovanalikit, A. and Wrolstad, R.E., 2008. Total anthocyanins and total phenolics of fresh and processed cherries and their antioxidant properties. *J. Food Sci.* 69, FCT67-FCT72.
- Chaves, V.C., et al., 2017. Quality properties and antioxidant activity of seven strawberry (*Fragaria x ananassa* Duch) cultivars. *Sci. Hortic. (Amsterdam)*. 225, 293–298.
- Cho, B.O., et al., 2011. Blackberry extract attenuates oxidative stress through up-regulation of Nrf2-dependent antioxidant enzymes in carbon tetrachloride-treated rats. *J. Agric. Food Chem.* 59, 11442–11448.
- Cho, J.-Y., et al., 2013. Change in the content of phenolic compounds and antioxidant activity during manufacturing of black raspberry (*Rubus coreanus* Miq.) wine. *Food Sci. Biotechnol.* 22, 1–8.
- Choi, J.-S., et al., 2004. Flavones mitigate tumor necrosis factor- α -induced adhesion molecule upregulation in cultured human endothelial cells: role of nuclear factor- κ B. *J. Nutr.* 134, 1013–1019.
- Chun, O.K., et al., 2003. Superoxide radical scavenging activity of the major polyphenols in fresh plums. *J. Agric. Food Chem.* 51, 8067–8072.
- Clarke, C., et al., 2011. *Fruit Products for Profit*. Diversification booklet number 16, FAO, Rome.
- Cohen, R.S., et al., 1977. The structure of postsynaptic densities isolated from dog cerebral cortex: I. overall morphology and protein composition. *J. Cell Biol.* 74, 181 LP-203.
- Contessa, C., et al., 2013. Total antioxidant capacity and total phenolic and anthocyanin contents in fruit species grown in Northwest Italy. *Sci. Hortic. (Amsterdam)*. 160, 351–357.
- Costacou, T. and Mayer-Davis, E.J., 2003. Nutrition and prevention of type 2 diabetes. *Annu. Rev. Nutr.* 23, 147–170.
- Cyzowska, A. and Pogorzelski, E., 2002. Changes to polyphenols in the process of production of must and wines from blackcurrants and cherries. Part I. Total polyphenols and phenolic acids. *Eur. Food Res. Technol.* 214, 148–154.
- Davidović, S.M., et al., 2013. Physicochemical, antioxidant and sensory properties of peach wine made from Redhaven cultivar. *J. Agric. Food Chem.* 61, 1357–1363.
- de Figueiredo, E.A., et al., 2017. Antioxidant and antihypertensive effects of a chemically defined fraction of syrah red wine on spontaneously hypertensive rats. *Nutrients* 9, 10–23.
- de Pascual-Teresa, S., et al., 2000. Quantitative analysis of flavan-3-ols in Spanish foodstuffs and beverages. *J. Agric. Food Chem.* 48, 5331–5337.
- de Whalley, C. V, et al., 1990. Flavonoids inhibit the oxidative modification of low density lipoproteins by macrophages. *Biochem. Pharmacol.* 39, 1743–1750.

- Deiana, M., et al., 2012. Wine extracts from Sardinian grape varieties attenuate membrane oxidative damage in Caco-2 cell monolayers. *Food Chem.* 134, 2105–2113.
- del Álamo, M., et al., 2004. Determination of free molecular phenolics and catechins in wine by solid phase extraction on polymeric cartridges and liquid chromatography with diode array detection. *J. Chromatogr. A* 1049, 97–105.
- Donovan, J.L., et al., 1999. Catechin is present as metabolites in human plasma after consumption of red wine. *J. Nutr.* 129, 1662–1668.
- Donovan, J.L., et al., 1998. Phenolic composition and antioxidant activity of prunes and prune juice (*Prunus domestica*). *J. Agric. Food Chem.* 46, 1247–1252.
- Doronicheva, N., et al., 2007. Chemical structure-dependent differential effects of flavonoids on the catalase activity as evaluated by a chemiluminescent method. *Biol. Pharm. Bull.* 30, 213–217.
- Dragovic-Uzelac, V., et al., 2005. The study of phenolic profiles of raw apricots and apples and their purees by HPLC for the evaluation of apricot nectars and jams authenticity. *Food Chem.* 91, 373–383.
- Dufresne, C.J. and Farnworth, E.R., 2001. A review of latest research findings on the health promotion properties of tea. *J. Nutr. Biochem.* 12, 404–421.
- Eder, R., et al., 2000. Influence of viticultural and enological factors on the concentration of resveratrols in grapes and wine. 25th Congres Mondial de la Vigne et du Vin, Paris, France, p. 79–86.
- Ehling, S. and Cole, S., 2011. Analysis of organic acids in fruit juices by liquid chromatography–mass spectrometry: an enhanced tool for authenticity testing. *J. Agric. Food Chem.* 59, 2229–2234.
- Eid, H. M. and Haddad, P. S., 2017. The antidiabetic potential of quercetin: underlying mechanisms. *Curr. Med. Chem.* 24, 355–364.
- El Gharras, H., 2009. Polyphenols: food sources, properties and applications – a review. *Int. J. Food Sci. Technol.* 44, 2512–2518.
- Elavarasan, J., et al., 2012. Hesperidin-mediated expression of Nrf2 and upregulation of antioxidant status in senescent rat heart. *J. Pharm. Pharmacol.* 64, 1472–1482.
- Erlund, I., et al., 2008. Favorable effects of berry consumption on platelet function, blood pressure, and HDL cholesterol. *Am. J. Clin. Nutr.* 87, 323–331.
- Estruch, R., et al., 2011. Moderate consumption of red wine, but not gin, decreases erythrocyte superoxide dismutase activity: A randomised cross-over trial. *Nutr. Metab. Cardiovasc. Dis.* 21, 46–53.
- Fan, X., et al., 2018. Improving fresh apricot (*Prunus armeniaca* L.) quality and antioxidant capacity by storage at near freezing temperature. *Sci. Hortic. (Amsterdam)*. 231, 1–10.
- FAO, 2012. Food and Agriculture Organisation of the United Nations. Top production of raspberries. <http://faostat.fao.org/site/339/default.aspx> (Приступљено 17. 5. 2017.).
- FAO, 2017. Food and Agriculture Organisation of the United Nations. Top production of fruits. <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC> (Приступљено 17. 5. 2019).
- Ferreiro-González, M., et al., 2014. A new solid phase extraction for the determination of anthocyanins in grapes. *Molecules* 19, 21398–21410.
- Figueira, I., et al., 2019. Blood–brain barrier transport and neuroprotective potential of blackberry-digested polyphenols: an in vitro study. *Eur. J. Nutr.* 58, 113–130.
- Flamini, R., Traldi, P., 2010. Mass spectrometry in grape and wine chemistry, John Wiley & Sons Inc, Hoboken, NJ, p. 163.
- Flores, P., et al., 2012. Determination of organic acids in fruits and vegetables by liquid chromatography with tandem-mass spectrometry. *Food Chem.* 132, 1049–1054.
- Fuller, N.J., et al., 2011. Nutritional and health aspects. in: Buglass, A.J. (Ed.), *Handbook of alcoholic beverages: technical, analytical and nutritional aspects*. John Wiley & Sons, Ltd., West Sussex, UK, pp. 933–1110.

- Gao, Z., et al., 2001. Protective effects of flavonoids in the roots of *Scutellaria baicalensis* Georgi against hydrogen peroxide-induced oxidative stress in HS-SY5Y cells. *Pharmacol. Res.* 43, 173–178.
- Geller, B.L. and Winge, D.R., 1982. Rat liver Cu,Zn-superoxide dismutase. Subcellular location in lysosomes. *J. Biol. Chem.* 257, 8945–8952.
- German, J.B., 1997. Nutritional studies of flavonoids in wine. in: Rice-Evans, C.A. and Packer, L., (Eds.), *Flavonoids in health and disease*, Marcel Dekker, New York, USA, p. 343–358.
- Giampieri, F., et al., 2012. The strawberry: Composition, nutritional quality, and impact on human health. *Nutrition* 28, 9–19.
- Gibson, G., et al., 2017. Expert consensus document: The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of prebiotics. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* 14, 491–502.
- Gođevac, D., et al., 2009. Antioxidant properties of raspberry seed extracts on micronucleus distribution in peripheral blood lymphocytes. *Food Chem. Toxicol.* 47, 2853–2859.
- Gomes-Rochette, N.F., et al., 2016. Fruit as potent natural antioxidants and their biological effects. *Curr. Pharm. Biotechnol.* 17, 986–993.
- González-Gómez, D., et al., 2010. Sweet cherry phytochemicals: Identification and characterization by HPLC-DAD/ESI-MS in six sweet-cherry cultivars grown in Valle del Jerte (Spain). *J. Food Compos. Anal.* 23, 533–539.
- González-Sarrías, A., et al., 2017. Neuroprotective effects of bioavailable polyphenol-derived metabolites against oxidative stress-induced cytotoxicity in human neuroblastoma SH-SY5Y cells. *J. Agric. Food Chem.* 65, 752–758.
- Gorjanović, S.Ž., et al., 2010. Antioxidant activity of wines determined by a polarographic assay based on hydrogen peroxide scavenge. *J. Agric. Food Chem.* 58, 4626–4631.
- Góth, L., 1987. No catalase isoenzymes in serum. *Clin. Chem.* 33, 2302 LP-2303.
- Granato, T.M., et al., 2010. Molecular basis of the interaction between proteins of plant origin and proanthocyanidins in a model wine system. *J. Agric. Food Chem.* 58, 11969–11976.
- Grivetti, L.E., 1991. Nutrition past—nutrition today prescientific origins of nutrition and dietetics. *Nutr. Today* 26.
- Gronbaek, M., et al., 1995. Mortality associated with moderate intakes of wine, beer, or spirits. *BMJ* 310, 1165 LP-1169.
- Grunovaitė, L., et al., 2016. Fractionation of black chokeberry pomace into functional ingredients using high pressure extraction methods and evaluation of their antioxidant capacity and chemical composition. *J. Funct. Foods* 24, 85–96.
- Gu, L., et al., 2003. Screening of foods containing proanthocyanidins and their structural characterization using LC-MS/MS and thiolytic degradation. *J. Agric. Food Chem.* 51, 7513–7521.
- Guemouri, L., et al., 1991. Biological in blood variability of superoxide glutathione and catalase. *Clin. Chem.* 37, 1932–1937.
- Guerrero-Chavez, G., et al., 2015. Influence of the site altitude on strawberry phenolic composition and quality. *Sci. Hortic. (Amsterdam)*. 192, 21–28.
- Gumienna, M., et al., 2011. Bioconversion of grape and chokeberry wine polyphenols during simulated gastrointestinal in vitro digestion. *Int. J. Food Sci. Nutr.* 62, 226–233.
- Guyot, S., et al., 2003. Variability of the polyphenolic composition of cider apple (*Malus domestica*) fruits and juices. *J. Agric. Food Chem.* 51, 6240–6247.
- Habtemariam, S. and Varghese, G.K., 2014. The antidiabetic therapeutic potential of dietary polyphenols. *Curr. Pharm. Biotechnol.* 15, 391–400.
- Haddock, E.A., et al., 1982. The metabolism of gallic acid and hexahydroxydiphenic acid in plants:

- Biogenetic and molecular taxonomic considerations. *Phytochemistry* 21, 1049–1062.
- Hafeez, K., et al., 2017. Phytochemical screening, alpha-glucosidase inhibition, antibacterial and antioxidant potential of *Ajuga bracteosa* extracts. *Curr. Pharm. Biotechnol.* 18, 336–342.
- Häkkinen, S., et al., 1999a. Screening of selected flavonoids and phenolic acids in 19 berries. *Food Res. Int.* 32, 345–353.
- Häkkinen, S., et al., 1999b. Content of the flavonols quercetin, myricetin, and kaempferol in 25 edible berries. *J. Agric. Food Chem.* 47, 2274–2279.
- Halliwell, B. and Gutteridge, J.C., 1984. Lipid peroxidation, oxygen radicals, cell damage, and antioxidant therapy. *Lancet* 323, 1396–1397.
- Halliwell, B., 1988. Albumin—An important extracellular antioxidant? *Biochem. Pharmacol.* 37, 569–571.
- Halliwell, B., 1990. How to characterize a biological antioxidant. *Free Radic. Res. Commun.* 9, 1–32.
- Halliwell, B., 2008. Are polyphenols antioxidants or pro-oxidants? What do we learn from cell culture and in vivo studies? *Arch. Biochem. Biophys.* 476, 107–112.
- Halliwell, B., et al., 2005. Health promotion by flavonoids, tocopherols, tocotrienols, and other phenols: direct or indirect effects? Antioxidant or not? *Am. J. Clin. Nutr.* 81, 268S–276S.
- Halvorsen, B.L., et al., 2002. A systematic screening of total antioxidants in dietary plants. *J. Nutr.* 132, 461–471.
- Harborne, J.B., 1988. The flavonoids: recent advances. in: Goodwin, T.W., (Eds.), *Plant pigments*. Academic Press, London, England, p. 299–343.
- Heinonen, I.M., et al., 1998. Antioxidant activity of berry and fruit wines and liquors. *J. Agric. Food Chem.* 46, 25–31.
- Hemmerle, H., et al., 1997. Chlorogenic acid and synthetic chlorogenic acid derivatives: novel inhibitors of hepatic glucose-6-phosphate translocase. *J. Med. Chem.* 40, 137–145.
- Hendrickson, D.J., et al., 1990. Regional localization of human extracellular superoxide dismutase gene to 4pter-q21. *Genomics* 8, 736–738.
- Herrera, E., et al., 2009. Aspects of antioxidant foods and supplements in health and disease. *Nutr. Rev.* 67, S140–S144.
- Hertog, M.G.L., et al., 1992a. Content of potentially anticarcinogenic flavonoids of 28 vegetables and 9 fruits commonly consumed in the Netherlands. *J. Agric. Food Chem.* 40, 2379–2383.
- Hertog, M.G.L., et al., 1992b. Optimization of a quantitative HPLC determination of potentially anticarcinogenic flavonoids in vegetables and fruits. *J. Agric. Food Chem.* 40, 1591–1598.
- Hertog, M.G.L., et al., 1993a. Dietary antioxidant flavonoids and risk of coronary heart disease: the Zutphen Elderly Study. *Lancet* 342, 1007–1011.
- Hertog, M.G.L., et al., 1993b. Content of potentially anticarcinogenic flavonoids of tea infusions, wines, and fruit juices. *J. Agric. Food Chem.* 41, 1242–1246.
- Hertog, M.L., et al., 1995. Flavonoid intake and long-term risk of coronary heart disease and cancer in the seven countries study. *Arch. Intern. Med.* 155, 381–386.
- Hollman, P.C.H., et al., 1999. The sugar moiety is a major determinant of the absorption of dietary flavonoid glycosides in man. *Free Radic. Res.* 31, 569–573.
- Hollman, P.C.H. and Katan, M.B., 1999. Dietary flavonoids: intake, health effects and bioavailability. *Food Chem. Toxicol.* 37, 937–942.
- Hossain, S.J., et al., 2008. Total phenolic content, antioxidative, anti-amylase, anti-glucosidase, and antihistamine release activities of Bangladeshi fruits. *Food Sci. Technol. Res.* 14, 261–268.
- Huang, K.-F., et al., 2008. A conserved hydrogen-bond network in the catalytic centre of animal glutaminyl cyclases is critical for catalysis. *Biochem. J.* 411, 181–190.
- Hung, H.-C., et al., 2004. Fruit and vegetable intake and risk of major chronic disease. *JNCI J. Natl. Cancer Inst.* 96, 1577–1584.
- Ighodaro, O.M. and Akinloye, O.A., 2017. First line defence antioxidants-superoxide dismutase

- (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPx): Their fundamental role in the entire antioxidant defence grid. *Alexandria J. Med.* 1–7.
- Igual, M., et al., 2012. Effect of processing on the drying kinetics and functional value of dried apricot. *Food Res. Int.* 47, 284–290.
- Ishikawa, T., et al., 1987. Isolation and characterization of basic superoxide dismutase consisting of Mr.-25000 subunits in rat liver. *Eur. J. Biochem.* 170, 317–323.
- Jabs, T., 1999. Reactive oxygen intermediates as mediators of programmed cell death in plants and animals. *Biochem. Pharmacol.* 57, 231–245.
- Jaganath, I., 2008. Overview of health - promoting compounds in fruit and vegetables. in: Tomás-Barberán, F.A., Gil, M.I. (Eds.), *Improving the health - promoting properties of fruit and vegetable products*. CRC Press, Boca Raton, FL, pp. 3 – 37 .
- Jackson, D. and Looney, N., 1999. Stone fruits. in: Jackson, D.I., and Looney, N.E., (Eds.), *Temperate and subtropical fruit production*. CABI Publishing, Wallingford, UK, p. 180.
- Jakobek, L., et al., 2009. Flavonol and phenolic acid composition of sweet cherries (cv. Lapins) produced on six different vegetative rootstocks. *Sci. Hortic. (Amsterdam)*. 123, 23–28.
- Jeong, J.-H., et al., 2010. Anti-oxidant, anti-proliferative and anti-inflammatory activities of the extracts from black raspberry fruits and wine. *Food Chem.* 123, 338–344.
- Jia, N., et al., 2014. Protective effects of black currant (*Ribes nigrum* L.) extract on hydrogen peroxide-induced damage in lung fibroblast MRC-5 cells in relation to the antioxidant activity. *J. Funct. Foods* 11, 142–151.
- Jindal, P.C., 1990. Grape, in: Bose, T.K., Mitra, S.K. (Eds.), *Fruits, tropical and sub-tropical*. Naya Prakashan, Calcutta, p. 85.
- Jocković, N., et al., 2013. Inhibition of human intestinal α -glucosidases by calystegines. *J. Agric. Food Chem.* 61, 5550–5557.
- Joh, Y. and McGlynn, W.G., 2019. Phenolic profile of blackberry wine produced using Korean winemaking techniques in earthenware jars. *J. Inst. Brew.* 125, 118–124.
- Johnson, M.H. and Gonzalez de Mejia E., 2011. Comparison of chemical composition and antioxidant capacity of commercially available blueberry and blackberry wines in Illinois. *J. Food Sci.* 77, C141–C148.
- Johnson, M.H., et al., 2011. Cultivar evaluation and effect of fermentation on antioxidant capacity and in vitro inhibition of α -amylase and α -glucosidase by Highbush blueberry (*Vaccinium corombosum*). *J. Agric. Food Chem.* 59, 8923–8930.
- Joshi, V.K., et al., 1999. Composition and nutrition of fermented products, in: Joshi, V.K., Pandey, A. (Eds.), *Biotechnology: food fermentation*, vol. I. Educational Publishers and Distributors, New Delhi, pp. 259–320.
- Joshi, V.K., 2009. Production of wines from non-grape fruit. *Nat. Prod. Radiance* 94, 313–469. Special Issue. NISCARE, New Delhi.
- Joshi, V.K., et al., 2005. Evaluation of different peach cultivars for wine preparation. *J. Food Sci. Technol.* 42, 83–89.
- Ju, H.K., et al., 2009. Characterization of increased phenolic compounds from fermented Bokbunja (*Rubus coreanus* Miq.) and related antioxidant activity. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 49, 820–827.
- Jung, U.J., et al., 2006. Antihyperglycemic and antioxidant properties of caffeic acid in db/db Mice. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 318, 476 LP-483.
- Junli, Y., et al., 2009. Cytoprotective effect of polypeptide from *Chlamys farreri* on neuroblastoma (SH-SY5Y) cells following H₂O₂ exposure involves scavenging ROS and inhibition JNK phosphorylation. *J. Neurochem.* 111, 441–451.
- Jurikova, T., et al., 2017. Fruits of black chokeberry *Aronia melanocarpa* in the prevention of chronic diseases. *Molecules* 22, 944.
- Justesen, U., et al., 1998. Quantitative analysis of flavonols, flavones, and flavanones in fruits, vegetables and beverages by high-performance liquid chromatography with photo-diode array

- and mass spectrometric detection. *J. Chromatogr. A* 799, 101–110.
- Kähkönen, M.P., et al., 2001. Berry phenolics and their antioxidant activity. *J. Agric. Food Chem.* 49, 4076–4082.
- Kalkan Yildirim, H., 2006. Evaluation of colour parameters and antioxidant activities of fruit wines. *Int. J. Food Sci. Nutr.* 57, 47–63.
- Kang, B.T., et al., 2008. Antioxidant and antiviral activities of polyphenolics in plum wine. *Korean. Food Preser.* 15, 891–896.
- Kardum, N., et al., 2014. Effects of polyphenol-rich chokeberry juice on cellular antioxidant enzymes and membrane lipid status in healthy women. *J. Funct. Foods* 9, 89–97.
- Katalinić, V., et al., 2004. Antioxidant effectiveness of selected wines in comparison with (+)-catechin. *Food Chem.* 86, 593–600.
- Kaulmann, A., et al., 2014. Carotenoids, polyphenols and micronutrient profiles of Brassica oleraceae and plum varieties and their contribution to measures of total antioxidant capacity. *Food Chem.* 155, 240–250.
- Kaur, C. and Kapoor, H.C., 2008. Antioxidants in fruits and vegetables – the millennium’s health. *Int. J. Food Sci. Technol.* 36, 703–725.
- Kelsey, N., et al., 2011. Neuroprotective effects of anthocyanins on apoptosis induced by mitochondrial oxidative stress. *Nutr. Neurosci.* 14, 249–259.
- Keservani, R.K., et al., 2016. Medicinal effect of nutraceutical fruits for the cognition and brain health. *Scientifica*, Article ID 3109254, 10 pages.
- Khallouki, F., et al., 2012. Phytochemical composition and antioxidant capacity of various botanical parts of the fruits of *Prunus×domestica* L. from the Lorraine region of Europe. *Food Chem.* 133, 697–706.
- Khumalo, K.N., et al., 2017. Effect of thyme oil vapour exposure on the brown rot infection, phenylalanine ammonia-lyase (PAL) activity, phenolic content and antioxidant activity in red and yellow skin peach cultivars. *Sci. Hortic. (Amsterdam)*. 214, 195–199.
- Kim, M.S. and Akera, T., 1987. O₂ free radicals: cause of ischemia-reperfusion injury to cardiac Na⁺-K⁺-ATPase. *Am. J. Physiol. Circ. Physiol.* 252, H252–H257.
- Kim, J. S., et al., 2000. Inhibition of alpha-glucosidase and amylase by luteolin, a flavonoid. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 64, 2458–2461.
- Klarić, D.A., et al., 2011. Polyphenol content and antioxidant activity of commercial blackberry wines from Croatia: Application of multivariate analysis for geographic origin differentiation. *J. Food Nutr. Res.* 50, 199–209.
- Klatsky, A.L. and Armstrong, M.A., 1993. Alcoholic beverage choice and risk of coronary artery disease mortality: Do red wine drinkers fare best? *Am. J. Cardiol.* 71, 467–469.
- Klopotek, Y., et al., 2005. Processing strawberries to different products alters contents of vitamin c, total phenolics, total anthocyanins, and antioxidant capacity. *J. Agric. Food Chem.* 53, 5640–5646.
- Koponen, J.M., et al., 2007. Contents of anthocyanins and ellagitannins in selected foods consumed in Finland. *J. Agric. Food Chem.* 55, 1612–1619.
- Korsmeyer, S.J., et al., 1995. Reactive oxygen species and the regulation of cell death by the Bcl-2 gene family. *Biochim. Biophys. Acta* 1271, 63–66.
- Krikorian, R., et al., 2011. Blueberry supplementation improves memory in older adults. 58, 3996–4000.
- Ku, C.S. and Mun, S.P., 2008. Optimization of the extraction of anthocyanin from Bokbunja (*Rubus coreanus* Miq.) marc produced during traditional wine processing and characterization of the extracts. *Bioresour. Technol.* 99, 8325–8330.
- Kurin, E., et al., 2012. In vitro antioxidant activities of three red wine polyphenols and their mixtures: an interaction study. *Molecules* 17, 14336–14348
- Kurobe, N., et al., 1990. Sensitive enzyme immunoassay for human Cu/Zn superoxide dismutase.

- Clin. Chim. Acta 187, 11–20.
- Kusuma, I.W., et al., 2018. A new 4-arylflavan from the pericarps of *Horsfieldia motleyi* displaying dual inhibition against α -glucosidase and free radicals. *Nat. Prod. Res.* 32, 2676–2682.
- Kwon, Y.I., et al., 2006. Evaluation of clonal herbs of Lamiaceae species for management of diabetes and hypertension. *Asia Pac. J. Clin. Nutr.* 15, 107–118.
- Kwon, Y. I., et al., 2008. Inhibitory potential of wine and tea against α -amylase and α -glucosidase for management of hyperglycemia linked to type 2 diabetes. *J. Food Biochem.* 32, 15–31.
- Lachowicz, S., et al., 2017. The influence of yeast type and storage temperature on content of phenolic compounds, antioxidant activity, colour and sensory attributes of chokeberry wine. *Eur. Food Res. Technol.* 243, 2199–2209.
- Lamport, D.J., et al., 2014. Fruits, vegetables, 100% juices, and cognitive function. *Nutr. Rev.* 72, 774–789.
- Laranjinha, J.A.N., et al., 1994. Reactivity of dietary phenolic acids with peroxy radicals: Antioxidant activity upon low density lipoprotein peroxidation. *Biochem. Pharmacol.* 48, 487–494.
- Lätti, A.K., et al., 2008. Analysis of anthocyanin variation in wild populations of bilberry (*Vaccinium myrtillus* L.) in Finland. *J. Agric. Food Chem.* 56, 190–196.
- Laughton, M.J., et al., 1991. Inhibition of mammalian 5-lipoxygenase and cyclo-oxygenase by flavonoids and phenolic dietary additives: Relationship to antioxidant activity and to iron ion-reducing ability. *Biochem. Pharmacol.* 42, 1673–1681.
- Laurindo, F.R., L., et al., 1991. Evidence for superoxide radical-dependent coronary vasospasm after angioplasty in intact dogs. *Circulation* 83, 1705–1715.
- Lavelli, V., et al., 2016. Grape skin phenolics as inhibitors of mammalian α -glucosidase and α -amylase - effect of food matrix and processing on efficacy. *Food Funct.* 7, 1655–1663.
- Lee, J.-H., et al., 2013. Evaluation of physicochemical properties and fermenting qualities of apple wines added with medicinal herbs. *Food Sci. Biotechnol.* 22, 1039–1046.
- Lehtonen, P.J., et al., 1999. HPLC determination of phenolic compounds in berry and fruit wines and liqueurs. *Wein Wissenschaft Viticultural and Enological Sciences* 54, 33–38.
- Levaj, B., et al., 2010. Polyphenols and volatiles in fruits of two sour cherry cultivars, some berry fruits and their jams. *Food Technol. Biotech.* 48, 538–547.
- Lim, J.W., et al., 2012. Component analysis and sensory evaluation of Korean black raspberry (*Rubus coreanus* Mique) wines. *Int. J. Food Sci. Technol.* 47, 918–926.
- Lingua, M.S., et al., 2016. In vivo antioxidant activity of grape, pomace and wine from three red varieties grown in Argentina: Its relationship to phenolic profile. *J. Funct. Foods* 20, 332–345.
- Liu, H., et al., 2015a. Evaluation of physicochemical and antioxidant activity changes during fruit on-tree ripening for the potential values of unripe peaches. *Sci. Hortic. (Amsterdam)*. 193, 32–39.
- Liu, H., et al., 2015b. Evaluation and comparison of vitamin C, phenolic compounds, antioxidant properties and metal chelating activity of pulp and peel from selected peach cultivars. *LWT - Food Sci. Technol.* 63, 1042–1048.
- Liu, H., et al., 2018. A combination of 1-methylcyclopropene treatment and intermittent warming alleviates chilling injury and affects phenolics and antioxidant activity of peach fruit during storage. *Sci. Hortic. (Amsterdam)*. 229, 175–181.
- Liu, I.-M., et al., 2000. Antihyperglycemic action of isoferulic acid in streptozotocin-induced diabetic rats. *Br. J. Pharmacol.* 129, 631–636.
- Ljevar, A., et al., 2016. Phenolic composition, antioxidant capacity and in vitro cytotoxicity assessment of fruit wines. *Food Technol. Biotechnol.* 54, 145–155.
- Lobo, V., et al., 2010. Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. *Pharmacogn. Rev.* 4, 118–126.
- Lowry, O.H., et al., 1951. Protein measurement with the folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* 193,

265–275.

- Lugast, A. and Hóvári, J., 2000. Flavonoid aglycons in foods of plant origin i. vegetables. *Acta Aliment.* 29, 345–352.
- Macheix, J.J., et al., 1990. *Fruit phenolics*, CRC Press, Boca Raton, USA.
- Madrera, R.R., et al., 2006. Phenolic profile of Asturian (Spain) natural cider. *J. Agric. Food Chem.* 54, 120–124.
- MAF, 2011. Wine Standards Management Plan Code of Practice for Fruit Wine, Cider and Mead. Ministry of Agriculture and Forestry. Manager, Food Standards. New Zealand Standards Group. <http://foodsafety.govt.nz/elibrary/industry/wine-standards-management-wsmc-cop-fwcm/cop.pdf>.
- Manach, C., et al., 2004. Polyphenols: food sources and bioavailability. *Am. J. Clin. Nutr.* 79, 727–747.
- Mandave, P.C., et al., 2014. Comprehensive evaluation of in vitro antioxidant activity, total phenols and chemical profiles of two commercially important strawberry varieties. *Sci. Hortic. (Amsterdam)*. 172, 124–134.
- Markwell, M.A.K., et al., 1978. A modification of the Lowry procedure to simplify protein determination in membrane and lipoprotein samples. *Anal. Biochem.* 87, 206–210.
- Martin, G.E., et al., 1971. Determination of fixed acids in commercial wines by gas-liquid chromatography. *J. Agric. Food Chem.* 19, 995–998.
- Martin, L.J. and Matar, C., 2005. Increase of antioxidant capacity of the lowbush blueberry (*Vaccinium angustifolium*) during fermentation by a novel bacterium from the fruit microflora. *J. Sci. Food Agric.* 85, 1477–1484.
- Martín, S., et al., 2011. Neuroprotective properties of Spanish red wine and its isolated polyphenols on astrocytes. *Food Chem.* 128, 40–48.
- Martín, S., et al., 2013. Protective effects of Merlot red wine extract and its major polyphenols in Pc12 cells under oxidative stress conditions. *J. Food Sci.* 78, 112–118.
- Martini, S., et al., 2017. Phenolic compounds profile and antioxidant properties of six sweet cherry (*Prunus avium*) cultivars. *Food Res. Int.* 97, 15–26.
- Masayoshi, I., et al., 1984. Effect of flavonoids on α -glucosidase and β -fructosidase from yeast. *Agric. Biol. Chem.* 48, 1559–1563.
- Mattila, P., et al., 2006. Phenolic acids in berries, fruits, and beverages. *J. Agric. Food Chem.* 54, 7193–7199.
- Mattila, P. and Kumpulainen, J., 2002. Determination of free and total phenolic acids in plant-derived foods by HPLC with diode-array detection. *J. Agric. Food Chem.* 50, 3660–3667.
- Mazza, G., 2005. Compositional and functional properties of saskatoon berry and blueberry. *Int. J. Fruit Sci.* 5, 101–120.
- Mazza, G. and Velioglu, Y.S., 1992. Anthocyanins and other phenolic compounds in fruits of red-flesh apples. *Food Chem.* 43, 113–117.
- McCue, P., et al., 2005. Anti-amylase, anti-glucosidase and anti angiotensin I converting enzyme potential of selected foods. *J. Food Biochem.* 29, 278–294
- McDonald, M.S., et al., 1998. Survey of the free and conjugated myricetin and quercetin content of red wines of different geographical origins. *J. Agric. Food Chem.* 46, 368–375.
- McDougall, G.J., et al., 2005. Different polyphenolic components of soft fruits inhibit α -amylase and α -glucosidase. *J. Agric. Food Chem.* 53, 2760–2766.
- McGovern, P.E., 2003. *Ancient wine: the search for the origins of viniculture*, Princeton university press, Princeton, New Jersey.
- Mecocci, P., et al., 2014. Nutraceuticals in cognitive impairment and Alzheimer's disease. *Front. Pharmacol.* 5, 147.
- Mendes, D., et al., 2018. Beneficial effects of white wine polyphenols-enriched diet on Alzheimer's disease-like pathology. *J. Nutr. Biochem.* 55, 165–177.

- Mertz, C., et al., 2007. Analysis of phenolic compounds in two blackberry species (*Rubus glaucus* and *Rubus adenotrichus*) by high-performance liquid chromatography with diode array detection and electrospray ion trap mass spectrometry. *J. Agric. Food Chem.* 55, 8616–8624.
- Meyer, A.S., et al., 1998a. Fruit hydroxycinnamic acids inhibit human low-density lipoprotein oxidation in vitro. *J. Agric. Food Chem.* 46, 1783–1787.
- Meyer, A.S., et al., 1998b. Antioxidant interactions of catechin, cyanidin, caffeic acid, quercetin, and ellagic acid on human LDL oxidation. *Food Chem.* 61, 71–75
- Mikulic-Petkovsek, M., et al., 2012. Composition of sugars, organic acids, and total phenolics in 25 wild or cultivated berry species. *J. Food Sci.* 77, C1064–C1070.
- Milala, J., et al., 2013. Plum pomaces as a potential source of dietary fibre: composition and antioxidant properties. *J. Food Sci. Technol.* 50, 1012–1017.
- Milivojević, J., et al., 2011. Chemical and antioxidant properties of cultivated and wild fragaria and rubus berries. *J. Food Qual.* 34, 1–9.
- Miljić, U., et al., 2017. Phenolic compounds, chromatic characteristics and antiradical activity of plum wines. *Int. J. Food Prop.* 20, 2022–2033.
- Miller, M.G. and Shukitt-Hale, B., 2012. Berry fruit enhances beneficial signaling in the brain. *J. Agric. Food Chem.* 60, 5709–5715.
- Milovanovic, M., et al., 2019. A novel method for classification of wine based on organic acids. *Food Chem.* 284, 296–302.
- Misra, H.P. and Fridovich, I., 1972. The role of superoxide anion in the autoxidation of epinephrine and a simple assay for superoxide dismutase. *J. Biol. Chem.* 247, 3170–3175.
- Mitić, M.N., et al., 2013. Free radical scavenging activity and phenolic profile of selected serbian red fruit wines. *Rev. Chim.* 64, 68–73.
- Mitic, V., et al., 2014. Chemometric analysis of antioxidant activity and anthocyanin content of selected wild and cultivated small fruit from Serbia. *Fruits* 69, 413–422.
- Moreno-Arribas, M.V. and Polo, M.C., 2005. Winemaking biochemistry and microbiology: current knowledge and future trends. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 45, 265–286.
- Mortaş, H. and Şanlıer, N., 2017. Nutritional evaluation of commonly consumed berries: composition and health effects. *Fruits* 72, 5–23.
- Mosel, H.-D. and Herrmann, K., 1974. Die phenolischen Inhaltsstoffe des Obstes IV. Die phenolischen Inhaltsstoffe der Brombeeren und Himbeeren und deren Veränderungen während Wachstum und Reife der Früchte. *Zeitschrift für Leb. und Forsch.* 154, 324–327.
- Moyer, R.A., et al., 2002. Anthocyanins, Phenolics, and antioxidant capacity in diverse small fruits: vaccinium, rubus, and ribes. *J. Agric. Food Chem.* 50, 519–525.
- Mudnic, I., et al., 2012. antioxidant and vasodilatory effects of blackberry and grape wines. *J. Med. Food* 15, 315–321.
- Mudnic, I., et al., 2010. Antioxidative and vasodilatory effects of phenolic acids in wine. *Food Chem.* 119, 1205–1210.
- Mullen, W., et al., 2008. Bioavailability of pelargonidin-3-o-glucoside and its metabolites in humans following the ingestion of strawberries with and without cream. *J. Agric. Food Chem.* 56, 713–719.
- Murota, K., et al., 2018. Flavonoid metabolism: the interaction of metabolites and gut microbiota. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 82, 600–610.
- Negi, B. and Dey, G., 2009. Comparative analysis of total phenolic content in sea buckthorn wine and other. *World Acad. Sci. Eng. Technol.* 3, 350–353.
- Nègre-Salvayre, A. and Salvayre, R., 1992. Quercetin prevents the cytotoxicity of oxidized LDL on lymphoid cell lines. *Free Radic. Biol. Med.* 12, 101–106.
- Nijveldt, R.J., et al., 2001. Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications. *Am. J. Clin. Nutr.* 74, 418–425.
- Niu, Y., et al., 2012. Characterization of taste-active compounds of various cherry wines and their

- correlation with sensory attributes. *J. Chromatogr. B* 902, 55–60.
- Noguer, M.A., et al., 2012. Intake of alcohol-free red wine modulates antioxidant enzyme activities in a human intervention study. *Pharmacol. Res.* 65, 609–614.
- Nowicka, P., et al., 2016. Evaluation of phytochemicals, antioxidant capacity, and antidiabetic activity of novel smoothies from selected *Prunus* fruits. *J. Funct. Foods* 25, 397–407.
- Oboh, G., et al., 2016. Influence of gallic acid on α -amylase and α -glucosidase inhibitory properties of acarbose. *J. Food Drug Anal.* 24, 627–634.
- OIV, 2015. Organisation Internationale de la vigne et du vin. Compendium of international methods of wine and must analysis. Edition 2015, vols. 1 and 2. OIV, Paris, France.
- Okigbo, R.N., 2003. Fermentation of black plum (*Vitex doniana* Sweet) juice for production of wine. *Fruits* 58, 363–369.
- Oliveira, A. and Pintado, M., 2015. Stability of polyphenols and carotenoids in strawberry and peach yoghurt throughout in vitro gastrointestinal digestion. *Food Funct.* 6, 1611–1619.
- Oliveira, M.E.S., et al., 2011. Fruit wine produced from cagaita (*Eugenia dysenterica* DC) by both free and immobilised yeast cell fermentation. *Food Res. Int.* 44, 2391–2400.
- Oury, T.D., et al., 1996. Extracellular superoxide dismutase in vessels and airways of humans and baboons. *Free Radic. Biol. Med.* 20, 957–965.
- Pantelić, M., et al., 2014. Chemical characterization of fruit wine made from Oblačinska sour cherry. *Sci. World J.* Article ID 454797.
- Pantelidis, G.E., et al., 2007. Antioxidant capacity, phenol, anthocyanin and ascorbic acid contents in raspberries, blackberries, red currants, gooseberries and Cornelian cherries. *Food Chem.* 102, 777–783.
- Pellegrini, N., et al., 2003. Total antioxidant capacity of plant foods, beverages and oils consumed in Italy assessed by three different in vitro assays 1. *J. Nutr.* 133, 2812–2819.
- Pietta, P.G., 2000. Flavonoids as antioxidants. *J. Nat. Prod.* 63, 1035–1042.
- Pinhero, R.G. and Paliyath, G., 2001. Antioxidant and calmodulin-inhibitory activities of phenolic components in fruit wines and its biotechnological implications. *Food Biotechnol.* 15, 179–192.
- Polášková, P., et al., 2008. Wine flavor: chemistry in a glass. *Chem. Soc. Rev.* 37, 2478–2489.
- Potipiranun, T., et al., 2018. Lamesticumin G, a new α -glucosidase inhibitor from the fruit peels of *Lansium parasiticum*. *Nat. Prod. Res.* 32, 1881–1886.
- Price, S.F., et al., 1994. Wine phenolic responses to cluster sun exposure, ASEV Tech. Abstr. p. 4.
- Prinz, H., 2010. Hill coefficients, dose–response curves and allosteric mechanisms. *J. Chem. Biol.* 3, 37–44. <https://doi.org/10.1007/s12154-009-0029-3>
- Prior, R.L., et al., 1998. Antioxidant capacity as influenced by total phenolic and anthocyanin content, maturity, and variety of *Vaccinium* species. *J. Agric. Food Chem.* 46, 2686–2693.
- Procházková, D., et al., 2011. Antioxidant and prooxidant properties of flavonoids. *Fitoterapia* 82, 513–523.
- Punithavathi, V.R., et al., 2011. Antihyperglycaemic, antilipid peroxidative and antioxidant effects of gallic acid on streptozotocin induced diabetic Wistar rats. *Eur. J. Pharmacol.* 650, 465–471.
- Radtke, J., et al., 1998. Phenolsäurezufuhr Erwachsener in einem bayerischen Teilkollektiv der Nationalen Verzehrsstudie. *Eur. J. Nutr.* 37, 190–197.
- Rahman, K., 2007. Studies on free radicals, antioxidants, and co-factors. *Clin. Interv. Aging* 2, 219–236.
- Rajagopalan, S., et al., 1996. Angiotensin II-mediated hypertension in the rat increases vascular superoxide production via membrane NADH/NADPH oxidase activation. Contribution to alterations of vasomotor tone. *J. Clin. Invest.* 97, 1916–1923.
- Ribéreau-Gayon, P., Glories, Y., Maujean, A., Dubourdieu, D., 2006b. Handbook of Enology. The Chemistry of Wine Stabilization and Treatment, vol. 2. John Wiley and Sons.
- Robards, K., et al., 1999. Phenolic compounds and their role in oxidative processes in fruits. *Food*

- Chem. 66, 401–436.
- Rodrigo, R. and Libuy, M., 2014. Modulation of plant endogenous antioxidant systems by polyphenols. in: Watson, R.R. (Ed.), Polyphenols in plants. Academic Press, San Diego, USA, pp. 65–85.
- Rodrigo, R., et al., 2014. Polyphenols in Disease: from diet to supplements. *Curr. Pharm. Biotechnol.* 15, 304–317.
- Romanucci, V., et al., 2016. Bioactive compounds of *Aristotelia chilensis* Stuntz and their pharmacological effects. *Curr. Pharm. Biotechnol.*, 17, 513-523.
- Routray, W. and Orsat, V., 2011. Blueberries and their anthocyanins: factors affecting biosynthesis and properties. *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.* 10, 303–320.
- Rupasinghe, H.P.V. and Clegg, S., 2007. Total antioxidant capacity, total phenolic content, mineral elements, and histamine concentrations in wines of different fruit sources. *J. Food Compos. Anal.* 20, 133–137.
- Ryan, J.J. and Dupont, J.A., 1973. Identification and analysis of the major acids from fruit juices and wines. *J. Agric. Food Chem.* 21, 45–49.
- Saidani, F., et al., 2017. Phenolic, sugar and acid profiles and the antioxidant composition in the peel and pulp of peach fruits. *J. Food Compos. Anal.* 62, 126–133.
- Sánchez-Moreno, C., et al., 2003. Anthocyanin and proanthocyanidin content in selected white and red wines. oxygen radical absorbance capacity comparison with nontraditional wines obtained from Highbush blueberry. *J. Agric. Food Chem.* 51, 4889–4896.
- Sangiovanni, E., et al., 2013. Ellagitannins from Rubus Berries for the Control of Gastric Inflammation: In Vitro and In Vivo Studies. *PLoS One* 8, 1–12.
- Santos, R.O., et al., 2016. Physicochemical, antioxidant and sensory quality of Brazilian Blueberry Wine. *An. Acad. Bras. Cienc.* 88, 1557–1568.
- Sarkar, D., et al., 2016. Evaluation of phenolic bioactive-linked functionality of blackberry cultivars targeting dietary management of early stages type-2 diabetes using in vitro models. *Sci. Hortic. (Amsterdam)*. 212, 193–202.
- Sawa, T., et al., 1999. Alkylperoxyl radical-scavenging activity of various flavonoids and other phenolic compounds: implications for the anti-tumor-promoter effect of vegetables. *J. Agric. Food Chem.* 47, 397–402.
- Scalbert, A., et al., 2005. Dietary Polyphenols and the prevention of diseases. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 45, 287–306.
- Shahidi, F and Naczk, M., 1995. Food phenolics, sources, chemistry, effects, applications. Technomic Publishing Co Inc, Lancaster, Pennsylvania
- Shahidi, F., 2009. Nutraceuticals and functional foods: whole versus processed foods. *Trends Food Sci. Technol.* 20, 376–387.
- Shahidi, F. and Ambigaipalan, P., 2015. Phenolics and polyphenolics in foods, beverages and spices: Antioxidant activity and health effects – A review. *J. Funct. Foods* 18, 820–897.
- Shukitt-Hale, B., et al., 2008. Berry fruit supplementation and the aging brain. *J. Agric. Food Chem.* 56, 636–641.
- Simos, Y. V., et al., 2012. Effects of catechin and epicatechin on superoxide dismutase and glutathione peroxidase activity, in vivo. *Redox Rep.* 17, 181–186.
- Singh, A., et al., 2011. The genetic variability, inheritance and inter-relationships of ascorbic acid, β -carotene, phenol and anthocyanin content in strawberry (*Fragaria* × *ananassa* Duch.). *Sci. Hortic. (Amsterdam)*. 129, 86–90.
- Siriwoharn, T. and Wrolstad, R.E., 2006. Polyphenolic composition of Marion and Evergreen blackberries. *J. Food Sci.* 69, FCT233-FCT240.
- Skrovankova, S., et al., 2015. Bioactive compounds and antioxidant activity in different types of berries. *Int J Mol Sci.* 16, 24673–24706.
- Sójka, M., et al., 2015. Composition and properties of the polyphenolic extracts obtained from

- industrial plum pomaces. *J. Funct. Foods* 12, 168–178.
- Spribille, R. and Forkmann G., 1984. Conversion of dihydroflavonols to flavonols with enzyme extracts from flower buds of *Matthiola incana* R. Br. *Z Naturfo C.* 39c, 714–719.
- Srikanta, A.H., et al., 2016. The antioxidant effect of mulberry and jamun fruit wines by ameliorating oxidative stress in streptozotocin-induced diabetic Wistar rats. *Food Funct.* 7, 4422–4431.
- Stadtman, T.C., 1991. Biosynthesis and function of selenocysteine-containing enzymes. *J. Biol. Chem.* 266, 16257–16260.
- Steinberg, D. and Witztum, J.L., 1990. Lipoproteins and atherogenesis: current concepts. *JAMA* 264, 3047–3052.
- Stockley, C., 2011. Therapeutic value of wine: a clinical and scientific perspective. in: Joshi, V.K. (Eds.), *Handbook of Enology: principles, practices and recent innovations*, vol. 1. Asiatech Publishers, Inc., New Delhi, pp. 146–208.
- Stöhr, H. and Herrmann, K., 1975. Die phenolischen Inhaltsstoffe des Obstes. *Zeitschrift für Leb. und Forsch.* 159, 31–37.
- Strack, D., 1997. Phenolic metabolism. in: Dey, P.M. and Harborne, J.B., (Eds.), *Plant biochemistry*. Academic Press, London, UK, p. 387–416.
- Strålin, P. and Marklund, S.L., 1994. Effects of oxidative stress on expression of extracellular superoxide dismutase, CuZn-superoxide dismutase and Mn-superoxide dismutase in human dermal fibroblasts. *Biochem. J.* 298, 347 LP-352.
- Strik, B. C., et al., 2007. Comprehensive crop reports worldwide blackberry production. *Hortechology* 17, 205–213.
- Su, M.-S. and Chien, P.-J., 2007. Antioxidant activity, anthocyanins, and phenolics of rabbiteye blueberry (*Vaccinium ashei*) fluid products as affected by fermentation. *Food Chem.* 104, 182–187.
- Su, N., et al., 2018. Quality properties, flavor and hypoglycemia activity of Kiwifruit-Bitter gourd fermented milks. *Food Biosci.* 22, 139–145.
- Sun, S.Y., et al., 2011a. Comparison of aromatic and phenolic compounds in cherry wines with different cherry cultivars by HS-SPME-GC-MS and HPLC. *Int. J. Food Sci. Technol.* 47, 100–106.
- Sun, L., et al., 2011b. Evaluation to the antioxidant activity of total flavonoids extract from persimmon (*Diospyros kaki* L.) leaves. *Food Chem. Toxicol.* 49, 2689–2696.
- Suraiya, S., et al., 2018. *Monascus* spp. fermented brown seaweeds extracts enhance bio-functional activities. *Food Biosci.* 21, 90–99.
- Swami, S.B., et al., 2014. Fruit wine production: a review. *J. Food Res. Technol.* 2, 93–100.
- Szajdek, A. and Borowska, E.J., 2008. Bioactive Compounds and health-promoting properties of berry fruits: a review. *Plant Foods Hum. Nutr.* 63, 147–156.
- Szwajgier, D., et al., 2014. Influence of different heat treatments on the content of phenolic acids and their derivatives in selected fruits. *Fruits*, 69, 167–178.
- Tadera, K., et al., 2006. Inhibition of α -Glucosidase and α -Amylase by Flavonoids. *J. Nutr. Sci. Vitaminol. (Tokyo)*. 52, 149–153.
- Tae Kyung, H., et al., 2014. Molecular docking studies for discovery of plant-derived α -glucosidase inhibitors. *Plant Omics.* 7, 166-170.
- Tanner, H., and Brunner, H., 1979. *Getränke-Analytik*. Scheinfeld Verlag Heller Chemie-und Verwaltungsgesellschaft mbH, Schwabisch Hall, Germany, p. 24.
- Tavares, L., et al., 2013. Neuroprotective effects of digested polyphenols from wild blackberry species. *Eur. J. Nutr.* 52, 225–236.
- Thangthaeng, N., et al., 2016. Tart cherry supplementation improves working memory, hippocampal inflammation, and autophagy in aged rats. *Age (Omaha)*. 38, 393–404.
- Thilakarathna, S.H. and Rupasinghe, H.P.V., 2012. Anti-atherosclerotic effects of fruit bioactive

- compounds: A review of current scientific evidence. *Can. J. Plant Sci.* 92, 407–419.
- Toda, M., et al., 2001. Inhibitory Effects of ellagi- and gallotannins on rat intestinal α -glucosidase complexes. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 65, 542–547.
- Tomás-Barberán, F.A. and Clifford, M.N., 2000. Dietary hydroxybenzoic acid derivatives – nature, occurrence and dietary burden. *J. Sci. Food Agric.* 80, 1024–1032.
- Tomás-Barberán, F.A., et al., 2001. HPLC–DAD–ESIMS Analysis of phenolic compounds in nectarines, peaches, and plums. *J. Agric. Food Chem.* 49, 4748–4760.
- Torres, A.M., et al., 1987. Total phenolics and high-performance liquid chromatography of phenolic acids of avocado. *J. Agric. Food Chem.* 35, 921–925.
- Törrönen, R., et al., 2010. Berries modify the postprandial plasma glucose response to sucrose in healthy subjects. *Br. J. Nutr.* 103, 1094–1097.
- Traystman, R.J., et al., 1991. Oxygen radical mechanisms of brain injury following ischemia and reperfusion. *J. Appl. Physiol.* 71, 1185–1195.
- Türkben, C., et al., 2010. Effect of Freezing and Frozen Storage on Phenolic Compounds of Raspberry and Blackberry Cultivars. *Food Anal. Methods* 3, 144–153.
- Ursini, F. and Bindoli, A., 1987. The role of selenium peroxidases in the protection against oxidative damage of membranes. *Chem. Phys. Lipids* 44, 255–276.
- Usenik, V., et al., 2008. Sugars, organic acids, phenolic composition and antioxidant activity of sweet cherry (*Prunus avium* L.). *Food Chem.* 107, 185–192.
- Usenik, V., et al., 2009. Anthocyanins and fruit colour in plums (*Prunus domestica* L.) during ripening. *Food Chem.* 114, 529–534.
- Valant - Vetschera, K.M. and Wallenweber, E., 2006. Flavones and flavonols, in: Anderson, O.M. and Markham, K.R. (Eds.), *Flavonoids: Chemistry, Biochemistry and Applications*. CRA Press/Taylor & Francis Group, Boca Raton, Florida, pp. 618 – 748 .
- Vasić, V., et al., 1999. Prevention and recovery of CuSO_4 -induced inhibition of Na^+/K^+ -ATPase and Mg^{2+} -ATPase in rat brain synaptosomes by EDTA. *Toxicol. Lett.* 110, 95–103.
- Vauzour, D., 2012. Dietary polyphenols as modulators of brain functions: Biological actions and molecular mechanisms underpinning their beneficial effects. *Oxid. Med. Cell. Longev.* 2012.
- Vinholes, J., et al., 2017. In vitro assessment of the antihyperglycemic and antioxidant properties of araçá, butiá and pitanga. *Food Biosci.* 19, 92–100.
- Vinson, J.A., et al., 2001. Phenol Antioxidant Quantity and Quality in Foods: Fruits. *J. Agric. Food Chem.* 49, 5315–5321.
- Wang, S.Y., 2003. Antioxidant capacity of berry crops, culinary herbs and medicinal herbs, *Acta Horticulturae*. International Society for Horticultural Science (ISHS), Leuven, Belgium, pp. 461–473.
- Wang, S.Y., et al., 2012. Antioxidant capacity and α -glucosidase inhibitory activity in peel and flesh of blueberry (*Vaccinium spp.*) cultivars. *Food Chem.* 132, 1759–1768.
- Wang, Y., et al., 2011. Metabolic engineering of flavonoids in plants and microorganisms. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 91, 949.
- Wangensteen, H., et al., 2014. Anthocyanins, proanthocyanidins and total phenolics in four cultivars of aronia: Antioxidant and enzyme inhibitory effects. *J. Funct. Foods* 7, 746–752.
- Wendel, A., 1980. *Enzymatic basis of detoxication*. Academic Press, New York, USA p. 333.
- Weitzman, S.A., Gordon, L.I., 1990. Inflammation and cancer: role of phagocyte-generated oxidants in carcinogenesis. *Blood* 76, 655 LP-663.
- WHO, 2015. World Health Organization. Diet, nutrition and the prevention of chronic diseases. Technical Report Series No. 916, (http://whqlibdoc.who.int/trs/who_trs_916.pdf). Приступљено 10. 02. 2018.
- WHO, 2016. World Health Organization. Global report on diabetes. http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/204871/1/9789241565257_eng.pdf Приступљено 14.09.2017.

- Will, F. and Dietrich, H., 2006. Optimised processing technique for colour- and cloud-stable plum juices and stability of bioactive substances. *Eur. Food Res. Technol.* 223, 419–425.
- Woraratphoka, J., et al., 2007. Phenolic compounds and antioxidative properties of selected wines from the northeast of Thailand. *Food Chem.* 104, 1485–1490.
- WSTA, 2015. The code of practice of the British wine producers' committee of the wine and spirit trade association.
<http://www.wsta.co.uk/images/Committees/bwpccode.pdf>. Приступљено 06.11.2018.
- Xiao, Z., et al., 2015. Effect of cultivar and variety on phenolic compounds and antioxidant activity of cherry wine. *Food Chem.* 186, 69–73.
- Xu, F., et al., 2014. Effect of blue light treatment on fruit quality, antioxidant enzymes and radical-scavenging activity in strawberry fruit. *Sci. Hortic. (Amsterdam)*. 175, 181–186.
- Yan, H. and Harding, J.J., 1997. Glycation-induced inactivation and loss of antigenicity of catalase and superoxide dismutase. *Biochem. J.* 328, 599 LP-605.
- Yao, L.H., et al., 2004. Flavonoids in Food and Their Health Benefits. *Plant Foods Hum. Nutr.* 59, 113–122.
- Yen, G.-C., et al., 2011. Effects of polyphenolic compounds on tumor necrosis factor- α (TNF- α)-induced changes of adipokines and oxidative stress in 3T3-L1 adipocytes. *J. Agric. Food Chem.* 59, 546–551.
- Yoo, K.M., et al., 2010. Antiproliferative effects of cherry juice and wine in Chinese hamster lung fibroblast cells and their phenolic constituents and antioxidant activities. *Food Chem.* 123, 734–740.
- Zadernowski, R., et al., 2005. Phenolic Acid Profiles in Some Small Berries. *J. Agric. Food Chem.* 53, 2118–2124.
- Zamora-Ros, R., et al., 2016. Dietary polyphenol intake in Europe: the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC) study. *Eur. J. Nutr.* 55, 1359–1375.
- Zeng, L., et al., 2016. Inhibitory mechanism of apigenin on α -glucosidase and synergy analysis of flavonoids. *J. Agric. Food Chem.* 64, 6939–6949.
- Zhang, L., et al., 2010. Inhibitory effect of raspberries on starch digestive enzyme and their antioxidant properties and phenolic composition. *Food Chem.* 119, 592–599.
- Zhao, W., et al., 2013. Microencapsulation of tannic acid for oral administration to inhibit carbohydrate digestion in the gastrointestinal tract. *Food Funct.* 4, 899–905.
- Zhao, Y., et al., 2016. A review of flavonoids from cassia species and their biological activity. *Curr. Pharm. Biotechnol.* 17, 1134–1147.
- Zheng, W. and Wang, S.Y., 2003. Oxygen radical absorbing capacity of phenolics in blueberries, cranberries, chokeberries, and lingonberries. *J. Agric. Food Chem.* 51, 502–509.
- Правилник о квалитету и другим захтевима за вино (2015). Службени гласник Републике Србије, 87/2011 и 26/2015.

8. БИОГРАФИЈА

Урош Чакар је рођен у Београду где је завршио основну школу и Шесту београдску гимназију, обе са Вуковом дипломом. Општи смер на Фармацеутском факултету, Универзитета у Београду је уписао 2004. године, а на истом је дипломирао 2010. године. Након дипломирања био је запослен у фармацеутској фирми Галеника. Државни испит за фармацеуте је положио пред комисијом Министарства здравља Републике Србије. Докторске студије, студијски програм Броматологија уписао је школске 2011/12 године на Фармацеутском факултету, Универзитета у Београду. У оквиру научно-истраживачког рада налази се на пројекту Министарства просвете, науке и технолошког развоја под називом *Развој и примена нових и традиционалних технологија у производњи конкурентних прехранбених производа са додатом вредношћу за домаће и европско тржиште*. Запослен је на Катедри за Броматологију, Фармацеутског факултета, Универзитета у Београду у оквиру које се поред научно-истраживачког рада бави и образовним односно практичном наставом на предметима који се изводе у оквиру катедре. Године 2019 на Фармацеутском факултету, Универзитета у Београду уписао је Специјализацију за здравствене раднике из санитарне хемије.

Урош Чакар је аутор више од 50 публикација и то научних радова, предавања по позиву и саопштења са научних скупова у Србији и иностранству. Резултат ове докторске дисертације је пет научних радова М категорије и то два рада у врхунском међународном часопису (M21), један у истакнутом међународном часопису (M22) и два у часопису међународног значаја (M23), у којима је Урош Чакар први аутор и аутор за кореспонденцију. Поред ових радова аутор је још два рада и то једног у међународном часопису изузетних вредности (M21a) Food Chemistry импакт фактора 5,39 и једног у часопису M23. Стручно усавршавање имао је у оквиру Катедре за биохемију Факултета природних наука, Универзитета Масарик у Брну, Чешка Република.

Урош Чакар је, такође, члан многих научних и стручних организација у Србији и иностранству. Од међународних организација је члан FIP (Светско удружење фармацеута) са седиштем у Хагу, Холандија, у оквиру кога је председавајући програмског одбора FIP YPG и координатор у оквиру програмског одбора FIP. У оквиру главног програма Светског конгреса фармацеута у организацији FIP на пет конгреса је био председавајући секције и предавач по позиву. Године 2017 изабран је за најбољег младог фармацеута у Европи од стране FIP. Такође је члан и других стручних и научних међународних удружења као што су Royal Pharmaceutical Society, ISHS - International Society for Horticultural Science и DIA - Drug Information Association. Члан је Друштва за исхрану Србије и Хиландарског лекарског друштва.

Изјава о ауторству

Име и презиме аутора Урош Чакар

Број индекса 14/11

Изјављујем

да је докторска дисертација под насловом

Полифенолни састав и антиоксидативна својства воћних вина и њихов утицај на ензимске системе in vitro

- резултат сопственог истраживачког рада;
- да дисертација у целини ни у деловима није била предложена за стицање друге дипломе према студијским програмима других високошколских установа;
- да су резултати коректно наведени и
- да нисам кршио/ла ауторска права и користио/ла интелектуалну својину других лица.

Потпис аутора

У Београду, 05.03.2020.

Изјава о истоветности штампане и електронске верзије докторског рада

Име и презиме аутора Урош Чакар

Број индекса 14/11

Студијски програм Броматологија

Наслов рада Полифенолни састав и антиоксидативна својства воћних вина и њихов утицај на ензимске системе in vitro

Ментор Проф. др Брижита Ђорђевић и Доц. др Александар Петровић

Изјављујем да је штампана верзија мог докторског рада истоветна електронској верзији коју сам предао/ла ради похрањивања у **Дигиталном репозиторијуму Универзитета у Београду**.

Дозвољавам да се објаве моји лични подаци везани за добијање академског назива доктора наука, као што су име и презиме, година и место рођења и датум одбране рада.

Ови лични подаци могу се објавити на мрежним страницама дигиталне библиотеке, у електронском каталогу и у публикацијама Универзитета у Београду.

Потпис аутора

У Београду, 05.03.2020.

Изјава о коришћењу

Овлашћујем Универзитетску библиотеку „Светозар Марковић“ да у Дигитални репозиторијум Универзитета у Београду унесе моју докторску дисертацију под насловом:

Полифенолни састав и антиоксидативна својства воћних вина и њихов утицај на ензимске системе in vitro

која је моје ауторско дело.

Дисертацију са свим прилозима предао/ла сам у електронском формату погодном за трајно архивирање.

Моју докторску дисертацију похрањену у Дигиталном репозиторијуму Универзитета у Београду и доступну у отвореном приступу могу да користе сви који поштују одредбе садржане у одабраном типу лиценце Креативне заједнице (Creative Commons) за коју сам се одлучио/ла.

1. Ауторство (CC BY)

2. Ауторство – некомерцијално (CC BY-NC)

3. Ауторство – некомерцијално – без прерада (CC BY-NC-ND)

4. Ауторство – некомерцијално – делити под истим условима (CC BY-NC-SA)

5. Ауторство – без прерада (CC BY-ND)

6. Ауторство – делити под истим условима (CC BY-SA)

(Молимо да заокружите само једну од шест понуђених лиценци.

Кратак опис лиценци је саставни део ове изјаве).

Потпис аутора

У Београду, 05.03.2020.

1. **Ауторство.** Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце, чак и у комерцијалне сврхе. Ово је најслободнија од свих лиценци.

2. **Ауторство – некомерцијално.** Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела.

3. **Ауторство – некомерцијално – без прерада.** Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, без промена, преобликовања или употребе дела у свом делу, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела. У односу на све остале лиценце, овом лиценцом се ограничава највећи обим права коришћења дела.

4. **Ауторство – некомерцијално – делити под истим условима.** Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце и ако се прерада дистрибуира под истом или сличном лиценцом. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела и прерада.

5. **Ауторство – без прерада.** Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, без промена, преобликовања или употребе дела у свом делу, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца дозвољава комерцијалну употребу дела.

6. **Ауторство – делити под истим условима.** Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце и ако се прерада дистрибуира под истом или сличном лиценцом. Ова лиценца дозвољава комерцијалну употребу дела и прерада. Слична је софтверским лиценцама, односно лиценцама отвореног кода.