

UNIVERZITET U BEOGRADU
POLJOPRIVREDNI FAKULTET

Radovan M. Đorđević

**UTICAJ NAČINA VINIFIKACIJE NA
ANTIOKSIDATIVNI KAPACITET VOĆNIH
VINA**

doktorska disertacija

Beograd, 2016.

UNIVERSITY OF BELGRADE

FACULTY OF AGRICULTURE

Radovan M. Đorđević

**INFLUENCE OF CONDOTIONS OF
VINIFICATION ON THE ANTIOXIDANT
CAPACITY OF FRUIT WINES**

Doctoral Dissertation

Belgrade, 2016.

Mentor

dr Ninoslav Nikićević, redovni profesor

Univerzitet u Beogradu

Poljoprivredni fakultet

Članovi komisije

dr Aleksandar Petrović, docent

Univerzitet u Beogradu

Poljoprivredni fakultet

dr Milovan Veličković, redovni profesor

Univerzitet u Beogradu

Poljoprivredni fakultet

dr Miomir Nikšić, redovni profesor

Univerzitet u Beogradu

Poljoprivredni fakultet

dr Vele Tešević, vanredni profesor

Univerzitet u Beogradu

Hemijski fakultet

Datum odbrane :

Najiskrenije se zahvaljujem mentoru, prof. dr Ninoslavu Nikićeviću na neizmernoj pomoći i podršci koju mi je pružio u toku izrade disertacije.

Zahvaljujem se prof. dr Veletu Teševiću, vanredovnom profesoru Hemijskog fakulteta u Beogradu, i njegovim saradnicima na velikoj pomoći prilikom izrade eksperimentalnog rada i značajnim sugestijama tokom tumačenja i obrade rezultata.

Zahvaljujem se prof. dr Miomiru Nikšiću i doc. dr Aleksandru Petroviću na pruženoj pomoći i korisnim savetima koji su mi pomogli u izradi doktorske disertacije.

Zahvaljujem se prof. dr Milovanu Veličkoviću na korisnim savetima i sugestijama.

Prof. dr Idi leskošek-Čukalović zahvaljujem se na iskrenoj i neizmernoj podršci koju mi je pružila, ne samo u naučno-istraživačkom radu već i na mnogim drugim važnim poljima.

Veliku i posebnu zahvalnost dugujem prof. dr Viktoru Nedoviću, koji je svojim savetima, sugestijama i nesebičnoj pomoći doprineo izradi ovog rada i razvoju moje naučne karijere.

Zahvaljujem se kolegama sa katedre za tehnologiju konzervisana i vrenja na velikoj pomoći koju su mi pružili tokom eksperimentalnog rada u laboratoriji i izrade doktorske disertacije.

Zahvaljujem se Ministarstvu prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Vlade Republike Srbije na finansijskoj podršci koja je realizovana preko finansiranja aktivnosti na projektima na kojima sam učestvovao.

Posebnu zahvalnost dugujem mojoj porodici na strpljenju i pruženoj pomoći.

REZIME

U ovom radu su ispitivani uticaji uslova fermentacije na sadržaj ukupnih polifenola i antioksidativna svojstva voćnih vina. Istraživanje je sprovedeno u cilju utvrđivanja i definisanja najoptimalnijih uslova proizvodnje, koji bi ujedno obezbedili i maksimalan sadržaj ukupnih polifenolnih jedinjenja u voćnim vinima. Takođe, utvrđeni su potencijali koje imaju određene sorte maline i kupine za proizvodnju voćnih vina. Korišćeni su plodovi dve sorte gajene maline (vilamet i miker), dve sorte gajene kupine (čačanska bestrna i tornfri) i plodovi divlje kupine. Fermentacija uzoraka obavljena je pod strogo definisanim uslovima a ogledi su postavljeni tako da je mogao da se prati pojedinačni i kombinovani uticaj svakog od uslova fermentacije na sadržaj ukupnih polifenola i antioksidativna svojstva voćnih vina. Ispitivani su uticaji sledećih faktora: temperature fermentacije, sulfitisanje kljuka i uticaj korištenog soja kvasca.

Tokom fermentacije pod različitim uslovima, praćena je kinetika ekstrakcije polifenolnih jedinjenja i uticaj uslova fermentacije na tok ekstrakcije, a nakon završene fermentacije obavljena je fizičko-hemijska analiza dobijenih uzoraka vina i kvantitativna LC/MS analiza sadržaja polifenolnih jedinjenja. Takođe, ispitivana su antioksidativna svojstva uzoraka vina i utvrđena je veza koja postoji između sadržaja ukupnih polifenola i antioksidativnog kapaciteta. Na osnovu rezultata fizičko-hemijske i instrumentalne hemijske analize uzoraka, utvrđene razlike koje su nastale usled uticaja različitih uslova fermentacije.

Apsolutnu superiornost sa aspekta potencijala sorti za proizvodnju voćnih vina, sa aspekta parametara fizičko-hemijske analize i sadržaja ukupnih polifenolnih jedinjenja, pokazala je divlja kupina, zatim čačanska bestrna pa kupina tornfri a od sorti maline na prvom mestu je vilamet a zatim miker. Temperatura fermentacije ima najveći uticaj na kinetiku ekstrakcije i sadržaj ukupnih polifenola u voćnim vinima. Na višim temperaturama fermentacije, primećen je raniji početak ekstrakcije polifenolnih jedinjenja dok je dalji tok ekstrakcije bio uslovljen kinetikom alkoholne fermentacije. Sadržaj polifenolnih jedinjenja u uzorcima koji su fermentisali na višim temperaturama je bio statistički značajno viši u odnosu na sadržaj u uzorcima koji su fermentisali na nižim

temperaturama. Kod uzoraka koji su fermentisali sa dodatkom sumpor-dioksida, primećen je trenutni početak ekstrakcije polifenolnih jedinjenja: ekstrakcija je počela odmah nakon sulfitisanja, nezavisno od početka alkoholne fermentacije. Ovaj efekat je bio jači kod uzoraka koji su fermentisali na višim temperaturama uz dodatak sumpor-dioksida u odnosu na uzorke koji su fermentisali na nižim temperaturama uz dodatak sumpor-dioksida. Iako je ekstrakcija u ovim uzorcima bila intenzivnija, sadržaj ukupnih polifenola između uzoraka koji su fermentisali uz dodatak sumpor-dioksida i bez sumpor-dioksida nije bio statistički značajan. Nije primećeno da postoji veza između sadržaja ukupnih polifenolnih jedinjenja u uzorcima koji su spontano fermentisali i uzoraka koji su fermentisali sa selekcionisanim kvascima.

Ključne reči: voćna vina, malina, kupina, alkoholna fermentacija, polifenolna jedinjenja, antioksidativna svojstva

Naučna oblast: Biotehničke nauke

Uža naučna oblast: Nauka o vrenju

UDK: 663.3: 634.71(043.3)

ABSTRACT

The aims of this study were to determine and define the optimal fermentation conditions which would enable a maximal amount of phenolic compounds and antioxidant capacity in the fruit wines. Furthermore, the potential that possess raspberry and blackbaerry cultivars which were used for this research for fruit wine production was determined and confirmed.

Fruits of two raspberry cultivars (Willamette and Meeker), two blackberry cultivars (Čačanska bestrna and Thornfree) and wild blackberry (*Rubus fruticosus L.*) were used for experiments in this study. Fermentation of samples were carried out under strictly controled conditions in order to enable monitoring of effects of each factor and their combined effects on the total polyphenol content and antioxidant capacity. The examined factors of fermentation were as follows: fermentation temperature, sulfiting and yeast strain.

Several fermentations probes were performed, each under different conditions, with aim to follow the polyphenolic compounds extraction kinetics and to establish the effect of fermentation conditions on the extraction. Fruit wines obtained at the end of fermentation were subjected to physico-chemical analysis and several types of phenolic compounds were quantitatively analyzed using LC/MS method. Antioxidative capacity of fruit wines was also tested as well as the correlation between total phenolic content and antioxidative capacity. Based on physico-chemical and instrumental chemical analysis of the samples, differences were determined as a consequence of the fermentation conditions.

The best potential for fruit wine production, based on several aspects (physico-chemical parameters and the amount of total polyphenolic compounds) is expressed by wild blackberry. Čačanska bestrna appeared as the second best choice and on the last place was Thornfree cultivar. In case of raspberries Willamette was better than Meeker. Extraction kinetics and total polyphenol content are mostly affected by temperature of fermentation. Start of polyphenol compounds extraction is earlier under higher fermentation temperatures. Further extraction of polyphenolics was dependent on fermentation kinetics. Significantly higher amount of polyphenol compounds was

measured in samples that fermented on higher temperatures. On the other side the addition of sulfur dioxide caused an immediate start of the extraction of polyphenol compounds. The extraction course was independent from the beginning of alcohol fermentation. Effect that was mentioned was more pronounced in samples that fermented on higher temperatures with the addition of sulfur dioxide compared to those that fermented on the lower temperatures with the addition of sulfur dioxide. Although the added sulfur dioxide caused more intense extraction, significant difference in total polyphenol compounds was not observed between sulfited and unsulfited samples. Whether the fermentation was spontaneous or controlled, the difference in total polyphenol content was not observed.

Key words: fruit wines, raspberry, blackberry, alcoholic fermentation, polyphenol compounds, antioxidative activity

Academic Expertise: Biotechnology

Field of Academic Expertise: Fermentation Technology

UDK: 663.3: 634.71(043.3)

SADRŽAJ

1. UVOD	1
2. OPŠTI DEO	6
2.1. Kupina	6
2.1.1. Rasprostranjenost, morfologija i klasifikacija	6
2.1.2. Opis i morfologija ploda kupine	7
2.1.3. Sorte kupine	7
2.1.3.1. Tornfri (Thornfree)	8
2.1.3.2. Čačanska bestrna	9
2.1.4. Proizvodnja kupine u Srbiji i svetu	9
2.2. Malina	10
2.2.1. Rasprostranjenost, morfologija i klasifikacija	10
2.2.2. Opis i morfologija ploda maline	10
2.2.3. Sorte maline	11
2.2.3.1. Vilamet (Willamette)	12
2.2.3.2. Miker (Meeker)	13
2.2.4. Proizvodnja maline u Srbiji i svetu	14
2.3. Hemijski sastav i nutritivna vrednost plodova maline i kupine	14
2.4. Polifenolna jedinjenja	18
2.4.1. Rasprostranjenost i funkcija	18
2.4.2. Klasifikacija fenolnih jedinjenja	19
2.4.2.1. Flavonoidi	19
2.4.2.2. Fenolne kiseline i derivati	25
2.4.2.3. Elagitanini i derivati elaginske kiseline	27
2.4.2.4. Fenolni alkoholi	28
2.4.2.5. Stilbeni	29
2.4.2.6. Lignani	30
2.5. Voćna vina	31
2.5.1. Tehnološki postupak proizvodnje voćnih vina	31

2.6. Senzorna analiza	37
3. CILJEVI ISTRAŽIVANJA	39
4. MATERIJALI I METODE	40
4.1. Priprema uzoraka vina	40
4.2. Određivanje sadržaja ukupne suve materije, etanola i ukupnog ekstrakta	42
4.3. Određivanje sadržaja ukupnih kiselina (potenciometrijska titracija)	43
4.4. Određivanje količine pepela u vinu	44
4.5. Određivanje količine SO ₂ u uzorcima vina (po Ripper-u)	45
4.6. Određivanje sadržaja isparljivih kiselina u vinu	46
4.7. Određivanje sadržaja ukupnih polifenola u vinu	47
4.8. Određivanje antioksidativne aktivnosti u uzorcima vina (FRAP metoda)	48
4.9. Određivanje kapaciteta vezivanja slobodnih radikala u uzorcima vina (DPPH metoda)	49
4.10. Određivanje antioksidativnog kapaciteta vina (TEAC test)	50
4.11. Spektrofotometrijska analiza intenziteta boje	51
4.12. Određivanje sadržaja ukupnih antocijana u vinu (pH diferencijalna metoda)	51
4.13. LC/MS analiza fenolnih kiselina i flavonoida u uzorcima vina	52
4.14. Senzorna analiza voćnih vina	54
4.15. Statistička analiza	55
5. REZULTATI I DISKUSIJA	56
5.1. Fizičko-hemijska analiza uzoraka voćnih vina	56
5.2. Dinamika i kinetika fermentacije i ekstrakcije polifenolnih jedinjenja	61
5.3. Analiza fenolnih kiselina i flavonoida	93
5.4. Antioksidativni kapacitet voćnih vina i korelacija između sadržaja ukupnih polifenola i antioksidativnog kapaciteta	106
5.5. Sadržaj ukupnih antocijana i intenzitet boje u uzorcima vina	110
5.6. Senzorna analiza voćnih vina	114
6. ZAKLJUČAK	133
LITERATURA	139
PRILOZI	156

1. UVOD

Pod voćnim vinom se podrazumeva piće dobijeno alkoholnom fermentacijom voćnog soka ili koncentrisane voćne kaše, po tehnološkom postupku koji se primenjuje u proizvodnji vina. Generalno govoreći, voćno vino predstavlja proizvod dobijen fermentacijom soka određene vrste voća. Voćna vina se proizvode širom sveta, u zemljama koje su poznate po proizvodnji vina od grožđa kao i u onim koje to nisu. Prvi pisani podaci o voćnim vinima i proizvodnji voćnih vina uopšte koji se mogu sresti u literaturi odnose se na vino od jabuke (cider). Smatra se da je proizvodnja cider-a poznata više od 2000 godina. Najraniji podaci govore o postojanju jabukovog vina u periodu invazije Rimljana na Englesku (oko 55. godine pne.). Tokom trećeg veka nove ere, jabukovo vino je spravljano širom Evrope, a u Srednjem veku, naročito u engleskoj literaturi, ovo piće se često pominje. Od sedamnaestog veka pa nadalje, u brojnim literaturnim radovima jabukovo vino se veliča, ne samo kao piće za dobro raspoloženje, već i kao narodni lek, za u to vreme mnoge poznate bolesti. Takođe, u istom periodu, ljudi su, između ostalog, umesto vode pili cider, jer su mislili da je voda uzročnik mnogih bolesti, što u to vreme i jeste bilo tačno. Do XVIII veka, cider se uglavnom proizvodio za sopstvene potrebe, u seoskim domaćinstvima. Prva komercijalna proizvodnja u malom obimu ostvarena je početkom XVIII veka u Engleskoj, a krajem XIX i početkom XX veka otpočinje značajnija proizvodnja za široko tržište. U današnje vreme, najveći proizvođač cider-a u svetu je Engleska, zatim Francuska i Nemačka, a nešto manja proizvodnja beleži se u Španiji, Irskoj, Rusiji, Belgiji, Austriji, Švajcarskoj, Americi, Kanadi, Argentini, Australiji i Novom Zelandu.

Malina i kupina kao voćne vrste počinju da se gaje u svetu sporadično tek u XX veku, u periodu između dva rata. Podizanje većih zasada pod ovim voćnim vrstama počinje tek šezdesetih i sedamdesetih godina dvadesetog veka, a intenzivna proizvodnja u svetu i kod nas, tek početkom osamdesetih godina. Uporedo sa podizanjem zasada maline i kupine, počinje i sporadično da se javlja proizvodnja voćnih vina u domaćinstvima, a kasnije počinje proizvodnja u većem obimu. Proizvodnja voćnih vina od bobičastog voća u svetu još uvek nije toliko prihvaćena, delimično zbog visoke cene voća a delimično zbog širokog spektra proizvoda koji se mogu dobiti od ovog voća. Među većim proizvođačima voćnih

vina u svetu, svakako treba pomenuti Kanadu. Proizvodnja voćnih vina od maline i kupine u poslednje dve decenije u Srbiji se prilično razvija, što je i razumljivo, ako se uzme u obzir da je Srbija najveći proizvođač maline i kupine u Evropi (Strik et al., 2007; Nikolić i Milivojević, 2010).

Malina i kupina su vrste jagodastog voća koje po obimu proizvodnje zauzimaju veoma značajnu poziciju u Srbiji. Prema zvaničnim podacima FAO, Srbija se po proizvodnji maline u svetu nalazi na četvrtom mestu sa 68,458 hiljada tona, što je 11,84 % ukupne svetske proizvodnje. Kada je kupina u pitanju, zvanično objavljeni podaci pokazuju da godišnja proizvodnja kupine u Srbiji iznosi 25.000 tona, što Srbiju svrstava na četvrto mesto najvećih svetskih proizvođača. (Strik et al., 2007; Strik i Finn, 2011). Oko 90 % ukupne proizvodnje maline i kupine biva izvezeno a preostalih 10 % se prerađuje kod nas.

Početak osamdesetih godina prošlog veka se prvi put počelo sa istraživanjem i ispitivanjem uticaja polifenolnih jedinjenja na zdravlje ljudi. Sve je pokrenuto nakon otkrića "Francuskog paradoksa". Termin francuski paradoks se prvi put pominje 1980. godine, a opisuje paradoksalno epidemiološko opažanje da Francuzi retko oboljevaju od koronarnih bolesti nasuprot činjenici da konzumiraju hranu bogatu zasićenim mastima (Ducimetiere et al., 1980). Suprotno ovome, drugi narodi koji takođe konzumiraju hranu bogatu zasićenim mastima češće obolevaju od kardiovaskularnih bolesti (Ferrières, 2004). Francuski paradoks dalje implicira dve bitne mogućnosti: Prva, da hipoteza da nezasićene masti prouzrokuju koronarna oboljenja nije tačna i druga, da veza između nezasićenih masti i koronarnih oboljenja postoji, ali da Francuzi tome odolevaju zbog nekog drugog faktora, kao što je način života ili neki specifičan oblik dijete (Law i Wald, 1999).

Nakon otkrića vezanih za Francuski paradoks, počinje se sa opsežnim istraživanjima u oblasti faktora rizika i prouzrokovanja bolesti kardiovaskularnog sistema. Svetska zdravstvena organizacija (WHO) pokreće MONICA projekat čija je glavna oblast istraživanja bila vezana za pojave infarkta miokarda i moždanog udara kod različitih populacija ljudi i analiza veze između ovih bolesti i prouzrokovača istih (Böthig, 1988; Tunstall-Pedoe, 1988). Od ovog momenta se kreće i sa opsežnim istraživanjima polifenolnih jedinjenja prisutnih u biljkama i njihovim uticajem na bolesti kardiovaskularnog sistema.

Jedno od objašnjenja za francuski paradoks bilo je to što Francuzi konzumiraju velike količine crvenog vina i da neka jedinjenja iz crvenog vina regulišu nivo nezasićenih masti u organizmu. Resveratrol je označen kao ključno jedinjenje prisutno u vinu koje je odgovorno za regulaciju nivoa nezasićenih masti, ali se kasnije opsežnijim istraživanjima došlo do zaključka da količina resveratrola prisutna u vinu nije dovoljna da bi imala taj efekat (Goldberg et al., 2003). Iako su istraživanja sa resveratrolom nastavljena i dalje, neki istraživači su identifikovali novu grupu polifenolnih jedinjenja u vinu, poznatu kao oligomerni procijanidini, koji imaju izraženiji uticaj na nezasićene masti i samim tim deluju protektivno na kardio-vaskularni sistem. Ono što nije bio slučaj sa resveratrolom, koncentracija oligomernih procijanidina u vinu je dovoljno visoka, tako da se umerenom konzumacijom vina u organizam unosi količina koja je dovoljna za regulaciju količine nezasićenih masti i pravilan rad i funkcionisanje celog kardiovaskularnog sistema (Hammerstone et al., 2000; Corder et al., 2006).

Jagodasto voće predstavlja bogat izvor mineralnih materija, vitamina, prostih i složenih šećera, polifenolnih jedinjenja, biljnih vlakana i drugih makromolekula, i kao takvo je vrlo rašireno u ishrani ljudi. Da bi se omogućilo stalno učešće ovog voća u ishrani ljudi, a što nije moguće zbog sezonskog prispeća, kao alternativa se koriste proizvodi od ove vrste voća, među kojima svakako važnu ulogu imaju i voćna vina. Pored dobrih funkcionalnih svojstava koje pokazuju jagodaste vrste voća, ove karakteristike prenose se i na njihove proizvode. Konzumiranjem vina od maline, kupine, jagode ili borovnice, omogućava se unošenje bioaktivnih jedinjenja u organizam tokom cele godine.

Važna stavka koja utiče na biološku vrednost jagodastog voća, a što ima uticaja i na očuvanje hranljivih vrednosti samog voća, jeste prisustvo polifenolnih jedinjenja. Henriquez et al. (2005) navode da se plodovi jagodastih vrsta voća, kao i razni proizvodi od voća, zahvaljujući povišenom sadržaju polifenolnih jedinjenja, odlikuju visokim antioksidativnim kapacitetom i usmeravaju pažnju na svoja svojstva odlaganjem nastupanja ili inhibiranjem nastanka i razvoja hroničnih oboljenja kod ljudi. Prvi korak u određivanju zdravstvene korisnosti voća predstavlja određivanje antioksidativnog potencijala i identifikacija komponenti koje su odgovorne za to svojstvo. Milić et al. (2000) navode brojne studije koje ukazuju na značaj pojedinih grupa polifenolnih jedinjenja. To su u

prvom redu fenolne kiseline (galna kiselina, elaginska, hlorogenska, kafeinska kiselina) i flavonoidi (flavonoli, antocijanini, katehini, flavoni i njihovi glikozidi). Polifenolna jedinjenja imaju ulogu "hvatača" slobodnih radikala koji negativno utiču na stanje i metabolizam ćelija u ljudskom organizmu (Hakkinen et al., 2000).

Epidemiološke studije koje su sprovedene pokazuju da se unošenjem veće količine jagodastog voća u organizam može uticati na prevenciju karcinoma pluća, jednjaka, želuca i debelog creva (Hollman et al., 1996), a takođe utiče se i na smanjenje učestalosti pojavljivanja hroničnih bolesti kao što su ateroskleroza, oboljenja srca i moždani udar (Kuo, 1997; Zang et al., 2001). Ova svojstva jagodastog voća su pripisana bioaktivnim jedinjenjima prisutnim u voću, pre svega polifenolnim jedinjenjima, vitaminima i mineralima. Najvažnija grupa polifenolnih jedinjenja u plodovima jagodastog voća su flavonoidi. Do sada je poznato više od 6000 jedinjenja iz ove grupe i broj još uvek raste. Flavonoidi ili bioflavonoidi, kako se često sreće u literaturi, su grupa derivata benzo-pirena. Predstavljaju veliku familiju fenolnih niskomolekularnih metabolita i čine integralni deo humanih dijeta (Parr i Howell, 2000; Harborn i Williams, 2000). Mnoge studije su pokazale da flavonoidi pokazuju biološku aktivnost i deluju antiviralno, anti-infalmatorno i antialergenski. Pored toga, deluju kao vazodilatatori i utiču na relaksaciju srčanog mišića (Dell'Agli et al., 2004; Hnatyszyn et al., 2004), sprečavaju oksidaciju lipoproteina niske gustine (LDL) i sprečavaju akumulaciju LDL-a na krvnim sudovima (Aviram i Fuhrman, 2002; Hwang et al., 2003; Chung et al., 2004).

Kada su u pitanju voćna vina, Heionenen et al. (1998) navode da se tokom fermentacije uspešno vrši ekstrakcija polifenolnih jedinjenja u buduće vino i da njihova aktivnost u odnosu na polifenolna jedinjenja iz plodova voća i voćnog soka nije umanjena. Elisia et al. (2007) su vršili gel filtraciju alkoholnog ekstrakta kupine u cilju izdvajanja polifenolnih jedinjenja i utvrdili da je cijanidin-3-glukozid zastupljen sa 90 % u odnosu na ukupan sadržaj antocijana. Takođe, ova grupa autora navodi da cijanidin-3-glukozid ima najviši antioksidativni kapacitet, od ukupno 14 analiziranih jedinjenja antocijana.

Pinhero i Paliyath (2001) su ispitivali antioksidativna svojstva i kalmodulin inhibitorni efekat tri voćna vina i crvenog vina od grožđa u cilju poređenja njihovih bioloških vrednosti. Svi uzorci vina, kao i njihovi polifenolni ekstrakti su testirani na *in vitro* sistemu

koji generiše superoksidne i hidroksil radikale, i dokazano je da poseduju jaka antioksidativna i protektivna svojstva. Utvrđeno je da su voćna vina od kupine i borovnice imala 30-40 % jači efekat u odnosu na crveno vino od grožđa. Nakon obavljenog istraživanja, utvrđeno je da su za ovaj efekat odgovorna polifenolna jedinjenja iz grupe flavonoida, pre svega aglikoni katehin i naringenin. Druga grupa autora (Rupasinghe i Clegg, 2007) vršila je analizu deset uzoraka voćnih vina proizvedenih od različitih voćnih vrsta iz jedne regije, i utvrđeno je da je njihov ukupni sadržaj polifenolnih jedinjenja i antioksidativni kapacitet niži u odnosu na crvena vina, te da su crvena vina od grožđa u tom pogledu superiorna u odnosu na voćna vina.

2. OPŠTI DEO

2.1. Kupina

2.1.1. Rasprostranjenost, morfologija i klasifikacija

Prirodne populacije kupine rasprostranjene su na severnoj Zemljinoj polulopti, a najviše u Evropi i Severnoj Americi. Kupine su višegodišnje, žbunaste biljke, skrivenosemenice. Većina vrsta kupina je listopadna a postoje i zimzelene vrste. Koren kupine je višegodišnji, razgranat, žiličast i dostiže dužinu do jednog metra. Stablo kupine sa lišćem obrazuje izdanak koji se sastoji iz podzemnog (geofilnog) i nadzemnog (fotofilnog) dela. Podzemni deo izdanka je višegodišnji, dok nadzemni deo izdanka živi nepune dve godine. U toku vegetacionog perioda, u prvoj godini, izdanci kupine rastu a u drugoj godini plodonose. Plod kupine je zbirna koštunica obrazovana od velikog broja sitnih apokarpnih koštunica koje su pričvršćene za cvetnu ložu od koje se ne odvajaju prilikom berbe (Nikolić i Milivojević, 2010).

Plemenite sorte kupine koje se danas gaje u svetu, uglavnom su nastale ukrštanjem sledećih vrsti:

1. Evropska crna kupina (*Rubus plicatus* Weihe et Nees = *R. fruticosus* L.)
2. Peršunasta kupina (*R. laciniatus* Willd.)
3. Visoka kupina (*R. procerus* Muell.)
4. Američka visokožbunasta kupina (*R. allegheniensis* Porter)
5. Američka uspravna kupina (*R. argutus* Link.)
6. Puzeća kupina (*R. trivales* Michaux)

Evropska crna kupina, peršunasta kupina i visoka kupina pripadaju podrodu *Eubatus* i potiču iz Evrope. Američka visokožbunasta kupina i Američka uspravna kupina pripadaju podrodu *Suberecti* i vode poreklo iz istočnog dela Severne Amerike. Puzeća kupina pripada podrodu *Corylifolii* (*Trivales*) i potiče iz jugoistočnog dela SAD (Nikolić i Milivojević, 2010).

2.1.2. Opis i morfologija ploda kupine

Plod kupine je zbirna koštunica obrazovana od velikog broja sitnih apokarpnih koštunica koje su pričvršćene za cvetnu ložu. Prilikom berbe, koštunice se ne odvajaju od cvetne lože. Perikarp svake koštunice u zbirnom plodu se sastoji od pokožice (egzokarp), mesa ploda (mezokarp) i koštice (endokarp). Tanka pokožica ima protektivnu ulogu, štiti mezokarp od spoljnih faktora i drži ga na okupu. Koštica se nalazi u centralnom delu ploda, okružena mezokarpom i izgrađena je od čvrsto povezanih kamenih ćelija (sklereida) koje štite semenku.

Oblik ploda kupine može da bude loptast, ovalan, zarubljeno kupast i kupast. U zavisnosti od sorte, boja ploda može biti tamnocrvena, ljubičastoplava, ljubičastocrna, svetlocrna ili crna. Masa ploda plemenitih sorti kupine u proseku se kreće od 4 - 8 g, a pojedinačno mogu biti teške od 3 - 12 g, ponekad i više. Čvrstoća ploda kupine je važna osobina i njome su uslovljeni transportabilnost i mogućnost i uslovi čuvanja plodova. Čvrstoća plodova zavisi od sorte kupine, kao i od stepena zrelosti i klimatskih i vremenskih uslova u toku same berbe (Nikolić i Milivojević, 2010).

2.1.3. Sorte kupine

Plemenite sorte kupine, se u zavisnosti od tipa rasta izdanaka dele na:

1. Sorte puzećeg rasta – veoma su osteljive na rane jesenje i zimske mrazeve, plodovi su dobrog ukusa ali imaju veoma slabu čvrstoću mezokarpa.
2. Sorte poluspravnog rasta – najpre rastu uspravno a kad dostignu određenu visinu, padaju na zemlju i postaju puzavice. Plodovi su sličnih karakteristika kao i kod sorti puzećeg rasta.
3. Sorte uspravnog rasta – Imaju nežne i uspravne izdanke, nisu zahtevne u pogledu gajenja, plodovi su čvrsti, okruglastog oblika sjajno crne boje.

Privredno značajne sorte kupine koje se gaje u Srbiji:

1. Thornfree

2. Čačanska bestrna
3. Black Saten
4. Dirksen Thornless
5. Loch Ness
6. Chester Thornless

2.1.3.1. Tornfri (Thornfree)

Ova sorta je stvorena u SAD i počela je da se gaji od 1966. godine. Intenzivno se gaji u SAD i Evropi a takođe je i u Srbiji veoma zastupljena. Počinje da sazreva u avgustu i berba traje do oktobra. Plod je srednje krupan do krupan, mase 4 – 5 g, loptast do zarubljeno kupast, čvrst, aromatičan, nakiseo (Slika 2.1.). Sadrži do 16.3 % rastvorljive suve materije, 7 - 10 % ukupnih šećera i oko 1.4 % ukupnih kiselina. Pogodan je za upotrebu kao stono voće kao i za različite vidove prerade.



www.vocnirasdnik.com

Slika 2.1. Sorta kupine Tornfri

2.1.3.2. Čačanska bestrna

Stvorena je na Institutu za voćarstvo u Čačku, prvi zasadi pod ovom sortom su podignuti 1997. godine, a danas je zastupljena sa oko 50 % od ukupnih površina pod kupinom u Srbiji. Sazreva srednje rano, u trećoj dekadi jula, a berba traje do kraja avgusta. Plod je vrlo krupan, mase oko 9 g, izduženo cilindričan do zarubljeno kupast, sladak, aromatičan (Slika 2.2). Umerene je čvrstoće, pa ne poseduje dobre transportabilne osobine. Plodovi su pogodni za upotrebu u svežem stanju, kao i za različite vidove prerade.



www.agropartner.rs

Slika 2.2. Sorta kupine Čačanska bestrna

2.1.4. Proizvodnja kupine u Srbiji i svetu

Zbog neotpornosti kupine na niske temperature, u poređenju sa malinom, kupina se gaji u nešto toplijim podnebljima. Proizvodnja kupine u svetu već dugi niz godina je na nivou od oko 140.000 tona godišnje. SAD je najveći proizvođač kupine u svetu sa 31.840 tona, zatim Meksiko sa 26.895 tona pa zatim sledi Kina sa 26.350 tona. U ukupnoj svetskoj proizvodnji, Evropa učestvuje sa 33 % od ukupne količine kupine. Najveći proizvođač

kupine u Evropi je Srbija, sa oko 69 % ukupne proizvodnje u Evropi, odnosno oko 25.000 tona. Posle Srbije, sledi Mađarska i Španija pa zemlje okruženja, Hrvatska i Rumunija (Strik et al., 2007). Najveće količine kupine u Srbiji se proizvode na gazdinstvima individualnih poljoprivrednih proizvođača. Najzastupljenije sorte kupine u Srbiji su tornfri, čačanska bestrna i blek saten. Zbog oscilacija u ceni kupine, postoje značajne fluktuacije u količini proizvedenih kupina u poslednjih nekoliko godina. 2007. godine proizvedeno je oko 30.000 tona kupine a samo tri godine kasnije ta količina je bila za 70 % niža. U oblastima centralne Srbije se beleži najveća proizvodnja kupine, gde se kao glavni centri izdvajaju Rekovac, Varvarin, Brus, Aleksandrovac, zatim delovi zapadne i južne Srbije (Čačak, Aleksinac, Niš, Leskovac) (Nikolić i Milivojević, 2010).

2.2. Malina

2.2.1. Rasprostranjenost, morfologija i klasifikacija

Malina je žbunasta, listopadna biljka, skrivenosemenica. Podzemno stablo maline je višegodišnje, a nadzemno stablo je dvogodišnje. Malina se razmnožava izdancima, rađa već u prvoj godini nakon sadnje a pun rod dostiže u trećoj godini. Plod jednorodnih sorti sazreva rano, u junu i julu, a remontantne sorte sukcesivno plodonose i sazrevaju od jula do oktobra (Mišić, 1998).

Crvena malina (*R. ideaus* L.) je najvažnija vrsta maline. Rasprostranjena je u šumama, na sunčanim i senovitim, suvim i vlažnim mestima na ogromnim prostranstvima severne Zemljine polulopte. Obuhvata 13 podvrsta, među kojima su najznačajnije:

1. Evropska crvena malina (*Rubus ideaus* subsp. *vulgatus* Arrhen.)
2. Američka crvena malina (*R. ideaus* subsp. *strigosus* Michx)

2.2.2. Opis i morfologija ploda maline

Plod maline sa semenom je organ za polno razmnožavanje. Razvija se posle dvojnog oplodjenja iz plodnika tučka i cvetne lože. Plod opkoljava semenke i štiti ih od nepovoljnih

uticaja, privlači posrednike za rasprostiranje semena, obezbeđuje ili olakšava klijanje semena u prirodi i služi u ishrani ljudi i životinja. Plod maline je zbirna koštunica i sastoji se od velikog broja delimično sraslih sočnih koštunica koje su sakupljene oko ispupčene i polusasušene cvetne lože. Svaka pojedinačna koštunica maline nastaje od jednog oplodnog listića. Semenku koštunice omotava metamorfozirani zid plodnika koji se naziva plodov omotač ili perikarp. Perikarp svake sočne koštunice u zbirnom plodu maline sastoji se od: pokožice (egzokarp), mesa ploda (mezokarp) i koštice (endokarp). Zadatak pokožice je da štiti i drži mezokarp na okupu. Mezokarp je višeslojan, izrađen od parenhimskih ćelija sa krupnim vakuolama. Endokarp nastaje od unutrašnjih slojeva perikarpa. Sastoji se od čvrsto povezanih kamenih ćelija koje obrzuju košticu. U tehnološkom pogledu, poželjno je da koštica bude što manja. Osobine ploda maline zavise od vrste i sorte, oprašivača, stepena oplodjenja, ekoloških uslova i primenjenih agrotehničkih mera (Mišić, 1998).

Masa ploda plemenitih sorti maline kreće se od 1.7 - 8.4 g, a ponekad dostiže i do 12 g. Seme, koštica i pokožica čine od 4.5 - 12.0 %, a jestivi deo od 88.0 - 95.5 % od ukupne mase ploda maline. Čvrstina ploda maline je važna osobina, i uslovljena je udelom zametnutih pojedinačnih koštunica u zbirnom plodu. Od čvrstine ploda zavisi transportabilnost, namena i upotreba.

2.2.3. Sorte maline

Sorta je najznačajniji činilac uspešne proizvodnje maline. U svetu postoji više od 1200 sorti crvene, crne i purpurne maline, ali je mali broj ekonomski značajnih sorti. Sortiment crvene maline u Jugoslaviji do 1960. godine činile su domaće i odomaćene sorte slabe rodnosti i sitnog ploda. Sortiment maline u našoj zemlji se menjao tokom poslednje četiri decenije, tako da je danas vilamet (Willamette) najzastupljenija sorta koja se gaji na prostorima Srbije. Dominantna zastupljenost ove sorte je rezultat njene izražene adaptivnosti na agroekološke uslove naših malinogorja i povoljnih tehnoloških svojstava ploda.

Sorte crvene maline se prema važnosti i načinu plodonošenja mogu podeliti na sledeće grupe:

1. Privredno značajne jednorodne sorte
2. Perspektivne jednorodne sorte
3. Remontantne (dvorodne) sorte

2.2.3.1. Vilamet (Willamette)

Ova sorta je stvorena u SAD i u proizvodnji je od 1943. godine. Gaji se u SAD, Kanadi, Australiji, Novom Zelandu, Čileu, Mađarskoj, Italiji, Bugarskoj i Srbiji. Sazreva srednje rano, period sazrevanja počinje sredinom juna i traje nešto duže od 30 dana. Vilamet je jednorodna, samooplodna i veoma rodna sorta sa mogućnošću donošenja i drugog roda u septembru i oktobru. Bujna je sorta sa velikim brojem izdanaka koji nose srednje duge i elastične rodne grančice, veoma kasno završava vegetaciju. Nije osetljiva na većinu virusa prouzrokovaca bolesti a umereno je osetljiva prema bakterijskim i gljivičnim bolestima.



www.poljoprivreda.info

Slika 2.3. Sorta maline Vilamet

Plod je krupan (oko 4 g), zarubljeno kupast, čvrst, tamnocrven, slatkonakiseo, aromatičan i vrlo kvalitetan (Slika 2.3). Koštunice u zbirnom plodu sazrevaju istovremeno.

Plod je pogodan za upotrebu u svežem stanju, smrzavanje i preradu i poseduje veoma dobre transportabilne osobine (Kowalenko, 1994; Stoyanova et al., 2009).

2.2.3.2. Miker (Meeker)

Kao i vilamet, ova sorta je stvorena u SAD. U SAD je počela da se gaji 1967. godine a u Srbiju je introdukovana 1994. godine, kada je i počela da se gaji na ovim prostorima. Danas se najviše gaji u SAD, Kanadi i Čileu. Počinje da sazreva u trećoj dekadi juna, sedam dana posle sorte vilamet. Samooplodna je i rodna sorta. Žbun je bujan sa manjim brojem izdanaka na kojima su pravilno raspoređene rodne grančice. Manje je otporna prema virusnim oboljenjima ali pokazuje bolju otpornost prema gljivama prouzrokovanih bolestima. Plod je krupan i ujednačene veličine tokom cele berbe, sa prosečnom masom od oko 4 g. Plod je jarkocrvene boje, zarubljeno kupast, čvrst i gladak, slatko do slatkonakiselog ukusa (Slika 2.4.). Sadrži više rastvorljive suve materije u odnosu na vilamet. Plod je pogodan za upotrebu u svežem stanju, smrzavanje i preradu. Takođe, poseduje dobre transportabilne osobine (Robbins i Moore, 1990; Nikolić i Milivojević, 2010).



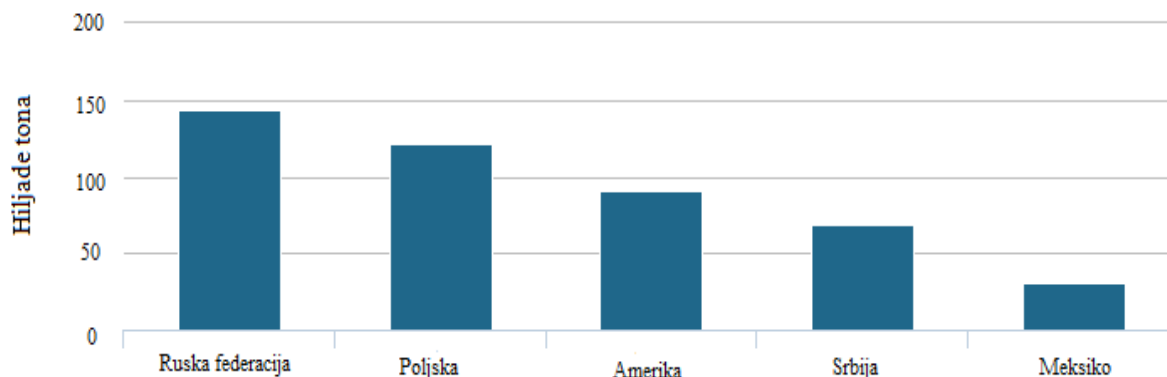
www.poljoprivreda.info

Slika 2.4. Sorta maline Miker

2.2.4. Proizvodnja maline u Srbiji i svetu

Proizvodnja maline u Srbiji počela je posle Prvog svetskog rata. Uz određena kolebanja, proizvodnja je bila u usponu u toku druge polovine dvadesetog veka, da bi 1988. godine postala najvažnija jagodasta voćna vrsta u tadašnjoj Jugoslaviji. Od 1991. do 1994. godine dolazi do značajnog pada proizvodnje maline, ali se njena proizvodnja relativno brzo oporavlja i u 1999. godini dostiže 64.680 tona. Prema zvaničnim podacima FAO (Food and Agriculture Organization) za 2013. godinu, Srbija se nalazi na četvrtom mestu najvećih svetskih proizvođača maline sa 68.458 hiljada tona (Slika 2.5.).

Malina se danas gaji na gotovo celoj teritoriji Srbije. Najpoznatija malinogroja su: valjevsko, ariljsko-ivanjičko, podrinjsko, šabačko, kosjeričko, kopaoničko, čačansko, požeško-užičko, dragačevsko, kraljevačko i gornjomilanovačko. Maksimalni prinos maline koja se gaji u Srbiji je i do 7 puta veći od prosečnog prinosa maline u svetu, što jasno ukazuje na velike mogućnosti i potencijale za proizvodnju maline (Nikolić i Milivojević, 2010).



<http://faostat3.fao.org/home/index.html#download>

Slika 2.5. Proizvodnja maline u svetu za 2013. godinu

2.3. Hemijski sastav i nutritivna vrednost plodova maline i kupine

Hemijski sastav plodova maline i kupine je jako uslovljen kultivarom, podnebljem gajenja, primenjenim agrotehničkim merama, stepenom zrelosti u trenutku berbe kao i

načinom berbe i uslovima transporta i čuvanja nakon berbe. U plodovima maline i kupine je prisutno mnogo komponenti koje mogu da ukazuju na kvalitet i stepen zrelosti plodova. Trenutak berbe plodova i tehnološka zrelost su u vezi sa sadržajem šećera kao i sadržajem aromatskih komponenti, intenzitetom boje i odnosom sadržaja šećera i kiselina. U najvećem broju slučajeva tehnološka zrelost je postignuta kada je sadržaj gore navedenih komponenti veoma blizu maksimalnih vrednosti. Plodovi maline, kao i drugog bobičastog voća, imaju nizak sadržaj masti i proteina (Tabela 2.3.) i veoma nisku energetska vrednost, a sa druge strane su veoma bogat izvor minerala, vitamina, i biljnih vlakana (Talcott, 2007).

Tabela 2.1. Sadržaj vitamina u plodovima maline i kupine (Talcott, 2007)*

Vitamins	Malina	Kupina
Askorbinska kiselina (mg)	26.2	21
Tiamin (mg)	0.03	0.02
Riboflavin (mg)	0.04	0.03
Niacin (mg)	0.6	0.65
Pantoteinska kiselina (mg)	0.33	0.28
Vitamin B6 (mg)	0.06	0.03
Vitamin B12 (μ g)	N.D.	N.D.
Vitamin A (IU)	33	214
α -Tokoferol (mg)	0.87	1.17
β -Tokoferol (mg)	0.06	0.04
γ -Tokoferol (mg)	1.42	1.34
Δ -Tokoferol (mg)	1.04	0.9
Vitamin K (μ g)	7.8	19.8

* u 100 g svežeg ploda

N.D. – nije detektovano

Prisutan šećer u plodovima maline i kupine je ekvimolarna smeša glukoze i fruktoze, a sadržaj saharoze je uslovljen stepenom zrelosti plodova (Tabela 2.5.). U početnom stadijumu sazrevanja plodova, saharoza je dominantni šećer, ali se tokom perioda sazrevanja saharoza polako invertuje do glukoze i fruktoze. Takođe, u toku perioda čuvanja plodova, u zavisnosti od uslova, konverzija saharoze u glukozu i fruktozu može biti nastavljena, ali ovaj proces može da bude i reverzibilan. Iako je skrob glavni rezervoar

energije, u plodovima maline nije uopšte prisutan. Uglavnom je lociran u korenu, stablu i listu maline i u veoma ranim fazama sazrevanja u plodovima maline. Osim glukoze, fruktoze i saharoze, ni jedan od preostalih poznatih prostih šećera nije detektovan u plodovima.

Tabela 2.2. Sadržaj kiselina u plodovima maline i kupine (Talcott, 2007)

Kiselina	Malina	Kupina
Jabučna kiselina (%)	0.13-0.5	0.06-1.1
Limunska kiselina (%)	1.27 - 2.4	0.8-1.0
pH vrednost	2.65 - 3.45	2.55-4.28
Titribilni aciditet (%)	1.75 - 2.38	0.16-4.22

Tabela 2.3. Hemijski sastav i nutritivna vrednost plodova maline i kupine (Talcott, 2007)*

Jedinjenja	Malina	Kupina
Šećeri (g)	4.8	4.88
Sadržaj ukupnih ugljenih hidrata (g)	11.60	9.61
Zasićene masti (g)	0.02	0.03
Polinezasićene masti (g)	0.31	0.44
Trans masti (g)	0.00	0.00
Mononezasićene masti (g)	0.02	0.01
Ukupan sadržaj masti (g)	0.35	0.49
Holesterol (mg)	0.00	0.00
Rastvorljiva vlakna (g)	1.22	1.31
Nerastvorljiva vlakna (g)	5.58	5.98
Ukupno vlakna (g)	6.8	7.29
Proteini (g)	0.91	1.39
Minerali (mg)	230.07	236.37
Voda (g)	86.6	88.2
Kalorije (kcal)	49	43

* u 100 g svežeg ploda

Sadržaj kiselina u plodovima maline i kupine je indirektno povezan sa sadržajem šećera. Ujedno sa količinom prisutnog šećera u plodovima i sadržaj kiselina je veoma bitan parametar kvaliteta, kao i odnos sadržaja šećera i kiselina. Najdominantnije organske kiseline prisutne u plodovima su jabučna i limunska kiselina, pa zatim askorbinska i

taninske kiseline (Tabela 2.1. i 2.2.). Od sadržaja ovih kiselina zavisi titrabilni aciditet kao i stabilnost plodova nakon berbe. Jabučna i limunska kiselina služe kao stabilizatori boje plodova i proizvoda od ovog voća a utiču i na regulaciju aktivnosti askorbinske kiseline (Charlotte et al., 2005; Talcott, 2007; Milivojević et al., 2011).

Tabela 2.4. Sadržaj minerala u plodovima maline i kupine (Talcott, 2007)*

Minerali	Malina	Kupina
Kalcijum	25.00	29.00
Gvožđe	0.69	0.62
Magnezijum	22.00	20.00
Fosfor	29.00	22.00
Kalijum	151.00	162.00
Natrijum	1.00	1.00
Cink	0.42	0.53
Bakar	0.09	0.17
Mangan	0.67	0.65
Selen	0.20	0.40

*u 100 g svežeg ploda

Tabela 2.5. Sadržaja šećera u plodovima maline i kupine (Talcott, 2007)*

Šećeri	Malina	Kupina
Fruktoza (g)	2.35	4.8
Glukoza (g)	1.86	3.57
Saharoza (g)	0.2	0.58
Maltoza (g)	ND	0.07
Galaktoza (g)	ND	0.03
Skrob (g)	ND	N.D.
Ukupni ugljeni hidrati (g)	11.9	9.05

*u 100 g svežeg ploda

2.4. Polifenolna jedinjenja

2.4.1. Rasprostranjenost i funkcija

Polifenolna jedinjenja su komponente koje su najzastupljenije u prirodi, počev od voća, povrća, cerealija, ulja, pa sve do gotovih prehrambenih proizvoda, kao što su čokolada, kafa, čaj i vino. Bez obzira na evidentan pozitivan uticaj na zdravlje ljudi, polifenolna jedinjenja su tek u poslednje dve decenije privukla veću pažnju lekara i nutricionista. Neki od faktora koji su uticali na to su veoma velika raznolikost i kompleksnost hemijske strukture samih polifenolnih jedinjenja, što je za posledicu imalo otežanu detekciju i ispitivanje. Polifenolna jedinjenja deluju protektivno na živu ćeliju unutar nekog organizma, štite ćeliju od oksidativnog stresa, što ima uticaja na prevenciju bolesti kao što su karcinom, osteoporoza, dijabetes, kardiovaskularnih i neurodegenerativnih oboljenja (Scalbert et al., 2005). Takođe, dokazano je da unošenje polifenolnih jedinjenja u organizam stopira razvoj ateromatoznih lezija i inhibira oksidaciju LDL (low density lipoprotein), što za posledicu ima sprečavanje pojave ateroskleroze (Masella et al., 2001; Gimeno et al., 2002; Marrugat et al., 2004; Covas et al., 2006). Pored antioksidativne aktivnosti polifenolnih jedinjenja, neka novija istraživanja koja su obavljena pokazuju da polifenoli mogu delovati na živu ćeliju na mnoštvo drugih načina. Jedan od mehanizama je i prooksidativno delovanje polifenola na živu ćeliju što za rezultat ima inhibiciju umnožavanja i razvoja ćelija a u težim slučajevima može dovesti i do odumiranja živih ćelija (Lambert et al., 2005; Elbling et al., 2005). Pored prooksidativnog efekta, polifenoli mogu inhibitorno da deluju na određene grupe enzima u organizmu kao što su telomerase, cikloksigenaze i lipoksigenaze (Naasani et al., 2003; O` Leary et al., 2004; Hussain et al., 2005) a takođe mogu ometati transfer signala kroz transdukcione puteve do ćelijskih receptora (Wiseman et al., 2001; Spencer et al., 2003) i negativno uticati na regulaciju ćelijskog ciklusa (Fischer i Lane, 2000). Iako su svi gore navedeni negativni efekti polifenola na ćeliju dokazani, ipak se prednost daje zaštitnim efektima i sveukupnom pozitivnom delovanju polifenolnih jedinjenja na organizam u odnosu na sve negativne efekte (Birt et al., 2001; Kris-Etherton i Keen, 2002).

2.4.2. Klasifikacija polifenolnih jedinjenja

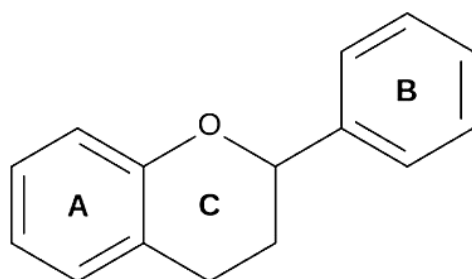
Polifenolna jedinjenja su zajednički konstituenti hrane biljnog porekla koja obuhvataju širok spektar molekula kako polifenolne strukture tako i jedinjenja sa jednim fenolnim prstenom (fenolne kiseline, fenolni alkoholi). Na osnovu broja fenolnih prstenova, kao i na osnovu veze između dva ili više prstenova unutar jednog molekula, fenolna jedinjenja su podeljena u nekoliko grupa:

- Flavonoidi
- Fenolne kiseline
- Fenolni alkoholi
- Stilbeni
- Lignani

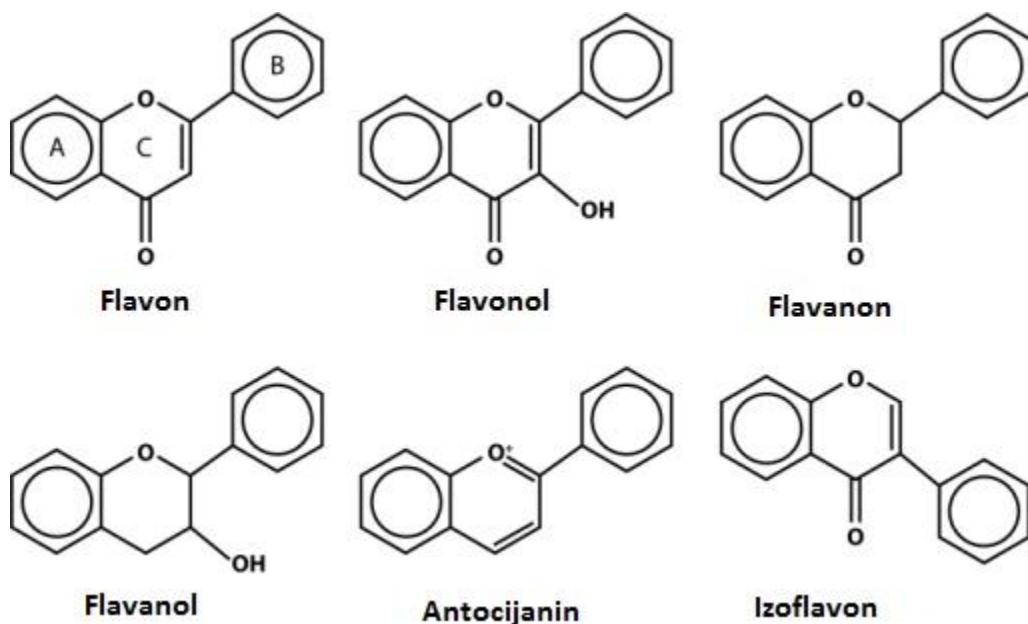
2.4.2.1. Flavonoidi

Flavonoidi su izgrađeni od skeleta koji poseduje 15 ugljenikovih atoma: dva benzenova prstena (A i B) povezana linearnim trikarbonskim lancem (Slika 2.6.). Centralni trikarbonski lanac može da formira zatvoren piranski prsten (C) sa jednim od dva benzenova prstena. Osnovni skelet flavonoida se predstavlja empirijskom formulom C₆-C₃-C₆. Više od 4000 flavonoida je do sada identifikovano u biljkama, i ovaj broj konstanto raste (Harborne i Williams, 2000). To je posledica pojavljivanja brojnih substitucija u kojima primarni substituenti mogu biti substituisani između sebe, dajući nova jedinjenja iz ove grupe.

Flavonoidi su podeljeni u šest podgrupa u zavisnosti od oksidacionog stanja centralnog piranskog prstena: flavoni, flavonoli, flavanoni, izoflavoni, antocijanini i flavanoli (katehini i proantocijanidini) (Slika 2.7.).



Slika 2.6. Osnovna hemijska struktura flavonoida (Howard i Hager, 2007)



Slika 2.7. Hemijska struktura jedinjenja koja spadaju u flavonoide (Howard i Hager, 2007)

Flavoni imaju dvostruku vezu između drugog i trećeg ugljenikovog atoma na piranskom prstenu i spadaju u red manje zastupljenih jedinjenja u biljnom svetu (Slika 2.7.). Bitno je samo napomenuti da se u manjim količinama mogu naći polimetoksil derivati flavona u pokožici obojenih voćnih vrsta.

Flavonoli poseduju dvostruku vezu između C2 i C3 ugljenikovog atoma na piranskom prstenu sa hidroksil grupom na C3 poziciji (Slika 2.7.). Iz grupe flavonoida, flavonoli su najzastupljenija jedinjenja kod biljaka sa kvercetinom, miricetinom i kemferolom kao

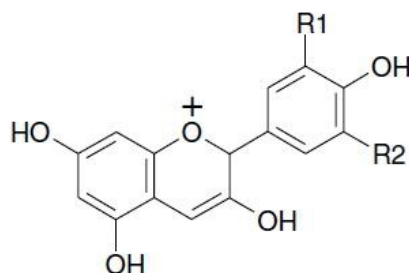
najobilnije prisutnim supstancama. U manjim količinama u prirodi se mogu naći i izoramnetin, laricitrin i siringetin. Flavonoli se u voću uglavnom javljaju u obliku *O*-glikozida sa šećerima na C3 poziciji flavonskog prstena. U prvom redu su to glukoza i galaktoza ali takođe se mogu naći i ramnozid, rutinozid, ksilozid i arabinozid glikozidi flavonola. Kao i ostala jedinjenja iz grupe flavonoida, glikozidne jedinice flavonola mogu biti acilovane kiselinama kao što su sirćetna, glutarna, glukuronska ili oksalna. Važno je istaći da se sinteza flavonola, kao i ostalih polifenolnih jedinjenja, stimuliše pod uticajem sunčeve svetlosti. Glavni izvor flavonola u prirodi je povrće, i to crni luk i brokoli a kod voća su najzastupljeniji u plodovima borovnice i kupine. U crnom čaju i crvenom vinu flavonoli su prisutni u koncentracijama od 30 do 45 mg/L (Cortell i Kennedy, 2006).

Kvercetin-3-glukozid i kvercetin-3-glukuronid su najzastupljeniji u voću, mada se u literaturi može naći podatak da je i kvercetin-3-rutinozid jedna od glavnih komponenti prisutna u voću (Seeram et al., 2006). U plodovima maline su identifikovana 3 derivata kvercetina (rutinozid, glukozid, glukuronid) i kemferol glukuronid gde su u najvišim koncentracija bili prisutni kvercetin-3-glukozid i kvercetin-3-glukuronid. Kada je kupina u pitanju, hemijski sastav ploda je mnogo kompleksniji a samim tim i sadržaj flavonola je drugačiji u odnosu na druge voćne vrste (Mullen et al., 2002; Mullen et al., 2003; Määttä-Riihinen et al., 2004). Ukupno devet derivata kvercetina i tri derivata kemferola je identifikovano, uključujući i dva acilovana derivata kvercetina, kvercetin-3-galaktozid i kvercetin-3-oksalpentozid (Cho et al., 2005).

Flavanoni su podgrupa flavonoida koji su specifični po tome što imaju zasićen trikarbonski lanac koji gradi piranski prsten i atom kiseonika na C4 poziciji piranskog prstena (slika 2.7.). Flavanoni su u voću uglavnom prisutni u obliku šećernih derivata (glikozidi) i najviše ih ima u citrusima i određenim aromatičnim biljkama kao što je nana a takođe su detektovani u paradajzu. Najveći deo flavanona u citrusima je lociran u albedo sloju (kori), prisutni su u do pet puta većim koncentracijama nego u mezokarpu (pulpi) (Leuzzi et al, 2000).

Izoflavoni poseduju hidroksilnu grupu na C7 i C4 poziciji i imaju hemijsku strukturu veoma sličnu hormonu estrogenu. U živim ćelijama ljudi i životinja mogu se povezati sa receptorima za estrogen i zato su klasifikovani u grupu fitoestrogena. Izoflavoni su u prirodi pronađeni isključivo u leguminoznim biljkama, i do sada nisu detektovani u voću (Reinli i Block, 1996; Eisen et al., 2003).

Antocijanini su u vodi rastvorljivi pigmenti odgovorni za crvenu, plavu i purpurnu boju voća, povrća, cveća i većinu biljaka uopšte (Mazza et al., 2004). Antocijanini koji se nalaze u voću se razlikuju samo po broju i pozicijama hidroksi i metoksi grupa na B prstenu (Slika 2.8.; Tabela 2.6.). Antocijanidini se retko javljaju u prirodi u čistoj formi, jer su veoma nestabilni. Kada se javljaju u obliku glikozida, što je uobičajeno, onda se nazivaju antocijanini. U najvećem broju slučajeva, šećerna jedinica je vezana za C3 poziciju piranskog prstena (C prsten). Mogu se naći i antocijanini sa šećernom jedinicom vezanom za C5 ili C7 poziciju flavonskog prstena (A prsten), a vrlo retko se dešava da je šećerna jedinica vezana za 3`-, 4`- ili 5`- poziciju na B prstenu (Mazza i Miniati, 1993).



Slika 2.8. Osnovna struktura antocijanina (Howard i Hager, 2007)

Glukoza, galaktoza, arabinoza, ksiloza i ramnoza su šećeri koji u najvećem broju slučajeva grade glikozide određenih antocijanidina. Pored navedenih monosaharida, glikozide mogu da grade i određeni disaharidi kao što je rutinoza (glukoza i ramnoza), sambubioza (glukoza u ksiloza) i sofroza (dva molekula glukoze). Kao što je slučaj sa flavonolima, šećerne jedinice antocijanina mogu biti acilovane organskim kiselinama (sirćetna, ćilibarna, oksalna). Upravo od šećerne jedinice koja gradi glikozid kao i od kiseline kojom je šećerna jedinica acilovana zavisi intenzitet i nijansa boje određenih antocijanina.

Tabela 2.6. Antocijanidini koji se nalaze u voću

Antocijanidin	R1	R2
Pelargonidin	H	H
Cijanidin	OH	H
Delfinidin	OH	OH
Peonidin	OCH ₃	H
Petunidin	OCH ₃	OH
Malvidin	OCH ₃	OCH ₃

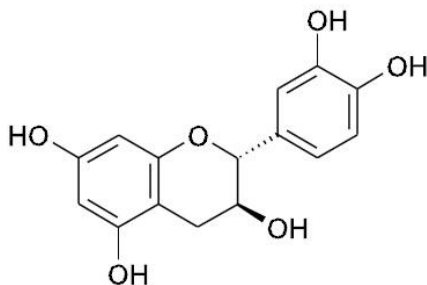
Derivati cijanidina sa različitim šećernim jedinicama (glukoza, arabinoza, rutinoza) na C3 poziciji piranskog prstena su dominantni u plodovima kupine. Uglavnom su prisutni u neacilovanoj formi, kao monglukozidi, ređe kao diglukozidi (Wu et al., 2006). Na osnovu detaljno ispitanog sadržaja antocijanina iz 51 uzoraka plodova kupine iz celog sveta, sačinjena je kompletna slika sastava i distribucije antocijanina: cijanidin-3-glukozid je zastupljen od 44 do 95 % u odnosu na ukupan sadržaj antocijanina; cijanidin-3-rutinozid od 0 do 53 %; cijanidin-3-ksilozid od 0 do 11 %; cijanidin-3-(malonil) glukozid od 0 do 5 % i cijanidin-3-diokslaglukozid od 0 do 15 % (Cho et al., 2004; Fan-Chiang i Wrolstad, 2005). Cijanidin-3-dioksalglukozid je prvi put identifikovan u plodovima kupine sorte evergreen, i to je najverovatnije antocijanin koji postoji samo u plodovima kupine i ni u jednom drugom voću (Stintzing et al., 2002). Neki autori (Reyes-Carmona et al., 2005) su ispitivali genetski uticaj na sadržaj antocijanina u plodovima kupine. Utvrđeno je da je cijanidin-3-rutinozid u plodovima divlje kupine prisutan u većim količinama nego u plodovima gajenih sorti kupine.

Slično kao i kod kupine, dominantni antocijanini u plodovima maline su derivati cijanidina, i to isključivo u neacilovanoj glikozidnoj formi, kao mono-, di- i triglikozidi (Jennings i Carmichael, 1980; Mullen et al., 2002; Määttä-Riihinen et al., 2004;). Prisutnost mono-, di- i triglikozida u plodovima maline je 22 %, 52 % i 26 %, prema navedenom redosledu. Sedam antocijanina je ukupno identifikovano u plodovima maline: cijanidin-3-sofrozid, cijanidin-3-glukozid, cijanidin-3-rutinozid, pelargonidin-3-glukozid, pelargonidin-3-rutinozid, cijanidin-3-sofrozid-5-ramnozid i cijanidin-3-sambubiozid-5-ramnozid. Cijanidin-3-sofrozid je najprisutniji antocijanin u plodovima maline, a zatim

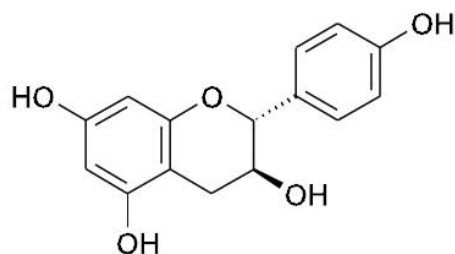
slede cijanidin-3-sofrozid-5-ramnozid i cijanidin-3-glukozid. Plodovi maline su jedinstveni po tome što sadrže antocijanin triglikozid, cijanidin-3-sambubiozid-5-ramnozid, koji se ne može naći ni u jednoj voćnoj vrsti sem u malini (Wu i Prior, 2005).

Sadržaj antocijanina u voću je od 2 do 4 g/kg svežeg ploda, i najviše ih ima u plodovima kupine i borovnice. Sa povećanjem stepena zrelosti voća, sadržaj antocijanina raste. Kada je reč o distribuciji antocijanina u plodovima, uglavnom se nalaze u pokožici, izuzev nekih voćnih vrsta (jagode, trešnje i višnje) i pojedih sorti grožđa, gde ih u značajnim količinama ima i u mezokarpu. Što se tiče sadržaja antocijanina u voćnom vinu i vinu od grožđa, vrednosti se kreću od 100 do 350 mg/L vina (Es-Safi et al., 2002).

Flavanoli (flavan-3-oli) poseduju zasićen trikarbonski lanac sa hidroksilnom grupom na C3 poziciji piranskog prstena (C prsten, Slika 2.6. i 2.7.). Flavonoli se u voću javljaju kao monomeri (katehini) i oligomeri (proantocijanidini/kondenzovani tanini). Za razliku od drugih jedinjenja iz grupe flavonoida, flavonoli se u hrani ne nalaze u obliku glikozida. Veze između flavanolnih jedinica koje grade polimere i oligomere nalaze se na C4 poziciji jedne jedinice i C8 poziciji druge jedinice (C4 – C8). Takođe, postoji i forma C4 – C6, i to je označeno kao B-tip veze. Dva osnovna tipa proantocijanidina su pronađena u plodovima obojenog voća: procijanidini koji su izgrađeni isključivo od katehinskih jedinica (Slika 2.9.) i propelargonidini koji su izgrađeni od afzelehinskih jedinica (Slika 2.10.) (Arts et al., 2000a, b). Proantocijanidini su odgovorni za osećaj astrigencije prilikom konzumiranja plodova voća, vina, čokolade, piva ili čaja (Rasmussen et al., 2005).



Slika 2.9. Struktura katehina (Howard i Hager, 2007)

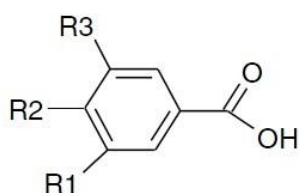


Slika 2.10. Struktura afzelehina (Howard i Hager, 2007)

Sadržaj proantocijanidina u plodovima voća varira u zavisnosti od vrste voća kao i od uslova gajenja. U plodovima kupine je detektovan isključivo procijanidin (polimer katehina) dok su u plodovima maline pronađeni i procijanidin i propelargonidin (polimer afzelehina) (Gu et al., 2003). Sadržaj ukupnih proantocijanidina, dobijen na osnovu analize velikog broja uzoraka, u plodovima kupine i maline je 27 i 30 mg/100 g svežeg voća, na osnovu navedenog redosleda (Gu et al., 2004). Sadržaj proantocijanidina u crvenom vinu varira mnogo, u zavisnosti od kultivara, uslova gajenja, ekspozicije terena i u najvećoj meri od načina vinifikacije i vrednosti se kreću od 1 do 4 g/L vina (Kovač et al., 1992). Kada je u pitanju sadržaj proantocijanidina u belim vinima, vrednosti su od 100 do 400 mg/L vina (Sanchez-Moreno et al., 2003).

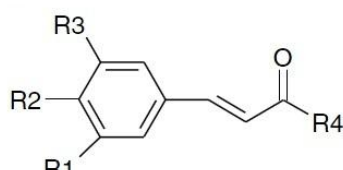
2.4.2.2. Fenolne kiseline i derivati

Glavni predstavnici fenolnih kiselina nađenih u voću su derivati hidroksibenzojeve i hidroksicinamične kiseline (Slike 2.11. i 2.12.). Iako elaginska kiselina spada u grupu hidroksibenzojevih kiselina, ona je u voću prisutna pretežno u formi elagitanina, koja predstavlja posebnu grupu fenolnih jedinjenja.



Kiselina	R1	R2	R3
p-Hidroksibenzojeva	H	OH	H
Protokatehuinska	H	OH	OH
Vanilinska	CH ₃ O	OH	H
Siringinska	CH ₃ O	OH	CH ₃ O
Galna	OH	OH	OH

Slika 2.11. Osnovna struktura hidroksibenzojeve kiseline (Howard i Hager, 2007)



Kiselina	R1	R2	R3	R4
m-Kumarinska	OH	H	H	OH
p-Kumarinska	H	OH	H	OH
Kafeinska	H	OH	OH	OH
Ferulična	CH ₃ O	OH	H	OH
Sinapna	CH ₃ O	OH	CH ₃ O	OH
Kafeilhininska	H	OH	OH	Hininska
Kumarilhininska	OH	H	H	Hininska

Slika 2.12. Osnovna struktura hidrosicimetne kiseline (Howard i Hager, 2007)

Hidroksibenzojeve i hidrosicimetne kiseline se ređe javljaju u slobodnoj formi, češće se mogu naći u formi glikozida ili estara. U voću se nalaze u vakuolama u rastvorljivom obliku ili mogu biti u nerastvorljivom obliku kada su vezane za polisaharide koji ulaze u strukturu ćelijskog zida (Pantelidis et al., 2007). Fenolne kiseline su u slabo alkoholnim rastvorima u bezbojnoj formi, međutim, mogu dobiti žućkastu boju kao uzrok oksidacije. Sa tačke gledišta organoleptičkih svojstava, fenolne kiseline nemaju svoj karakterističan miris i ukus. Značajno je napomenuti da su fenolne kiseline prekursori isparljivih fenola, koji nastaju usled mikrobne aktivnosti kvasaca *Brettanomyces sp.* a koji imaju negativan uticaj na senzorna svojstva vina.

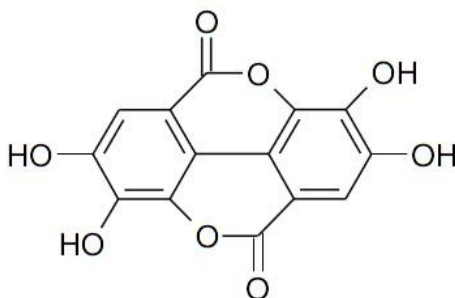
U plodovima kupine iz grupe hidroksibenzojevih kiselina su identifikovane sledeće kiseline: *p*-hidroksibenzojeva, protokatehuinska, galna, gentisinska, salicilna i vanilinska. Prisutne su u slobodnoj, estarskoj i glikozidnoj formi. Glikozidi i estri salicilne kiseline su prisutni u najvećim količinama u plodovima kupine. Iz grupe hidrosicimetnih kiselina, u plodovima kupine detektovane su: *m*-kumarna kiselina, *p*-kumarna kiselina i ferulična kiselina koje su prisutne u slobodnoj, estarskoj i glikozidnoj formi. Od kiselina koje su prisutne samo u glikozidnoj formi, identifikovane su 3,4-dimetoksicimetna i hidroksikafeinska kiselina (Zadernowski et al., 2005). Estri i glikozidi fenolnih kiselina imaju ukupni udeo od 53.1 i 43.6 %, prema redosledu u tekstu, dok je udeo slobodnih fenolnih kiselina 3.3 %. Od specifičnih hidroksibenzojevih i hidrosicimetnih kiselina i

njihovih derivata u kupini identifikovane su hlorogenska i neohlorogenska kiselina, zatim 3-*p*-kumarilhininska i 3-ferulilhininska kiselina (Schuster i Herrmann, 1985).

Od predstavnika fenolnih kiselina i njihovih derivata identifikovanih u plodovima maline, najznačajnije su *p*-kumarna, kafeinska, ferulična, galna, *p*-hidroksibenzoeva, vanilinska i protokatehuinska kiselina (Häkkinen et al., 1999; Mattila i Kumpulainen, 2002). Od specifičnih fenolnih kiselina i njihovih derivata identifikovanih u malinama treba pomenuti *p*-kumarilhininsku, glukozne estre kafeinske kiseline, *p*-kumarnu i feruličnu kiselinu. Ono sto maline izdvaja od drugog obojenog bobičastog voća, jeste visok sadržaj glukozida *p*-hidroksibenzoeve kiseline (Zadernowski et al., 2005; Sariburun et al., 2010). Sadržaj ukupnih fenolnih kiselina u plodovima kupine se kreće u rasponu od 100 do 270 mg/kg svežih plodova (Shahidi et al., 1996) dok je u plodovima maline detektovano do maksimalno 100 mg/kg svežih plodova (Macheix i Fleuriet, 1990; Tomas-Barberan i Clifford, 2000). Sadržaj fenolnih kiselina u crvenom vinu kreće se u rasponu od 100 – 200 mg/L dok je sadržaj u belom vinu 10-20 mg/L (Paixao et al., 2007).

2.4.2.3. Elagitanini i derivati elaginske kiseline

Jagodasto voće predstavlja bogat izvor hidrolizabilnih tanina, posebno elagitanina, čija su svojstva uslovljena molekulskom masom. Elagitanini koji se nalaze u plodovima jagodastog voća se sastoje od glukoznog jezgra esterifikovanog heksahidroksidifenilnom kiselinom (Slika 2.13.).



Slika 2.13. Hemijska struktura elaginske kiseline (Howard i Hager, 2007)

Kiselinskom ili baznom hidrolizom elagitanina, heksahidroksidifenilna kiselina se spontano transformiše u elaginsku kiselinu. Pored elagitanina, u plodovima jagodastog voća se takođe može naći i elaginska kiselina, i to kako u slobodnoj formi tako i u acilovanoj i glikozidnoj formi. Na osnovu LC-MS analize elaginske kiseline i njenih derivata u plodovima maline, identifikovane su sledeće komponente: lambertianin-C, sanguin H-6, sanguin H-10 (Mullen et al., 2002; Beekwilder et al., 2005), zatim 4-arabinozid, 4-acetilksilozid i 4-acetilarabinozid derivati elaginske kiseline (Zafrilla et al., 2001; Mullen et al., 2003). Zbog veoma velike raznolikosti elagitanina i derivata elaginske kiseline, u literaturi se može naći širok dijapazon vrednosti sadržaja ovih komponenti u plodovima jagodastog voća. Na osnovu površina ispod pikova identifikovanih komponenti LC/MS-MS analizom, utvrđeno je da je sanguin H-6 najdominantnija komponenta u plodovima maline, zatim sledi lambertianin-C pa arabinozid derivati elaginske kiseline (do 20 mg/kg svežeg ploda maline) i 4-acetilksilozid i 4-acetilarabinozid derivati (do 10 mg/kg svežeg ploda maline) (Määttä-Riihinen et al., 2004). Bitno je napomenuti da sadržaj elagitanina i derivata elaginske kiseline opada u toku sazrevanja plodova jagodastog voća.

Elagitanini identifikovani u plodovima kupine su potentilin, pedunkulagin i kasuaricitin a od derivata elaginske detektovani su fenol estri elaginske kiseline. Sadržaj elagitanina u plodovima kupine je dosta veći (511 do 682 mg/kg svežih plodova) u odnosu na derivate elaginske kiseline (12 do 30 mg/kg svežih plodova). Oko 88 % od ukupno prisutnih derivata elaginske kiseline i elagitanina je locirano u semenkama ploda kupine a oko 12 % u pulpi (Siriwoharn et al., 2004; Siriwoharn i Wrolstad, 2004; Siriwoharn i Wrolstad, 2005).

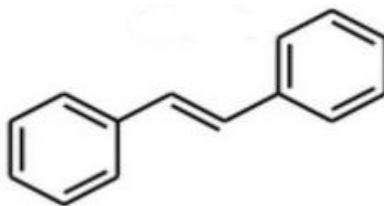
2.4.2.4. Fenolni alkoholi

Fenolni alkoholi spadaju u grupu fenolnih jedinjenja i mogu se naći u pojedinim biljkama u prirodi a u fermentisanim proizvodima nastaju kao produkti metabolizma mikroorganizama. U crvenom vinu i vinu uopšte, nastaju u toku fermentacije i označeni su kao “quorum sensing” molekuli. Quorum sensing je proces međucelijske komunikacije između mikroorganizama. To omogućava pojedinačnim ćelijama jedne populacije da

ocene gustinu ćelija neke druge populacije i upravljaju njihovom brojnošću i aktivnostima. Feniletanol, tirozol i triptofol su “quorum sensing” molekuli produkovani od strane *Saccharomyces cerevisiae* kvasaca u uslovoima kada se nalaze u istom medijumu sa ćelijama kvasaca nekog drugog roda ili soja, i za rezultat imaju pomeranje faze rasta ćelija kvasca drugog roda u stacionarnu fazu, a što omogućava razvoj dominantnog soja (Sprague i Winans, 2006; Chen i Fink, 2006; Atkinson i Williams, 2009). Pored toga što regulišu rast populacija u medijumu, fenolni alkoholi imaju prijatan cvetni miris, što doprinosi boljem aromatskom kompleksu vina. Sadržaj feniletanola u vinu je od 0 do 13.9 μM dok sadržaj tirozola varira od 18 do 94 μM (Andorrà et al., 2010).

2.4.2.5. Stilbeni

Stilbeni su klasa jedinjenja iz grupe polifenola koji se generalno u prirodi mogu naći u grožđu i vinu, kikirikiju, leguminoznim biljkama, u biljkama iz familije bukava, borova trava i lukovica, u smokvi, fikusu, dudu, eukalptusu i karanfiliću (Vannozzi et al., 2012). Iz grupe stilbena, resveratrol je najviše zastupljen u prirodi i prevashodno ga ima u grožđu i vinu. Resveratrol se u prirodi javlja u *cis* i *trans* izomernom obliku, uglavnom kao glikozid. U biljkama se sintetiše kao odgovor na infekciju patogenima ili kao odgovor na stres prouzrokovan naglim klimatskim promenama (Bavaresco, 2002; Delmas et al., 2006). Opsežnija istraživanja jedinjenja iz grupe stilbena su pokrenuta početkom devedestih godina prošlog veka, kada se došlo do saznanja da poseduju kardioprotektivna i hemopreventivna svojstva (Aziz et al., 2003).

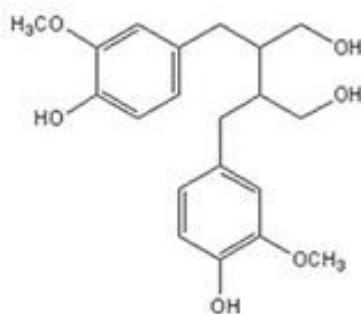


Slika 2.14. Hemijska struktura stilbena (Howard i Hager, 2007)

U plodovima maline i kupine, stilbeni nisu identifikovani, ali su prisutni u plodovima borovnice i brusnice. Resveratrol je prisutan u koncentraciji od 0.7 do 588.4 mg/100 g suve mase ploda, i utvrđeno je da ga u plodovima borovnice i brusnice iz severnih regija ima više nego u plodovima iz južnijih regija. Pterostilben i piceatanol su prisutni u mnogo nižim koncentracijama, od 9.9 do 52 mg/100 g suve mase ploda za pterostilben i od 18.6 do 42.2 mg/100 g suve mase ploda za piceatanol (Rimando et al., 2004). Resveratrol se u crvenom vinu nalazi u količinama do 7 mg/L u aglikonskoj formi i do 15 mg/L u glikozidnoj formi (Bertelli et al., 1997; Bhat i Pezzuto, 2002)

2.4.2.6. Lignani

Lignani su bifenolne komponente koje se mogu naći u plodovima jagodastog voća, a mogu se naći u prirodi i u mnogim drugim biljkama koje se koriste za ljudsku ishranu. Najzastupljeniji predstavnici ove grupe jedinjenja koji se mogu naći u plodovima kupine i maline su sekoizolaricirezinol i matairezinol (Meagher i Beecher, 2000). Prema podacima objavljenim od strane Mazur et al. (2000) sadržaj sekoizolaricirezinola u plodovima kupine i maline je 3.72 i 0.14 mg/100 g suve mase ploda, prema redosledu u tekstu. Matairezinol je detektovan samo u plodovima kupine i to u koncentracijama manjim od 0.01 mg/100 g suve mase ploda.



Slika 2.15 Hemijska struktura lignana (Howard i Hager, 2007)

2.5. Voćna vina

Voćno vino predstavlja proizvod dobijen alkoholnom fermentacijom soka ili kljuka određene vrste voća. Prvi pisani podaci o proizvodnji voćnih vina koji se mogu sresti u literaturi odnose se na vino od jabuke (cider). Proizvodnja voćnih vina od jagodastog voća u svetu još uvek nije toliko prihvaćena, delimično zbog visoke cene voća a delimično zbog širokog spektra proizvoda koji se mogu dobiti od ovog voća. U Srbiji je proizvodnja voćnih vina od maline i kupine u poslednje dve decenije prilično razvijena, što je i razumljivo, ako se uzme u obzir da je Srbija najveći proizvođač maline i kupine u Evropi (Strik et al., 2007; Nikolić i Milivojević, 2010).

Voćna vina proizvedena u različitim zemljama se razlikuju po mnogim karakteristikama, a takođe je različita i zakonska regulativa u tim državama koja propisuje parametre kvaliteta ovog proizvoda. Pod nazivom voćno vino može se stavlјati u promet piće dobijeno alkoholnom fermentacijom voćnog soka ili koncentrisane voćne kaše, i šećera, po tehnološkom postupku koji se primenjuje u proizvodnji vina propisanom Pravilnikom o načinu i postupku proizvodnje i o kvalitetu stonih vina, kao i vina sa geografskim poreklom (Sl. glasnik RS br. 87/11 od 29.11.2011). Voćnom vinu mogu se dodavati nefermentisani voćni sok ili nefermentisani voćni sokovi i stavlјaju se u promet kao mešana voćna vina. Voćno vino koje nosi naziv jedne vrste voća mora biti proizvedeno od najmanje 70 % vrste voća po kojoj nosi naziv. Voćna vina i mešana voćna vina mogu se proizvoditi uz dodatak CO₂ do maksimalno 6 g/L. Voćna vina i mešana voćna vina sa dodatkom CO₂ stavlјaju se u promet kao gazirana voćna vina, odnosno gazirana mešana voćna vina.

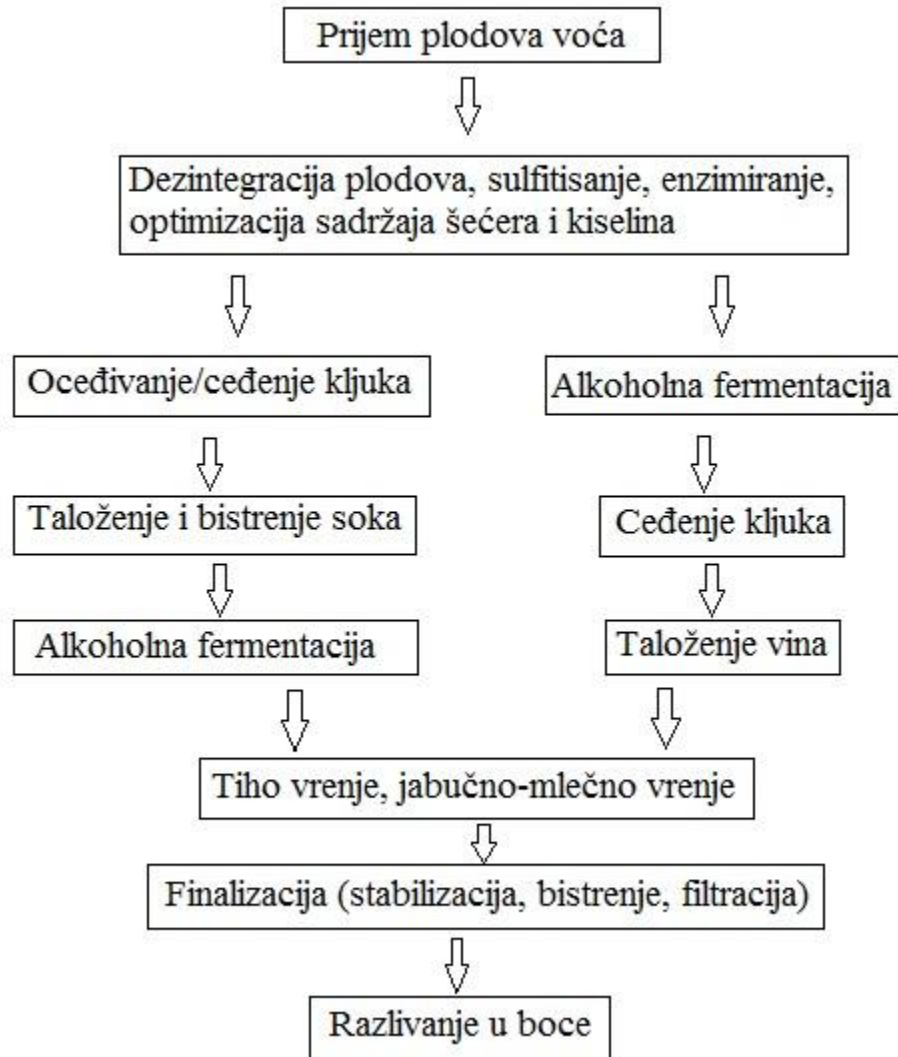
2.5.1. Tehnološki postupak proizvodnje voćnih vina

Postoje dva osnovna postupka u proizvodnji voćnih vina. Prvi, "Country wine style" koji je široko prihvaćen i rasprostranjen u zemljama zapadne Evrope i Severne Amerike. Ovaj način proizvodnje vina ima zadatak da što više očuva voćni karakter, odnosno da se karakteristike sirovine od koje se proizvodi vino jasno reflektuju u vinu. Drugi postupak, koji je identičan kao i proizvodnja crvenog vina od grožđa ili ima veliku sličnost sa proizvodnjom posebnih tipova vina, kao što su porto ili šampanjska vina.

Generalno, tehnološki proces proizvodnje voćnih vina je u svakom slučaju sličan tehnološkom procesu proizvodnje vina od grožđa (Slika 2.15.). Glavne razlike se javljaju na početku samog procesa, i to se uglavnom odnosi na optimizaciju sadržaja šećera i kiselina kao i njihovog međusobnog odnosa, a u cilju dobijanja harmoničnog, dobro izbalansiranog vina.

Prilikom prijema plodova voća maline i kupine, odmah se pristupa dezintegraciji plodova odgovarajućim uređajima, jer nema zahteva za pranjem plodova, a takođe, zbog veoma tanke i osetljive pokožice, pranje plodova voća maline i kupine nije ni poželjno. U toku dezintegracije plodova, vrši se sulfitisanje kljuka dodatkom 5-6 % rastvora sumporaste kiseline ili kalijum metabisulfita, tako da sadržaj ukupnog SO₂ ne bude veći od 50 mg/kg kljuka. Ako se dezintegrisanom voćnom kljuku dodaju pektolitički enzimi, nije preporučljivo to raditi u isto vreme kada se vrši sulfitisanje, jer SO₂ inhibira aktivnost pektolitičkih enzima. Najbolje je da se ova operacija obavi nekoliko sati nakon sulfitsanja, kada se veći deo slobodnog SO₂ veže. Osnovni cilj dodavanja pektolitičkih enzima kljuku je likvefakcija kljuka i olakšano ceđenje, što je preporučljivo ako se nakon dezintegracije odmah pribegava ceđenju kljuka i daljoj proizvodnji voćnih vina fermentacijom voćnog soka. Ako se proizvodnja voćnih vina vrši po postupku kao za crvena vina, gde se ceđenje kljuka obavlja nakon završene alkoholne fermentacije, nije neophodno dodavati pektolitičke enzime u kljuk (McKay et al., 2011).

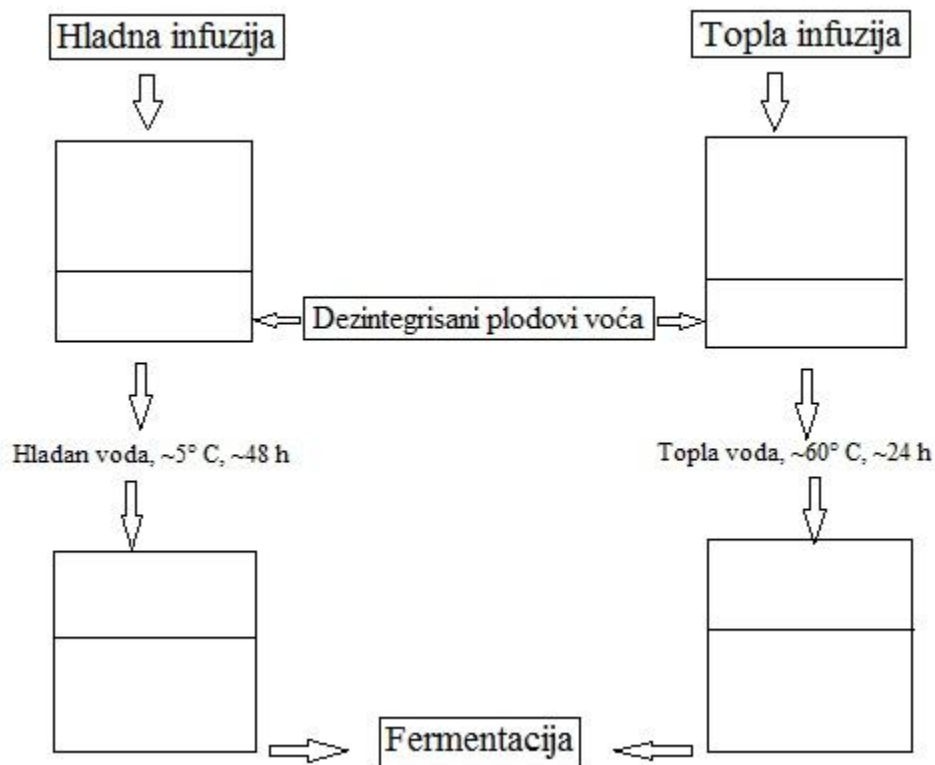
Nakon sulfitsanja i enzimiranja kljuka, ako je potrebno, vrši se optimizacija sadržaja šećera i kiselina. Najbolje je to obaviti odmah u toku dezintegracije plodova, jer nakon toga više nema nikakvih potreba za bilo kakvim intervencijama u tom smislu. Postoji nekoliko alternativa za optimizaciju sadržaja šećera i kiselina. Dodatak šećernog sirupa i/ili vode je najjednostavniji i najbrži metod. Ovaj način optimizacije se praktikuje kod "Country wine style" tipa voćnih vina. Da bi se izbeglo dodavanje šećera i vode u kljuk, a da bi se ujedno napravio dobar balans u sadržaju šećera i kiselina, vrlo često tehnološki proces proizvodnje vina ovog tipa ide u smeru proizvodnje poluslatkih vina.



Slika 2.16. Opšta šema tehnološkog postupka proizvodnje voćnih vina

Pri proizvodnji suvih voćnih vina, primenom tehnološkog procesa proizvodnje vina od grožđa, praksa je da se optimizacija sadržaja šećera i kiselina vrši dodatkom vode, tehnikom hladne ili tople infuzije (Slika 2.17.). Primena hladne infuzije ima prednost u odnosu na metod tople infuzije, jer se izbegava gubitak aromatičnih materija kao i sinteza novih jedinjenja, produkata Maillard-ove reakcije, a koja imaju negativan uticaj na kvalitet budućeg vina. U toku hladne ili tople infuzije, u određenim vremenskim intervalima, vrši se homogenizacija kljuka mehaničkim mešanjem. Dodatak pektolitičkih enzima u kljuk, u

slučaju da se koristi tehnika tople infuzije, treba odložiti do momenta kada temperatura kljuka dostigne sobnu temperaturu (McKay et al., 2011).



Slika 2.17. Šema optimizacije sadržaja kljuka tehnikom hladne i tople infuzije

Primenom tehnike tople infuzije, usled povišene temperature kljuka, destrukcija ćelijskog matriksa voća je intenzivnija, što za posledicu ima intenzivniju prefermentativnu maceraciju kljuka, koja ima ključnu ulogu u povećanju sadržaja ukupnog ekstrakta u budućem vinu. Na višim temperaturama kljuka, efekat SO_2 u prefermentativnoj maceraciji je jači, jer povećava permeabilnost ćelijskih membrana voća koje nisu destruisane, a ujedno su antimikrobna svojstva SO_2 intenzivnija, što za posledicu ima bolju zaštitu kljuka do momenta početka fermentacije (Somers i Wescombe, 1982; Chatonnet et al, 1993; Romano i Suzzi, 1993; Barbe et al, 2000; Ribéreau-Gayon et al., 2006).

Nakon obavljene korekcije sadržaja kiselina i šećera, sledi alkoholna fermentacija. U današnje vreme, alkoholna fermentacija se skoro isključivo obavlja selekcionisanim

kvascima. Prednosti alkoholne fermentacije selekcionisanim kvascima u odnosu na spontanu fermentaciju su brojne: Isključena je mogućnost nastajanja neželjenih produkata metabolizma, bolja konverzija šećera u etanol, mogućnost fermentacije na nižim temperaturama, kraće vreme fermentacije, bolja tolerancija na povišen sadržaj alkohola, brži start fermentacije. Danas su selekcionisani kvasci specijalno adaptirani za proizvodnju voćnih vina komercijalno dostupni i postoji čitav spektar različitih sojeva kvasaca sa različitim karakteristikama, u zavisnosti od zahteva proizvođača. Svi komercijalno dostupni kvasci su u liofilizovanom stanju, i pre starta fermentacije neophodno je izvršiti rehidraciju. Rehidracija se obavlja na temperaturi 38 – 40 °C u trajanju 10 - 15 minuta i nakon toga se vrši inokulacija kljuka koji je spreman za fermentaciju. Početna koncentracija ćelija kvasaca koja treba da se postigne u kljuku je 10^6 ćelija po gramu kljuka, a što odgovara količini 0.25 - 0.4 g liofilizovanog kvasca po gramu kljuka. Nakon 12 h od momenta inokulacije vidljivi su prvi znaci fermentacije. Izbor temperature fermentacije zavisi od ciljeva koji žele da se postignu. Ako je cilj proizvesti ekstraktivna, jako obojena vina, preporučljivo je da se fermentacija obavlja na višim temperaturama, u opsegu 22 – 25 °C. Ako je cilj da se proizvedu laganija vina, sa izraženim sortnim mirisom, preporučljive su niže temperature fermentacije, u opsegu 16 – 18°C.

Usled oslobađanja ugljendioksida u toku fermentacije dolazi do raslojavanja kljuka i odvajanja čvrstih i tečnih delova kljuka i dolazi do formiranja “kape”, koja se nalazi u gornjoj zoni suda za fermentaciju. Pored toga, neposredno oko čvrstih delova kljuka dolazi do zasićenja tečnog dela kljuka komponentama koje se ekstrahuju iz čvrstih delova kljuka a takođe, javlja se i temperaturno raslojavanje i formiranje temperaturnih zona u samom kljuku. Zbog svih gore navedenih činjenica, u toku trajanja fermentacije, neophodno je vršiti homogenizaciju kljuka na svakih 6 – 8 h. Fermentacija kljuka, u zavisnosti od zahteva i uslova, traje 7 do 10 dana, nakon čega sledi ceđenje. Ceđenje se vrši na presama/cednicama koje se koriste u proizvodnji voćnih sokova ili vina od grožđa. Ceđenje kljuka nakon obavljene alkoholne fermentacije je dosta olakšano u odnosu na ceđenje kljuka pre alkoholne fermentacije: viskozitet i gustina tečnog dela kljuka su znatno manji, drenažna svojstva čvrstog dela kljuka su bolja, a što je posledica dužeg delovanja pektolitičkih enzima kao i sveukupnog efekta produkovanog etanola, ugljendioksida i

povišene temperature u toku fermentacije. Na savremenim pneumatskim presama, radni pritisci su znatno niži u odnosu na hidraulične i mehaničke prese starijeg datuma. Kontaktne površine radnih delova prese su velike pa je debljina sloja pogače koja se formira od čvrstih delova kljuka manja, te ne postoje zahtevi za visokim pritiscima, a randman koji se postiže je jednak ili veći u odnosu na rad sa hidrauličnim ili mehaničkim presama.

Nakon obavljenog ceđenja, dobijeno mlado vino se transportuje u posude gde se vrši tiho vrenje (doviranje) i ujedno taloženje grubih nečistoća. Nakon nekoliko dana od ceđenja, vrši se prvo pretakanje, i osnovni cilj je da se vino ukloni sa taloga sa grubim nečistoćama i liziranim ćelijama kvasca, a što može da prouzrokuje pojavu neprijatnog mirisa.

Ako postoje uslovi i zahtevi za jabučno-mlečnom fermentacijom voćnih vina, najbolje je da se to obavi u momentu nakon završene alkoholne fermentacije. Sadržaj jabučne kiseline u plodovima maline i kupine može da bude do 50 % u odnosu na sadržaj ukupnih kiselina. Ako se to ima u vidu, kao i to da je skoro uvek neophodno vršiti korekciju sadržaja kiselina u voćnim vinima, mogućnost primene biološke deacidifikacije može da ima veliki značaj. Aktivnošću bakterija jabučno-mlečnog vrenja (*Oenococcus oeni*), jabučna kiselina koja ima dve karboksilne grupe se transformiše u mlečnu kiselinu koja ima jednu karboksilnu grupu, te se na taj način smanjuje stepen kiselosti vina (Alexandre et al., 2004; Bauer i Dicks, 2004). Kao što je slučaj sa selekcionisanim sojevima kvasca, postoje i komercijalno dostupne selekcionisane kulture bakterija jabučno-mlečnog vrenja. Jabučno-mlečno vrenje u voćnim vinima može se obavljati paralelno sa alkoholnom fermentacijom (simultano) i nakon završene alkoholne fermentacije (sekvencijalno). Inokulacija kljuka ili vina se vrši nakon rehidracije liofilizovane kulture bakterija jabučno-mlečnog vrenja, a početna koncentracija bakterija koja je potreban da bi jabučno-mlečno vrenje moglo nesmetano da se odigrava je 10^6 ćelija/mL vina ili kljuka. Faktori koji utiču na aktivnost bakterija jabučno-mlečnog vrenja su: temperatura, pH vrednost, SO_2 , etanol i kiseonik. Ako su svi navedeni faktori u okviru optimalnih vrednosti, jabučno-mlečno vrenje traje 4-6 nedelja. Osim transformacije jabučne kiseline u mlečnu, aktivnošću bakterija jabučno-mlečnog vrenja se sintetišu značajne količine glicerola, a u manjoj meri

diacetil i neki laktoni, a što sveukupno ima pozitivan uticaj na senzorna svojstva vina (Ribéreau-Gayon et al., 2006).

Sledeći korak u procesu proizvodnje voćnih vina je finalizacija i priprema vina za razlivanje u boce. Bistrenje voćnih vina se obavlja po istom principu kao vina od grožđa a agensi koji se primenjuju su najčešće bentonit i agensi za bistrenje proteinske prirode (želatin, albumin, kazein, riblji mehur). Pre bilo kakve aplikacije sredstava za bistrenje na ukupne količine vina, neophodno je obaviti test u laboratoriji i utvrditi potrebnu količinu i tip sredstava za bistrenje. Nakon “probe u malom”, ispituje se stabilnost izbistrenih vina odgovarajućim metodama (toplotni test, bentotest). Kada se utvrde potrebne količine i tip sredstava za bistrenje, pristupa se bistrenju vina. Veoma je bitno da temperatura vina koje se priprema za bistrenje bude adekvatna i takođe, treba na odgovarajući način pripremiti/aktivirati sredstva za bistrenje. Optimalna temperatura vina koje treba da se bistri je oko 15°C. Ako je bentonit sredstvo za bistrenje, uobičajene koncentracije potrebne da vino bude adekvatno izbistreno su oko 1g/L vina. Ako je izbor sredstava za bistrenje neki od proteinskih agenasa, koncentracije mogu da variraju u zavisnosti od izbora sredstava. Takođe, prilikom bistrenja, da bi se postigao odgovarajući stepen stabilnosti, mogu se kombinovati sredstva za bistrenje različitog porekla. Uobičajeno vreme koje je potrebno da bi se reakcija odigrala i primenjeni agensi istaložili je od dve do tri nedelje. Nakon toga, pristupa se filtraciji odgovarajućim filterima, kontrola sadržaja sumpordioksida i korekcija istog ako je neophodno, i vrši se razlivanje vina u boce. Ako se razliva suva vina u boce, nije neophodno toplo punjenje ili pasterizacija. Ako se pak vrši razlivanje polusuvih ili poluslatkih vina u boce, neophodno je obaviti toplo punjenje ili pasterizaciju, kako bi se osigurala mikrobiološka stabilnost vina (Ribéreau-Gayon et al., 2006; Lambri et al., 2012).

2.6. Senzorna analiza

Kada se konzument nađe pred nekim pićem, dovoljno je da ga samo pogleda i već započinje, voljno ili nevoljno, njegova prva degustaciona vežba. Ukoliko se odluči da popije sadržaj iz čaše, sva njegova razmišljanja će teći gotovo istim tokom kao kod

ocenjivača koji analizira vino sa ciljem da iznese svoje mišljenje i donese konačni sud o vinu. S obzirom da je upotreba čula veoma lična stvar, završni komentari koji slede posle uzimanja gutljaja vina biće subjektivni. Nije neobično da se mišljenja više ocenjivača razlikuju, mada je u cilju donošenja objektivnih zaključaka uspostavljen metod koji se zasniva na logici i razumu. Ovaj metod se naziva degustacija i predstavlja uređenu formu onoga što je radio i sam konzument vina u nameri da iznese svoj sud o vinu.

Degustirati znači pažljivo probati proizvod čiji kvalitet treba oceniti, odnosno podvrgnuti ga svim ljudskim čulima, a posebno čulu vida, mirisa i ukusa, sa ciljem da ga upoznamo tražeći različite mane i kvalitete koji se mogu opisati. To zahteva visok nivo teorijskog znanja i dugogodišnju praksu i vladanje vokabularom koji omogućava adekvatan opis izvršene analize. Degustirati znači proučavati, analizirati, opisati, definisati, oceniti i klasifikovati (Peynaud i Blouin, 1996).

Čula uključena u degustaciju mogu da se usavršavaju, ali to zahteva neprekidnu vežbu, uz konstantno unapređenje teorijskog znanja. Ipak, važno je reći da postoje i osobe za koje se može reći da su rođeni degustatori. Da bi neko postao dobar degustator, jasno je da je neophodno dobro pamćenje, dobri čulni kapaciteti i tehnika degustiranja. Takođe, veština iznošenja mišljenja se menja u zavisnosti od iskustva degustatora i veoma je bitno na vešt i razumljiv način izneti mišljenje o ocenjenom proizvodu.

Dobar degustator tokom analize ukusa i mirisa mora da bude precizan i metodičan. Degustator može da bude "empirijski" ili "tehnički" u zavisnosti od tehničkih sposobnosti, pripreme, znanja i posebnog iskustva. Da bi se neko smatrao pravim degustatorom, mora da poseduje logiku i da bude sposoban da iznese najobjektivniji mogući sud o nečemu. Da bi neki proizvod bio na adekvatan način senzorno analiziran i ocenjen, bez uticaja subjektivnosti ocenjivača i uslova sredine, mora biti na odgovarajući način i u odgovarajućem ambijentu prezentovan. Neophodni uslovi su pažnja i koncentracija a trezvenost je predispozicija dobrog ocenjivača. Uslovi sredine gde se vrši senzorna analiza su strogo definisani: osvetljenost, temperatura i vlažnost vazduha prostorije moraju biti na odgovarajućem nivou.

3. CILJEVI ISTRAŽIVANJA

Predmet istraživanja ove disertacije bila je optimizacija uslova u procesu proizvodnje voćnih vina od maline i kupine, a u cilju maksimizacije sadržaja bioaktivnih komponenti, pre svega polifenolnih jedinjenja. Temperatura, sadržaj SO₂, soj kvasca, i dužina trajanja maceracije/fermentacije su parametri koji imaju ključnu ulogu na dinamiku i tok ekstrakcije, kako polifenolnih jedinjenja tako i drugih rastvorljivih komponenti prisutnih u plodovima voća. Promenom uslova fermentacije preko ovih parametara i analizom dobijenih uzoraka, definisani su uslovi fermentacije pri kojima se postiže maksimalno moguća ekstrakcija polifenolnih jedinjenja.

Postavljeni ciljevi su bili:

- Utvrđivanje potencijala pojedinih sorti maline i kupine kao sirovina za proizvodnju voćnih vina
- Utvrđivanje uslova fermentacije i definisanje tehnoloških parametara pod kojima se dobija maksimalno mogući sadržaj polifenolnih jedinjenja i maksimalno mogući antioksidativni kapacitet u voćnim vinima
- Karakterizacija finalnog proizvoda sa aspekta osnovnih parametara kvaliteta, ukupnog sadržaja polifenola i antioksidativnog kapaciteta
- Utvrđivanje/definisanje veze između parametara fizičko-hemijske analize i senzornih svojstava
- Poređenje kvaliteta dobijenih uzoraka iz ovog ogleda sa kvalitetom komercijalno dostupnih voćnih vina
- Senzorna analiza dobijenih uzoraka

4. MATERIJALI I METODE

4.1. Priprema uzoraka vina

Plodovi maline i kupine su sakupljeni sa poljoprivrednog gazdinstva u okolini Aleksandrovca. Prikupljeni su plodovi divlje kupine (*Rubus fruticosus L.*) kao i plodovi dve gajene sorte kupine (Čačanska bestrna i Tornfri) i dve gajene sorte maline (Vilamet i Miker). Plodovi su sakupljeni sa istog lokaliteta, te su na taj način elimisane eventualne razlike koje bi postojale u uzorcima vina prouzrokovane različitim sastavom zemljišta i mikroklimatskim uslovima. Do početka izvođenja eksperimenta, plodovi su čuvani zamrznuti na temperaturi -25°C. Dezintegracija plodova je obavljena manuelno a zatim je obavljena alkoholna fermentacija dobijenog kljuka bez odvajanja soka i čvrstih delova. U tabeli 4.1. su date vrednosti za sadržaj ukupne suve materije i pH vrednost u uzorcima pre početka fermentacije.

Tabela 4.1. Sadržaj ukupne suve materije i pH vrednost u uzorcima pre početka fermentacije

Sorte maline i kupine	Sadržaj ukupne suve materije (°Bx)	pH vrednost
Vilamet	11.26	2.93
Miker	10.05	2.96
Čačansak bestrna rana	12.35	3.09
Tornfri	11.47	2.96
Divlja kupina	20.07	4.07

Fermentacija je obavljena u staklenim fermentorima zapremine 2 L, i ukupno je proizvedeno, pripremljeno i analizirano 50 uzoraka koji su fermentisali pod uslovima kao što je navedeno u tabeli 4.2.

Koncentracija SO₂ u uzorcima u kojima je dodat pre fermentacije je bila 50 mg/L ukupnog SO₂. Uzorci koji su fermentisali sa selekcionisanim ćelijama kvasca su inokulisani sa 0.4 g/L suve biomase kvasca. *Saccharomyces cerevisiae* EC1118 (Lallemand, Canada) je selekcionisani kvasac koji je korišćen za fermentaciju u ovom

eksperimentu. Fermentacija je trajala do momenta kada nije bilo razlike u sadržaju alkohola između dva uzastopna merenja u uzorcima. Vreme trajanja fermentacije kod svih uzoraka nije bilo duže od 120 h.

Nakon prvih analiza, izdvojeni su uzorci sa najboljim rezultatima i u cilju dodatnih ispitivanja kao i potvrde valjanosti postavljanja ogleda, obavljena je ponovna fermentacija. Uzorci KD9, KČ9, KT9, MM9 i MV9 su fermentisali kao kljuk na 22 °C sa selekcionisanim kvascima uz dodatak SO₂ u trajanju 360 h. Uzorci KD10, KČ10, KT10, MM10, MV10 su fermentisali kao sok na 22 °C sa selekcionisanim kvascima uz dodatak SO₂ u trajanju 360 h (Tabela 4.2.).

Tabela 4.2. Oznake uzoraka i uslovi fermentacije

Oznaka uzorka*	Uslovi fermentacije		
	Temperatura fermentacije (°C)	Sulfitisnje kljuka	Selekcionisani kvasci
KD1/KČ1/KT1/MM1/MV1	22	Ne	Ne
KD2/KČ2/KT2/MM2/MV2	22	Ne	Da
KD3/KČ3/KT3/MM3/MV3	22	Da	Ne
KD4/KČ4/KT4/MM4/MV4	22	Da	Da
KD5/KČ5/KT5/MM5/MV5	15	Ne	Ne
KD6/KČ5/KT5/MM5/MV5	15	Ne	Da
KD7/KČ7/KT7/MM7/MV7	15	Da	Ne
KD8/KČ8/KT8/MM8/MV8	15	Da	Da
KD9/KČ9/KT9/MM9/MV9	22	Da	Da
KD10/KČ10/KT10/MM10/MV10	22	Da	Da

*KD – divlja kupina; KČ – sorta kupine Čačanska bestrna; KT – sorta kupine Tornfri; MM – sorta maline Miker; MV – sorta maline Vilamet

Da bi se utvrdilo da li postoji razlika u hemijskom sastavu i senzornim svojstvima između uzoraka pripremljenih za svrhe ovog istraživanja i komercijalno dostupnih uzoraka, obavljena je dodatna analiza sledećih uzoraka:

- K1 – voćno vino od kupine (Vinarija Čoka)
- K2 – voćno vino od maline (Foodland)

Nakon određivanja momenta završetka fermentacije, obavljeno je ceđenje kljuka na hidrauličnoj presi a dobijeno vino je razliveno u staklene boce, nakon čega je usledilo tiho vrenje, taloženje i pretakanje u nekoliko navrata, sve dok vino nije dostiglo fizičko-hemijsku stabilnost.

Kinetika fermentacije je praćena merenjem sadržaja etanola, odnosno šećera, na svakih 24 h, od početka do kraja fermentacije. Određivanje sadržaja ukupnih polifenola metodom po Folin Ciocalte-u, u cilju praćenja kinetike ekstrakcije polifenolnih jedinjenja je takođe vršeno na svakih 24 h, od početka do kraja fermentacije. Nakon obavljene alkoholne fermentacije, u već stabilnim uzorcima voćnih vina, obavljene su sledeće analize:

- 1) Određivanje sadržaja polifenola kombinacijom tečne hromatografije i masene spektrometrije (LC/MS);
- 2) Određivanje sadržaja monomernih antocijana pH diferencijalnom metodom;
- 3) Određivanje antioksidativne aktivnosti FRAP metodom;
- 4) Određivanje DPPH radikalske aktivnosti;
- 5) Određivanje antioksidativnog kapaciteta TEAC (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity) metodom;
- 6) Određivanje intenziteta boje soka, odnosno vina;
- 7) Određivanje sadržaja ukupnih kiselina metodom potenciometrijske titracije;
- 8) Određivanje sadržaja ukupnog ekstrakta,
- 9) Određivanje pH vrednosti;
- 10) Određivanje sadržaja isparljivih kiselina;
- 11) Senzorna analiza uzoraka vina.

4.2. Određivanje sadržaja ukupne suve materije, etanola i ukupnog ekstrakta

Da bi se pratila kinetika fermentacije, od početka pa do kraja alkoholnog vrenja, na svaka 24 h, analiziran je sadržaj šećera, etanola i ukupnog ekstrakta na Anton Paar alkoholajzeru, (DMA 4500, Anton Paar GmbH, Austria). Prethodno centrifugirani i filtrirani uzorci su injektovani u uređaj i rezultati su očitavani direktno sa monitora uređaja. Sadržaj

ukupne suve materije je izražen u °Bx, sadržaj alkohola u % v/v, a sadržaj ukupnog ekstrakta u g/L vina.

4.3. Određivanje sadržaja ukupnih kiselina (metoda potenciometrijske titracije)

Princip metode

Potenciometrijska titracija je volumetrijska metoda kojom se meri potencijal između dve elektrode (referentne i indikatorske elektrode) kao funkcija dodatog volumena reagensa. Osnovni princip potenciometrijske titracije je određivanje koncentracije kiseline u ispitivanom rastvoru titracijom sa nekim standardnim rastvorom pri čemu nagla promena potencijala indikatorske elektrode određuje završnu tačku titracije.

Reagensi i aparatura

- 0.1 M rastvor NaOH
- pH metar
- magnetna mešalica

Postupak

Aparatura za potenciometrijsku titraciju se sastoji od pH-metra i magnetne mešalice. U erlenmajer od 100 mL odmereno je 20 mL uzorka vina, ubačen magnet i kombinovana pH elektroda. Titracija je izvršena 0.1 M rastvorom NaOH koji je dodavan u alikvotima od po 0.2 mL. Posle svakog alikvota je očitavana i beležena pH vrednost, a titracija je nastavljena sve dok pH vrednost vina nije dostigla 12.00. Konstruisan je grafik (broj utrošenih mL 0.1M rastvora NaOH u funkciji od pH vrednosti) za svaki od ispitivanih uzoraka, na osnovu kojeg je određena završna tačka titracije i očitana vrednost broja utrošene zapremine rastvora NaOH (Rajković, 2007). Sadržaj ukupnih kiselina u uzorcima je izražen kao broj grama jabučne kiseline po litri vina na osnovu sledeće jednakosti:

$$TA \text{ (g/L H}_2\text{M)} = 67.04 \times M(\text{NaOH}) \times (\text{br. mL NaOH/br. mL uzorka})$$

4.4. Određivanje količine pepela u vinu

Princip metode

Spaljivanjem ekstrakta (suve materije) vina, ostaju mineralne materije vina ili pepeo. Spaljivanje se vrši na temperaturi između 500 i 550 °C do potpune oksidacije (sagorevanje) prisutne organske materije. Spaljivanje se sprovedi na način koji obezbeđuje da svi katjoni (osim amonijum jona) budu konvertovani u karbonate ili druge anhidrovane neorganske soli (OIV-MA-AS2-04: R2009). U vinima se principijelno nalaze iste mineralne materije kao u širi, ali je njihov sadržaj u vinu uvek niži. Nešto mineralnih materija troše kvasci tokom alkoholne fermentacije a značajna količina minerala se u obliku soli ireverzibilno taloži. Minimalni sadržaj pepela u voćnim vinima je 1 g/L.

Reagensi i pribor

- vodeno kupatilo
- vaga osetljivosti 0.1 mg
- rešo ili infra-crveni uparivač
- termostatski kontrolisana peć za žarenje
- eksikator
- platinasta posuda ravnog dna, prečnika 70 mm i visine 25 mm

Postupak

U prethodno tariranu platinastu posudu (P_0 , g) odmereno je 20 mL vina upareno na vodenom kupatilu a zatim na rešou zagrejano na 200 °C do početka karbonizacije. Nakon prestanka stvaranja dima posuda je prenesena u peć za žarenje koja je podešena na 525 ± 25 °C. Nakon 15 minuta žarenja posuda je iznesna iz peći, dodato je 5 ml destilovane vode, upareno na vodenom kupatilu i ponovo vraćena u peć za žarenje i žarenje je vršeno još 10 minuta. Postupak je ponovljen još dva puta, dok nije obavljena potupna karbonizacija. Nakon izvršenog žarenja, posuda sa pepelom je prenetu u eksikator na hlađenje nakon čega je obavljeno merenje mase posude sa pepelom i zabeležena je masa (P_1 , g).

Masa pepela u posudi (g) je: $P = (P_1 - P_0)$.

Sadržaj pepela u vinu izražen je u g/L, na dve decimale, a dobija se tako što je masa pepela u posudi (P) množena sa 50.

4.5. Određivanje količine sumpor dioksida u uzorcima vina (metoda po Ripper-u)

Princip metode

Metodom po Ripper-u količina slobodnog SO₂ u vinu određuje se direktno, titracijom sa I₂, pri čemu se I₂ redukuje a SO₂ oksidiše. Sadržaj vezanog SO₂ takođe se određuje jodometrijski u uzorku kod kojeg se vezani SO₂ oslobađa baznom hidrolizom.

Reagensi

- 0.01 M rastvor I₂
- rastvor H₂SO₄ (1:4)
- 1 M rastvor NaOH
- 1 % rastvor skroba

Postupak

Određivanje količine slobodnog SO₂

U erlenmajer sa šlifovanim čepom iz kog je prethodno ugljen dioksidom istisnut vazduh odmereno je 50 ml vina a zatim je dodato 10 mL H₂SO₄ i 3 mL 1 % rastvora skroba. Titracija je odmah obavljena sa 0.01 M rastvorom I₂ do pojave modro-plave boje koja je bila postojana 30 sekundi. Utrošak rastvora I₂ za titraciju (mL) je označen sa n.

Određivanje količine ukupnog SO₂

U erlenmajer sa šlifovanim čepom odmereno je 25 mL 1 M rastvora NaOH. Pipetom čiji je vrh bio uronjen u uneseni rastvor NaOH dodato je 50 mL vina i nakon 10 minuta dodato je 15 mL H₂SO₄ a zatim 3 mL 1 % rastvora skroba i izvršena je titracija 0.01 M rastvorom joda do pojave modro-plave boje koja je bila postojana 30 sekundi. Utrošak rastvora joda za titraciju označen je sa n' (Curvelo-Garcia i Godinho, 1986).

Sadržaj SO₂ u vinu je izračunat pomoću sledeće jednakosti:

$$X(\text{mg/L}) = n \times 12.8$$

4.6. Određivanje sadržaja isparljivih kiselina u vinu

Princip metode

Isparljive kiseline iz vina se izdvajaju dvojnomo destilacijom, u struji vodene pare. Količina isparljivih kiselina određuje se titracijom destilata rastvorom baze poznate koncentracije.

Aparatura i reagensi

- aparatura za dvojnomo destilaciju po Blarez-u
- 0.1M rastvor NaOH
- 1 % rastvor fenolftaleina u 96% etanolu

Postupak

U tikvicu za destilaciju vina odmereno je 50 mL vina a zatim je obavljena destilacija uzorka do polovine prvobitne zapremine. Istovremeno sa ovim postupkom vršeno je zagrevanje vode do ključanja u balonu za vodu. Kad je polovina vina iz tikvice za destilaciju prešla u destilat, počela je da se uvodi vodena para u tikvicu za destilaciju vina. Destilacija vina vodenom parom je nastavljena do momenta kada je u tikvici za prihvatanje destilata bilo oko 200 mL destilata. Dobijeni destilat je zagrejan do ključanja, zatim ohlađen, dodato je 2 – 3 kapi rastvora fenolftaleina i izvršena je titracija 0.1 M rastvorom NaOH do pojave prve svetloroze boje. Utrošak NaOH za titraciju označen je sa n (Daničić, 1985).

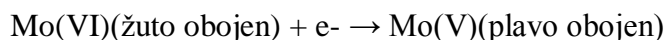
Količina isparljivih kiselina u vinu, izraženo u g/L kao sirćetna kiselina, izračunata je pomoću sledećeg obrasca:

$$X(\text{g/L}) = n \times 0,12$$

4.7. Određivanje sadržaja ukupnih polifenola (metoda po Folin-Ciocalteu)

Princip metode

Sadržaj ukupnih polifenola u uzorcima određivan je spektrofotometrijskom metodom po Folin-Ciocalteu. Metoda se zasniva na oksidaciji polifenolnih jedinjenja pomoću Folin-Ciocalteu reagensa koji se sastoji od smeše fosfovolframove i fosfomolibdenske kiseline. Ovaj rastvor oksidiše fenolna jedinjenja, a sam se redukuje u smešu WO_4^{2-} i MoO_4^{2-} . Kao rezultat oksidacije, rastvor se boji u plavo čiji je intenzitet obojenja proporcionalan sadržaju fenolnih jedinjenja. Intenzitet boje se meri spektrofotometrijski na $\lambda = 765 \text{ nm}$ (Singleton i Rossi, 1965; Singleton et al., 1999).



Reagensi

- Folin-Ciocalteu reagens ((2N), Merck, Nemačka)
- Na_2CO_3 (Merck, Nemačka)
- Galna kiselina (Sigma-Aldrich, Nemačka)

Postupak

U 20 μL prethodno centrifugiranog (10 minuta na 3500 o/min) i filtriranog (0.2 μm prečnik pora filtera) uzorka dodato je 1.58 mL destilovane vode praćeno dodatkom 100 μL Folin-Ciocalteu reagensa. Nakon osam minuta, dodato je 300 μL 20 % (m/v) rastvora Na_2CO_3 nakon čega je vršena inkubacija 2 h na 20 °C, kako bi se obavila reakcija. Apsorbanca svakog uzorka izmerena je na spektrofotometru na $\lambda = 765 \text{ nm}$. Na osnovu izmerenih apsorbanici, uz pomoć kalibracione krive standardnog rastvora galne kiseline, izračunat je sadržaj ukupnih polifenola prisutnih u uzorcima i rezultati su izraženi u mg/L ekvivalenta galne kiseline (mg/L GAE).

4.8. Određivanje antioksidativne aktivnosti u uzorcima vina (FRAP metoda)

Princip metode

FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power) metoda se zasniva na sposobnosti polifenolnih jedinjenja (antioksidanasa) da redukuju Fe^{3+} jone do Fe^{2+} jona. Nastali Fe^{2+} joni sa TPTZ reagensom (2,4,6-tripiridil-s-triazin) stvaraju plavo obojeni kompleks čiji se apsorpcijski maksimum očitava na $\lambda = 593$ nm. Reakcija se odigrava u kiseloj sredini (pH = 3.60).

Reagensi

- Acetatni pufer (pH = 3.60) (Glacijalna CH_3COOH , natrijum acetat, NaCl, (Merck, Nemačka))
- Trolox reagens (6-hidroksi-2,5,7,8-tetrametilhroman-2-karboksilna kiselina), LC/MS čistoća, (Fluka, Švajcarska)
- $\text{FeCl}_3 \times 6\text{H}_2\text{O}$ (Sigma-Aldrich, Nemačka)
- TPTZ reagens ((2,4,6-tris(2-piridil)-s-triazin), čistoća $\geq 99.0\%$, Fluka, Švajcarska)
- HCl (Merck, Nemačka)

Postupak

Za potrebe ovog istraživanja, korišćena je modifikovana semimikro metoda (Benzie i Strain, 1996). Rastvor FRAP reagensa je napravljen mešanjem acetatnog pufera (pH = 3.60), TPTZ reagensa (10 mM rastvor TPTZ reagensa u 40 mM HCl) i 20 mM rastvora $\text{FeCl}_3 \times 6\text{H}_2\text{O}$ u zapreminskom odnosu 10:1:1. Svi uzorci, standardi i reagensi su pre početka rada inkubirani na 37 °C. U 100 μL razblaženog uzorka vina dodato je 300 μL destilovane vode pa zatim 3 mL rastvora FRAP reagensa i cela reakciona smeša je inkubirana 40 minuta na 37 °C u cilju odigravanja reakcije. Nakon obavljene reakcije, obavljeno je merenje apsorbanace reakcione smeše na $\lambda = 593$ nm. Standardna kriva je konstruisana uz pomoć serije razređenja 1 mM rastvora Trolox reagensa a vrednosti su izražene u mmol Trolox ekvivalenata po litri vina (mmol TE/L). FRAP vrednosti za uzorke su dobijene uz pomoć sledeće jednačine:

FRAP = mmol Trolox ekvivalenta x 2

4.9. Određivanje kapaciteta vezivanja slobodnih radikala u uzorcima vina (DPPH metoda)

Princip metode

Kapacitet vezivanja slobodnih radikala ispitivanih uzoraka određen je merenjem njihove sposobnosti da neutrališu DPPH· radikale (DPPH test) (Brand-Williams et al., 1995). Metoda se zasniva na praćenju transformacije ljubičasto obojenog, stabilnog, azot-centriranog DPPH· radikala (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) u redukovanu žuto obojenu formu DPPH-H.

Reagensi

- DPPH reagens (2,2`-difenil-2-pikrilhidrazil), (Sigma-Aldrich, Nemačka)
- Trolox reagens (6-hidroksi-2,5,7,8-tetrametilhroman-2-karboksilna kiselina), LC/MS čistoća, (Fluka, Švajcarska)
- Etanol (96 % v/v), (Merck, Nemačka)
- Acetatni pufer (pH = 4.30) (Glacijalna CH₃COOH, Natrijum acetat, (Merck, Nemačka))

Postupak

Razređeni uzorci vina (0.2 mL) su dodati u DPPH radni rastvor (2.8 mL) (rastvor 0.186×10^{-4} mmol/L DPPH u etanolu i 0.1 M acetatnog pufera (pH = 4.30) u odnosu 2:1) Nakon 60 minuta inkubacije u mraku na sobnoj temperaturi izmerena je apsorbanca reakcione smeše na $\lambda = 525$ nm. DPPH reagens i destilovana voda korištene su kao slepa proba. Kalibraciona kriva je konstruiše kao procenat inhibicije DPPH radikala u funkciji od koncentracije Trolox reagensa. Rezultati su izraženi kao mmol Trolox ekvivalenta po litri uzorka (mmol TE/L). Procenat inhibicije DPPH radikala izračunat je na sledeći način:

$$\text{Aktivnost [\% DPPH redukcije]} = [A - A_s / A] \times 100$$

A – apsorbanca rastvora DPPH reagensa i etanola

A_s - apsorbanca rastvora DPPH i uzorka

4.10. Određivanje antioksidativnog kapaciteta vina (TEAC test)

Princip metode

TEAC (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity) test je zasnovan na principu inhibicije stabilnog $ABTS^{*+}$ radikala od strane antioksidativnih komponenti prisutnih u nekom medijumu. Koncentracija antioksidanasa u nekom uzorku je obrnuto proporcionalna vrednosti apsorbanca na $\lambda = 734$ nm. Antioksidativna aktivnost se izracunava na osnovu vrednosti pada apsorbanca i izražava se kao mmol Trolox ekvivalenta po litri vina (mmol TE/L).

Reagensi

- ABTS ((2,2'-azino-bis(3-ethylbenzo-tiazoline-6-sulfonska kiselina) diamoniumova so) reagens (Sigma-Aldrich, Nemačka)
- $K_2S_2O_8$ (Merck, Nemačka)
- fosfatni pufer (pH = 7.40)
- Trolox reagens (6-hidroksi-2,5,7,8-tetrametilhroman-2-karboksilna kiselina), LC/MS čistoća, (Fluka, Švajcarska)

Postupak

14 mM ABTS ((2,2'-azino-bis(3-ethylbenzo-tiazoline-6-sulfonska kiselina) diamoniumova so) rastvor i 4.9 mM rastvor $K_2S_2O_8$ su pripremljeni u fosfatnom puferu (pH = 7.40) i pomešani u jednakim zapreminama kako bi se dobio stabilan $ABTS^{*+}$ osnovni rastvor. Dobijeni plavo-zeleni rastvor je ostavljen da se temperira na tamnom mestu 16 h. Radni $ABTS^{*+}$ rastvor je pripremljen razređenjem osnovnog $ABTS^{*+}$ rastvora u fosfatnom puferu u odnosu približno 1:80, sve do postizanja vrednosti apsorbanca od 0.70 ± 0.02 apsorpcione jedinice na talasnoj dužini $\lambda = 734$ nm. U 30 μ L vina je dodato 3 mL $ABTS^{*+}$ radnog rastvora i nakon inkubacije u trajanju od 6 minuta na 30 °C obavljeno je merenje apsorbanca na talasnoj dužini $\lambda = 734$ nm. U toku celog procesa merenja

korišćena je slepa proba. Frakciona inhibicija (FI) ABTS^{*+} radikala je izračunata i koeficijent pravca krive (koncentracija u funkciji od frakcione inhibicije) za Trolox reagens koji je korišćen kao standard i svaki uzorak su stavljeni u odnos (Re et al., 1999). TEAC vrednost je izračunata na osnovu sledeće jednakosti:

$$\text{TEAC (mmol/L)} = \text{koeficijent pravca krive uzorka} / \text{koeficijent pravca krive standarda}$$

4.11. Spektrofotometrijska analiza intenziteta boje

Direktno merenje apsorbanci prethodno centrifugiranih uzoraka vina u cilju merenja intenziteta boje izvršeno je na spektrofotometru sa kvarcnom kivetom sa dužinom optičkog puta od 1 cm, na talasnim dužinama $\lambda = 420$, $\lambda = 520$ i $\lambda = 620$ nm (Glories, 1984; Wrolstad et al., 2005). Intenzitet boje (CI) je izražen u apsorbacionim jedinicama (AU) kao suma apsorbanci očitanih na sve tri talasne dužine:

$$\text{CI(AU)} = A_{420} + A_{520} + A_{620}$$

4.12. Određivanje sadržaja ukupnih antocijana (pH diferencijalna metoda)

Princip metode

Analiza sadržaja ukupnih antocijana u uzorcima vina nakon obavljene alkoholne fermentacije je izvršena pH diferencijalnom metodom (Giusti i Wrolstad, 2001). Korišćena su dva puferska sistema: Kalijum hloridni pufer pH = 1.00 (0.025 M) i Natrijum acetatni pufer pH = 4.50 (0.4 M). Sa promenom pH vrednosti rastvora antocijana menja se nijansa i intenzite boje antocijana. Pri pH = 1.00, antocijani se nalaze u obojenoj oksonijum ili flavilijum formi dok pri pH = 4.50 se nalaze uglavnom u manje obojenoj karbinolnoj formi. Razlika u apsorbanci uzorka merenim na pH = 1.00 i na pH = 4.50 je proporcionalna sadržaju antocijana.

Reagensi

- 0.025 M kalijum hloridni pufer (pH = 1.00)

- 0.4 M acetatni pufer (pH = 4.50)

Postupak

Od jednog uzorka vina su napravljena dva alikvota sa dve različite pH vrednosti, pH = 1.00 i pH = 4.50, ostavljena su 20 minuta na sobnoj temperaturi a zatim je izmerena apsorpcija na spektrofotometru na $\lambda = 510$ i $\lambda = 700$ nm. Sadržaj antocijana u uzorcima je izračunat pomoću molarnog ekstincionog koeficijenta za cijanidin-3-glukozid koji iznosi 26900 i apsorbance izračunate na osnovu sledeće jednakosti:

$$A = (A_{510} - A_{700})_{\text{pH}1.0} - (A_{510} - A_{700})_{\text{pH}4.5}$$

Rezultati su izraženi kao mg cijanidin-3-glukozid ekvivalenata po litri vina (mg CGE/L)

4.13. Određivanje sadržaja fenolnih kiselina i flavonoida u uzorcima vina (LC/MS analiza)

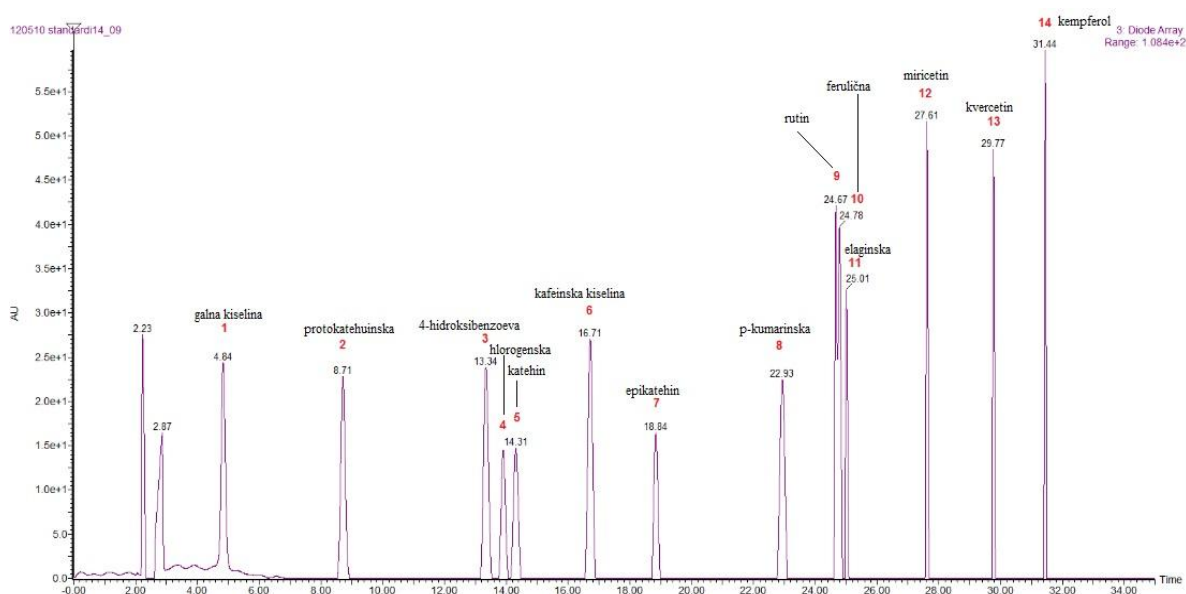
Aparatura i uslovi analize

Waters Acquity UPLC sistem sa kvaternarnom pumpom (Waters Quaternary Solvent Manager), autosemplerom, injektorom (Waters Sample Manager-FTN), ZORBAX Eclipse XDB C18 kolonom (150 × 4,6 mm; 5 μ m), grejačem kolone i PDA (Waters 2998 PDA) i MS detektorom je korišćen za analizu fenolnih jedinjenja. Kao mobilna faza korišćena je smeša rastvarača A (0,2 % rastvor mravlje kiseline u dejonizovanoj vodi) i B (acetonitril) sa programiranim gradijentnim eluiranjem (vreme (min)/ rastvarač B (%): 0/5, 20/16, 28/40, 32/70, 36/98, 45/98, 46/5, 55/5). Protok mobilne faze bio je 0.7 ml/min a temperatura kolone bila je 25 °C. Detekcija signala na PDA detektoru vršena je u opsegu talasnih dužina $\lambda = 190$ -450 nm. LC/MS efluent je uveden u ESI (elektro sprej jonizacija) izvor jona masenog spektrofotometra bez razdvajanja. Detektor je radio na niskoj rezoluciji u punom režimu skeniranja pod sledećim MS uslovima: negativan jon mod (ESI -); napon na kapilari - 3000 V; napon na konusu - 25 V; temperatura izvora - 150 °C; temperatura

desolvatacije – 350 °C; protok desolvacionog gasa - 800 l/h; a mase su merene u opsegu od 100-1500 *m/z*.

Priprema standarda

Pripremljena je serija standardnih rastvora mešanjem sledećih čistih standarda: galne kiseline, protokatehuinske kiseline, 4-hidroksi-benzoeve kiseline, kafeinske kiseline, hlorogenske kiseline, katehina, epikatehina, *p*-kumarne kiseline, elaginske kiseline, ferulične kiseline, rutina, miricetina, kvercetina i kemferola. Koncentracija svake od komponenti u rastvoru je bila: 0.714, 1.43, 3.57, 7.14, 14.28, 21.42, 28.56, 35.70, 49.98, 64.26, 71.40 µg/mL. Po 10 µL od svakog od standardnih rastvora injektovano je u sistem i dobijeni su rezultati. Na osnovu površine ispod pikova dobijenih od jona određene komponente iz standardnih rastvora napravljene su standardne krive za svaki od standardnih rastvora (Slika 4.1).



Slika 4.1. Hromatogram standardnih rastvora snimljen na PDA detektoru

Priprema uzoraka

Po 20 mL od svakog od uzoraka vina je ekstrahovano sa po 20 mL etil acetata. Ekstrakt je zatim osušen i rastvoren u 1 mL metanola i od ovog rastvora 10 μ L je injektovano u Waters ACQUITY UPLC/MS sistem. Stavljanjem u odnos površine ispod pikova dobijenih od jona određene komponente iz uzorka sa površinom ispod pikova dobijenih od jona određene komponente iz standardnih rastvora dobijene su koncentracije pojedinih komponenti u uzorku i izražene su kao mg/L vina. Za dobijanje i obradu podataka korišćen je softver MassHunter Workstation.

4.14. Senzorna analiza voćnih vina

Nakon obavljene alkoholne fermentacije, fizičko-hemijske stabilizacije i finalizacije, obavljena je senzorna analiza dobijenih uzoraka vina. Svi uzorci koji su bili podvrgnuti senzornom ocenjivanju su bili prezentovani u standardnoj degustacionoj čaši. Ocenjivanje je vršeno u prostorijama sa kontrolisanom atmosferom specijalno opremljenim za svrhe senzorne analize. Senzorna analiza uzoraka voćnih vina je izvršena od strane profesionalnog ocenjivačkog panela modifikovanom Buxbaum metodom pozitivnog rangiranja sa skalom do najviše 20 bodova. Ocenjivani su boja, bistrina, tipičnost, miris i ukus (Nikićević i Tešević, 2008). Izgled ocenjivačkog lista dat je na slici 4.2.

Bistrina predstavlja sveukupnu vizuelnu dopadljivost pića. Boja se definiše kao kombinacija vizuelno shvaćene informacije sadržane u svetlosti koju odašilje ili rasipa uzorak. Tipičnost je parametar koji definiše svojstva određenog pića koje se ocenjuje. Prema ovom kriterijumu, piće može biti nesvojstveno (atipično) i svojstveno (tipično) sirovini od koje je piće proizvedeno. Miris se definiše kao olfaktorni utisak pri udisanju i/ili izdisanju vazduha preko nosa. Ukus predstavlja najvažnije svojstvo nekog proizvoda i nastaje stimulacijom gustatornih receptora komponentama proizvoda koji se ocenjuje (Radovanović i Popov-Raljić, 2001).

OCENJIVAČKI LIST ZA JAKA PIĆA

Redni broj ocenjivača	Redni broj uzorka	Šifra uzorka

Osobine uzorka	Maksimalan broj poena	Ocena	Napomena
Boja	1		
Bistrina	1		
Tipičnost	2		
Miris	6		
Ukus	10		
Ukupno	20		

..... godine
(datum)

.....
(Potpis ocenjivača)

Slika 4.2. Izgled ocenjivačkog lista

4.15. Statistička analiza

Sve analize i merenja su obavljene u triplikatu i rezultati su predstavljeni kao srednja vrednost tri ponavljanja \pm standardna devijacija (SD). Statistička obrada dobijenih rezultata je vršena u računarskom softveru STATSOFT10 uz primenu analize varijanse (ANOVA) i Tukey HSD testa na nivou značajnosti $p \leq 0.05$.

Analiza glavnih komponenti (PCA – Principal Component Analysis) je vršena u računarskom SPSS20 softveru i prikazani su rezultati varimaks rotacije faktora sa Bartletovim testom sferičnosti ($\alpha \leq 0.05$) (Sheridan, 2013).

5. REZULTATI I DISKUSIJA

5.1. Fizičko-hemijska analiza uzoraka voćnih vina

Nakon završene alkoholne fermentacije i stabilizacije, svi uzorci su podvrgnuti osnovnoj fizičko-hemijskoj analizi. Analizirani su: sadržaj etanola, sadržaj ukupnih i isparljivih kiselina, sadržaj ukupnog i slobodnog SO₂, sadržaj ukupnog ekstrakta i sadržaj pepela. U tabeli 5.1. su predstavljeni rezultati fizičko-hemijske analize.

Najniži sadržaj ukupnih kiselina je detektovan u uzorcima od divlje kupine, i kretao se oko vrednosti 11.40 g/L kao jabučna kiselina. Sadržaj ukupnih kiselina u uzorcima KČ, KT, MM i MV je bio oko vrednosti 14.10, 13.30, 18.30 i 17.10 g/L, prema redosledu u tekstu. Nije postojala statistički značajna razlika u sadržaju kiselina u KD, KČ, KT, MM i MV uzorcima koji su fermentisali pod različitim uslovima. Sadržaj kiselina u uzorcima vina je pre svega uslovljen voćnom vrstom i kultivarom, zatim uslovima gajenja i klimatskim faktorima. Postoje velike fluktuacije u sadržaju kiselina u voćnim vinima proizvedenim od istih sorti jedne te iste voćne vrste gajenih u različitim regijama (Talcott, 2007). Kod uzoraka KD9, KČ9, KT9, MM9 i MV9 je detektovan nešto niži sadržaj kiselina, u proseku za 2g/L, u odnosu na gore pomenute uzorke, a što je prouzrokovano dužim kontaktom čvrstih i tečnih delova kljuka, te su kiseline reagovala sa mineralima prisutnim u vinu i ireverzibilno se istaložile. Takođe, u uzorcima KD10, KČ10, KT10, MM10 i MV10, koji su fermentisali kao voćni sok, je zapažena suprotna pojava, sadržaj ukupnih kiselina je bio viši u odnosu na sadržaj u uzorcima KD9, KČ9, KT9, MM9 i MV9.

Sadržaj isparljivih kiselina je uslovljen uslovima fermentacije, i najviše su prisutne u uzorcima koji su fermentisali spontano bez dodatka SO₂ (KD1, KČ1, KT1, MM1 i MV1). Takođe, uzorci koji su fermentisali na 15 °C su imali viši sadržaj isparljivih kiselina u odnosu na uzorke koji su fermentisali na 22 °C. Kod ovih uzoraka je period adaptacije kvasaca na uslove sredine bio duži, i početak fermentacije je bio odložen, pa je aktivnost bakterija sirćetnog vrenja bila intenzivnija, što je rezultiralo većim sadržajem isparljivih kiselina. Kod uzoraka KD9, KČ9, KT9, MM9 i MV9 sadržaj isparljivih kiselina je bio viši u odnosu na sadržaj u uzorcima KD10, KČ10, KT10, MM10 i MV10. Imajući u vidu da je dužina kontakta čvrste i tečne faze kod uzoraka KD9, KČ9, KT9, MM9 i MV9 bila 360 h, i

da je dodirna površina čvrstog dela kljuka velika, te je i izloženost kiseoniku bila veća, bilo je očekivano da će sadržaj isparljivih kiselina u ovim uzorcima biti povišen (Tabela 5.1.).

Tabela 5.1. Rezultati fizičko-hemijske analize uzoraka vina

Uzorci ^x	Sadržaj pojedinih komponenti					
	Etanol ¹	Ukupne kiseline ²	Isparljive kiseline ²	Ukupni/slobodni SO ₂ ³	Ukupni ekstrakt ²	Pepeo ²
KD1	7.36±0.54 ^a	11.45±0.22 ^a	0.81±0.12 ^a	10.0±1.2/0.0	41.25±1.25 ^a	2.44±0.13 ^a
KD2	7.22±0.45 ^a	11.43±0.20 ^a	0.68±0.10 ^b	7.0±1.0/0.0	40.50±1.33 ^{a,b}	2.45±0.14 ^a
KD3	6.93±0.49 ^b	11.46±0.20 ^a	0.60±0.10 ^b	18.0±2.0/0.0	41.00±0.95 ^a	2.44±0.11 ^a
KD4	6.97±0.40 ^c	11.40±0.18 ^a	0.59±0.13 ^b	17.0±1.9/2.4±0.3	40.10±1.10 ^b	2.46±0.10 ^a
KD5	7.26±0.55 ^a	11.40±0.15 ^a	0.88±0.15 ^a	14.0±2.2/0.0	39.85±1.22 ^c	2.35±0.10 ^a
KD6	7.47±0.48 ^a	11.40±0.20 ^a	0.71±0.18 ^c	12.0±1.5/0.0	39.00±1.05 ^c	2.33±0.09 ^a
KD7	7.31±0.44 ^a	11.38±0.25 ^a	0.62±0.16 ^b	16.0±2.5/1.6±0.3	38.55±1.08 ^c	2.32±0.08 ^a
KD8	7.00±0.50 ^b	11.39±0.28 ^a	0.44±0.13 ^d	20.0±3.2/2.8±0.9	39.30±1.01 ^c	2.33±0.07 ^a
KČ1	3.83±0.25 ^a	14.18±0.33 ^a	0.88±0.14 ^a	9.0±1.0/0.0	35.20±0.87 ^a	2.03±0.10 ^a
KČ2	3.88±0.30 ^a	14.22±0.29 ^a	0.75±0.09 ^b	6.0±1.0/0.0	34.15±1.37 ^b	2.04±0.09 ^a
KČ3	3.81±0.27 ^a	14.11±0.18 ^a	0.74±0.16 ^b	12.0±1.9/0.0	35.25±1.28 ^a	2.03±0.11 ^a
KČ4	3.87±0.22 ^a	14.20±0.22 ^a	0.48±0.09 ^c	15.0±2.9/2.5±0.8	34.00±0.97 ^b	2.02±0.10 ^a
KČ5	4.18±0.20 ^b	14.00±0.30 ^a	0.80±0.11 ^a	12.0±1.2/0.0	34.45±1.08 ^b	1.98±0.09 ^a
KČ6	4.11±0.22 ^b	14.00±0.28 ^a	0.66±0.08 ^d	10.0±2.5/0.0	34.80±0.95 ^a	1.99±0.08 ^a
KČ7	4.16±0.25 ^b	14.05±0.19 ^a	0.50±0.10 ^e	15.0±2.7/2.0±0.9	34.35±0.91 ^b	1.98±0.09 ^a
KČ8	4.08±0.28 ^b	14.08±0.16 ^a	0.41±0.08 ^f	15.0±3.0/3.0±1.0	34.10±1.07 ^b	1.97±0.07 ^a
KT1	4.00±0.30 ^a	13.38±0.35 ^a	0.79±0.15 ^a	8.0±1.0/0.0	32.70±0.85 ^a	1.85±0.07 ^a
KT2	4.15±0.35 ^a	13.40±0.31 ^a	0.64±0.19 ^b	7.0±1.0/0.0	32.00±0.90 ^{a,b}	1.85±0.06 ^a
KT3	3.92±0.18 ^a	13.44±0.18 ^a	0.55±0.11 ^c	10.0±2.0/0.0	32.85±1.03 ^a	1.83±0.08 ^a
KT4	4.12±0.22 ^a	13.45±0.25 ^a	0.40±0.07 ^d	12.0±3.0/0.0	32.15±0.84 ^{a,b}	1.84±0.08 ^a
KT5	3.81±0.24 ^b	13.30±0.33 ^a	0.77±0.13 ^a	14.0±3.2/0.0	32.05±0.88 ^a	1.77±0.06 ^a
KT6	3.75±0.20 ^b	13.28±0.39 ^a	0.66±0.11 ^b	12.0±125/0.0	31.95±0.89 ^a	1.76±0.08 ^a
KT7	3.76±0.28 ^b	13.25±0.40 ^a	0.55±0.17 ^c	15.0±3.5/1.0±0.5	32.15±0.94 ^a	1.78±0.09 ^a
KT8	3.88±0.25 ^{a,b}	13.30±0.35 ^a	0.40±0.10 ^d	18.0±3.0/2.0±1.0	32.10±0.83 ^a	1.78±0.08 ^a
MM1	3.62±0.19 ^a	18.33±0.44 ^a	0.71±0.12 ^a	5.0±1.0/0.0	26.30±0.99 ^a	1.70±0.09 ^a
MM2	3.65±0.18 ^a	18.30±0.41 ^a	0.60±0.11 ^b	6.0±1.0/0.0	25.50±0.80 ^b	1.71±0.08 ^a
MM3	3.46±0.19 ^b	18.30±0.39 ^a	0.55±0.10 ^{b,c}	15.0±3.0/1.0±0.5	26.00±1.00 ^a	1.69±0.07 ^a
MM4	3.31±0.20 ^c	18.29±0.30 ^a	0.48±0.09 ^c	16.0±3.3/0.0	25.80±1.01 ^b	1.70±0.08 ^a
MM5	3.31±0.17 ^c	18.18±0.29 ^a	0.68±0.13 ^a	4.0±1.2/0.0	25.25±0.80 ^c	1.66±0.07 ^a
MM6	3.26±0.21 ^c	18.20±0.34 ^a	0.55±0.06 ^{b,c}	5.0±1.5/0.0	25.00±1.08 ^c	1.66±0.08 ^a
MM7	3.12±0.23 ^d	18.20±0.28 ^a	0.44±0.10 ^c	16.0±3.0/3.0±1.5	25.10±0.92 ^c	1.67±0.07 ^a
MM8	3.26±0.25 ^c	18.15±0.22 ^a	0.39±0.07 ^c	15.0±3.5/3.0±1.0	25.40±0.90 ^c	1.65±0.10 ^a

Nastavak tabele 5.1.

MV1	3.82±0.22 ^a	17.14±0.20 ^a	0.68±0.09 ^a	6.0±1.0/0.0	27.00±1.22 ^a	1.80±0.11 ^a
MV2	3.88±0.19 ^a	17.15±0.24 ^a	0.60±0.10 ^a	6.0±1.0/0.0	26.40±1.15 ^b	1.81±0.09 ^a
MV3	3.90±0.25 ^a	17.15±0.22 ^a	0.57±0.13 ^a	10.0±2.0/0.0	25.90±0.98 ^c	1.82±0.10 ^a
MV4	3.85±0.26 ^a	17.17±0.18 ^a	0.44±0.09 ^{b,c}	12.0±3.0/0.0	26.20±1.10 ^b	1.81±0.09 ^a
MV5	3.76±0.22 ^a	17.10±0.19 ^a	0.59±0.11 ^a	4.0±1.0/0.0	26.10±0.93 ^{b,c}	1.77±0.08 ^a
MV6	3.85±0.20 ^a	17.05±0.20 ^a	0.51±0.08 ^{b,c}	4.0±1.0/0.0	25.90±1.00 ^c	1.77±0.09 ^a
MV7	3.72±0.24 ^a	17.07±0.36 ^a	0.43±0.07 ^b	12.0±2.0/1.0±0.5	26.00±0.88 ^b	1.78±0.10 ^a
MV8	3.80±0.21 ^a	17.00±0.30 ^a	0.37±0.06 ^c	13.0±3.0/2.0±1.0	25.80±0.76 ^c	1.79±0.10 ^a
KD9	7.30±0.33 ^a	11.00±0.33 ^a	0.92±0.18 ^a	15.0±4.0/0.0	43.00±1.34 ^a	2.56±0.12 ^a
KČ9	4.00±0.19 ^b	13.50±0.20 ^b	0.88±0.18 ^a	9.0±2.0/0.0	36.90±1.11 ^b	2.15±0.11 ^b
KT9	4.10±0.28 ^b	12.10±0.26 ^c	0.90±0.16 ^a	10.0±2.0/0.0	33.55±0.99 ^c	2.00±0.10 ^c
MM9	3.50±0.20 ^c	16.20±0.40 ^d	0.84±0.20 ^a	8.0±2.0/0.0	28.00±1.03 ^d	1.89±0.08 ^d
MV9	3.70±0.25 ^d	15.00±0.38 ^e	0.81±0.16 ^a	9.0±2.0/0.0	28.85±0.95 ^d	1.98±0.08 ^{d,c}
KD10	7.10±0.35 ^a	12.50±0.28 ^a	0.33±0.07 ^a	18.0±4.0/2.5±1.0	38.25±1.14 ^a	2.35±0.13 ^a
KČ10	4.05±0.22 ^b	15.20±0.30 ^b	0.35±0.09 ^a	16.0±3.0/3.0±0.5	32.00±0.88 ^b	1.95±0.10 ^b
KT10	4.00±0.30 ^b	15.00±0.25 ^b	0.38±0.10 ^a	13.0±2.0/2.0±1.0	29.45±0.90 ^c	1.77±0.09 ^c
MM10	3.60±0.20 ^c	19.35±0.35 ^c	0.39±0.11 ^a	14.0±3.5/3.0±1.0	24.10±1.07 ^d	1.60±0.09 ^d
MV10	3.85±0.18 ^d	18.50±0.24 ^d	0.33±0.10 ^a	15.0±2.0/3.0±1.0	24.90±0.87 ^d	1.70±0.08 ^{c,d}
K1	4.50 ^a	11.30 ^a	0.40 ^a	65.0/18.5	21.00 ^a	1.55 ^a
K2	4.00 ^b	7.50 ^b	0.33 ^a	70.0/25.00	15.35 ^b	0.95 ^b

^x za objašnjenje šifri uzoraka pogledati tabelu 4.2.

¹ % v/v

² g/L

³ mg/L

^{a-f} vrednosti sa različitim superskriptom u istoj koloni su statistički značajno različite (p<0.05)

Sadržaj etanola u uzorcima voćnih vina je uslovljen sadržajem fermentabilnih šećera i stepenom konverzije šećera u etanol. Karakteristike soja kvasca koji se koristi u fermentaciji i temperatura fermentacije mogu imati značajan uticaj na stepen konverzije a što se direktno odražava na sadržaj etanola u vinu (McKay et al., 2011).

Sadržaj etanola je bio najviši u KD uzorcima, u proseku 7.20 % v/v, što je i bilo očekivano, jer je sadržaj ukupne suve materije u uzorcima divlje kupine bio najviši. U KČ uzorcima, prosečan sadržaj etanola je bio 3.99 % v/v. Sadržaj etanola u uzorcima koji su fermentisali na 15 °C (KČ5 – KČ8) je bio statistički značajno viši u odnosu na uzorke koji su feremntisali na 22 °C (KČ1 – KČ5). Ne postoji statistički značajna razlika u sadržaju

etanola u uzorcima koji su fermentisali spontano i uzoraka koji su fermentisali selekcionisanim kvascima. Prosečan sadržaj etanola u uzorcima KT, MM i MV je bio 3.92, 3.37 i 3.82 % v/v, prema navedenom redosledu. Sadržaj etanola u uzorcima koji su fermentisali 360 sati (KD9, KD10, KČ9, KČ10, KT9, KD10, MM9, MM10, MV9, MV10) nije odstupao u odnosu na prosečne vrednosti sadržaja alkohola za uzorke koji su fermentisali 120 h. Kod uzoraka KT i MM je primećen isti trend kao i kod uzoraka KČ: sadržaj etanola je bio statistički značajno viši u uzorcima koji su fermentisali na 15 °C u odnosu na uzorke koji su fermentisali na 22 °C.

Alkoholna fermentacija je intenzivnija na višim temperaturama a što prouzrokuje intenzivnije oslobađanje CO₂ koji “ispira” medijim (vino) kroz koji prolazi, noseći sa sobom lako isparljive komponente. Ako se ovom efektu doda činjenica da je isparljivost komponenti vina intenzivnija na višim temperaturama, može se doći do zaključka da CO₂ koji se oslobađa tokom fermentacije i temperatura fermentacije deluju sinergistički na evapraciju etanola, a što direktno utiče na sadržaj etanola u vinu (Sacchi et al., 2005).

Sadržaj etanola u vinu od maline i kupine objavljen od strane nekih autora se kreće u rasponu od 4.00 % vol do 13.50 % vol, u zavisnosti od regije gde je voće proizvedeno (Heinonen et al., 1998; Duarte et al., 2010; Alpeza et al., 2014; Djordjević et al., 2015)

Sadržaj SO₂ u svim uzorcima nakon obavljene alkoholne fermentacije je bio na niskom nivou. Maksimalna koncentracija ukupnog SO₂ je izmerena u uzorku KD8, 20 mg/L. U većini uzoraka, slobodni SO₂ nije bio prisutan i u malom broju uzoraka je detektovan u niskim koncentracijama, maksimalno 3 mg /L. Kod uzoraka koji su sulfitisani, koncentracija ukupnog SO₂ pre početka fermentacije je bila 50 mg/L. Imajući u vidu da SO₂ reaguje sa ugljenim hidratima, aldehidima, ketonima i mnogim drugim jedinjenjima prisutnim u kljuku, veoma brzo prelazi u vezanu formu. U toku fermentacije veliki deo SO₂ biva iznesen iz kljuka sa CO₂ koji produkuju ćelije kvasca, pa su koncentracije SO₂ u kljuku na kraju vrenja bile niže u odnosu na početnu koncentraciju. Kod uzoraka koji nisu sulfitisani, takođe je detektovan SO₂ u koncentraciji maksimalno 10 mg/L ukupnog SO₂. Ćelije kvasca metabolišu određene količine SO₂ u toku vrenja, i to je uslovljeno pre svega sojem kvasca i uslovima u toku vrenja (Suzzi et al., 1985).

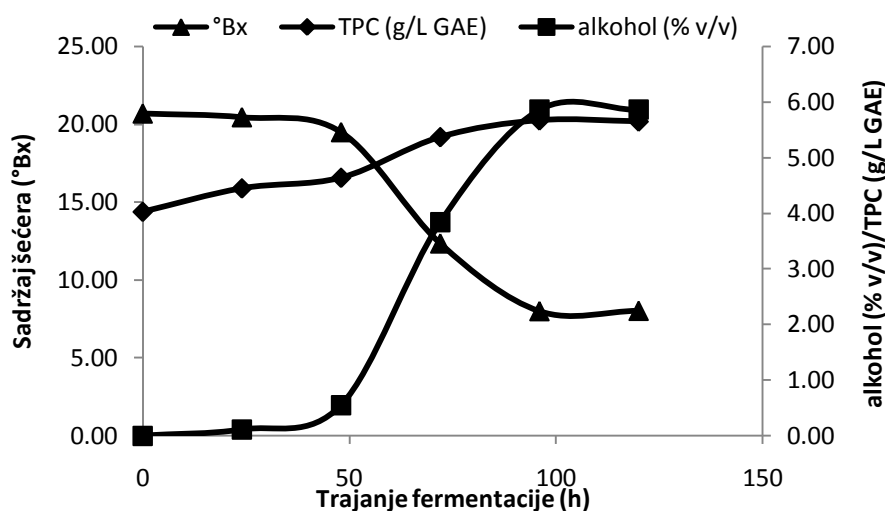
Sadržaj ukupnog ekstrakta u vinu je uslovljen kultivarom, i uslovima fermentacije. U KD uzorcima je sadržaj ukupnog ekstrakta najviši, pa zatim slede KČ i KT uzorci. Sadržaj ekstrakta u MM i MV uzorcima je ujednačen i ne postoji statistički značajna razlika u sadržaju ekstrakta uslovljena kultivarom. Uzorci koji su fermentisali na 22°C sadrže statistički značajno veću količinu ekstrakta u odnosu na uzorke koji su fermentisali na 15°C. Uzorci KD9, KČ9, KT9, MM9 i MV9, sadrže statistički značajno veću količinu ekstrakta u odnosu na uzorke KD1-KD8, KČ1-KČ8, KT1-KT8, MM1-MM8 i MV1-MV8, a što je uslovljeno dužinom kontakta čvrstih i tečnih delova kljuka (Ribéreau-Gayon et al., 2006).

Sadržaj pepela u vinu je uslovljen vrstom i kultivarom, klimatskim uslovima, primenjenim agrotehničkim merama i sastavom zemljišta na kome se voćne vrste gaje. Najviši sadržaj pepela je detektovan u KD uzorcima (2.32 – 2.44 g/L), pa zatim slede KČ (1.97 – 2.04 g/L), KT (1.76 – 1.85 g/L), MV (1.65 – 1.71 g/L) i MM (1.77 – 1.82 g/L) uzorci. U svim uzorcima vina koji su fermentisali na 15 °C, sadržaj pepela je bio niži u proseku za 0.06 g/L u odnosu na uzorke koji su fermentisali na 22 °C. Iako utvrđena razlika u sadržaju pepela nije statistički značajna, postoji određena pravilnost u razlici sadržaja pepela kod svih uzoraka u odnosu na temperaturu fermentacije. Kiseline koje su prisutne u vinu od maline i kupine (jabučna i limunska kiselina) reaguju sa mineralima koji su prisutni u vinu i grade soli (K-citrat, Ca-citrat, K-malat, Ca-malat) koje se ireverzibilno talože. Na nižim temperaturama, rastvorljivost soli je niža, što uzrokuje intenzivnije taloženje a što ima direktan uticaj na sadržaj mineralnih materija (pepela) u uzorcima vina. Alpeza et al. (2014) su ispitali sadržaj pojedinih minerala i ukupan sadržaj pepela u vinu od kupine sa područja Hrvatske. Sadržaj pepela se kretao u rasponu od 1.6 g/L za dezertno voćno vino od kupine do 4.7 g/L za voćno vino od divlje kupine. Rupasinghe i Clegg (2007) su vršili analize sadržaja minerala u 10 vrsta voćnih vina i 4 vina od grožđa u cilju poređenja sadržaja minerala i karakterizacije. Sadržaj ukupnih minerala u vinu od maline bio je 1.092 g/L, što vino od maline svrstava na sedmo mesto po sadržaju minerala od ukupno 14 analiziranih uzoraka vina.

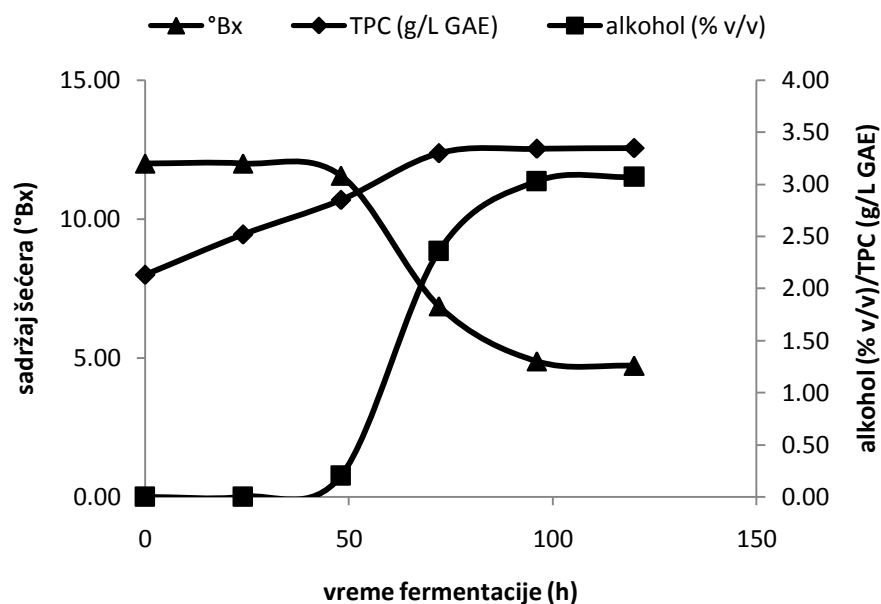
5.2. Dinamika i kinetika fermentacije i ekstrakcije polifenolnih jedinjenja

Na svakih 24 h u toku fermentacije vršena je analiza sadržaja šećera, etanola i sadržaja ukupnih polifenola u svim uzorcima vina i na osnovu dobijenih rezultata dobijena je slika o dinamici i kinetici fermentacije i ekstrakcije polifenolnih jedinjenja u svakom od uzoraka. Radi boljeg uvida i što boljeg predstavljanja, kao i zbog veze koja postoji između kinetike alkoholne fermentacije i kinetike ekstrakcije polifenola, predstavljene su na istim grafikonima, za svaki uzorak posebno.

Na slikama 5.1, 5.2, 5.3, 5.4 i 5.5 su predstavljeni grafici dinamike fermentacije i ekstrakcije polifenola za uzorak KD1, KČ1, KT1, MM1 i MV1 (spontana fermentacija na 22 °C). Vreme adaptacije ćelija kvasaca na uslove sredine i njihovo razmnožavanje do koncentracije koja je potrebna da bi alkoholna fermentacija otpočela, je trajalo oko 48 h kod svih uzoraka, što je i bilo očekivano, jer se fermentacija odigravala spontano. Nakon 96 h fermentacije, oko 95 % fermentabilnih šećera prisutnih u kljuku je bilo transformisano u etanol, bez izuzetaka. Sadržaj etanola u uzorcima je uslovljen sadržajem šećera u voću a stepen konverzije šećera u etanol je bio dobar i bio je u granicama 0.55 - 0.59, što je blizu teorijskoj vrednosti.



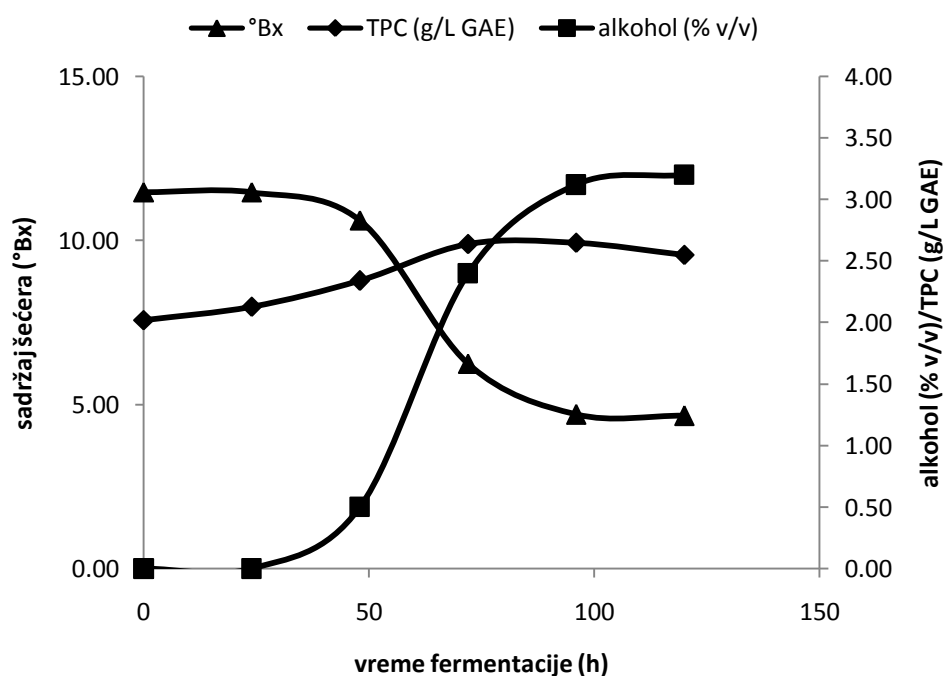
Slika 5.1. Kinetika fermentacije i ekstrakcije polifenolnih jedinjenja u uzorku KD1



Slika 5.2. Kinetika fermentacije i ekstrakcije polifenolnih jedinjenja u uzorku ČB1

Sadržaj ukupnih polifenola u uzorcima na početku fermentacije je bio različit, što je uslovljeno kultivarom, genotipom, uslovima gajenja, klimatskim i agroekološkim uslovima i stepenom zrelosti plodova u momentu berbe (Häkkinen et al., 1999; Williner et al., 2003; Määttä-Riihinen et al., 2004). Sadržaj ukupnih polifenola nakon dezintegracije plodova u uzorcima KD1, KČ1, KT1, MM1 i MV1 iznosio je 4.03, 2.13, 2.02, 1.50 i 2.40 g/L GAE (ekvivalenata galne kiseline), prema redosledu u tekstu. Tokom fermentacije, kinetika ekstrakcije polifenola pratila je kinetiku alkoholne fermentacije i maksimalna ekstrakcija polifenolnih jedinjenja postignuta je nakon 72 h od početka alkoholne fermentacije a što je ujedno i momenat kada je intenzitet alkoholne fermentacije bio najveći. Najviši sadržaj ukupnih polifenola u uzorku KD1 dostignut je nakon 96 h od početka fermentacije, 5.67 g/L GAE. Od ovog momenta pa do kraja alkoholne fermentacije, sadržaj ukupnih polifenola je ostao nepromenjen. Na slici 5.1. se vidi da kako sadržaj etanola raste, raste i količina polifenolnih jedinjenja, što ukazuje na činjenicu da koncentracija etanola utiče na intenzitet ekstrakcije polifenola. Sličan trend u ekstrakciji polifenola je zapažen i kod uzoraka KČ1, KT1, MM1 i MV1, sa tom razlikom što se momenat dostizanja maksimalne

ekstrakcije polifenolnih jedinjenja i maksimalnog intenziteta alkoholne fermentacije razlikuje od slučaja do slučaja. Maksimalna ekstrakcija polifenolnih jedinjenja i maksimalni intenzitet alkoholne fermentacije u uzorcima KČ1, KT1, MM1 i MV1 su postignuti nakon 60 h fermentacije. Kod uzorka od divlje kupine je maksimalna ekstrakcija polifenolnih jedinjenja postignuta za oko 12 h kasnije u odnosu na uzorke od gajenih sorti kupine i maline. Biljke divlje kupine rastu pod dosta nepovoljnijim uslovima i na dosta oskudnijim zemljištima u odnosu na gajene sorte kupine, a ujedno je i prinos značajno niži u odnosu na gajene sorte kupine. Rast i razvoj divlje kupine pod nepovoljnim klimatskim i zemljišnim uslovima ima veliki uticaj na fiziološke procese same biljke a što se odražava na hemijski sastav i kvalitet plodova uopšte.

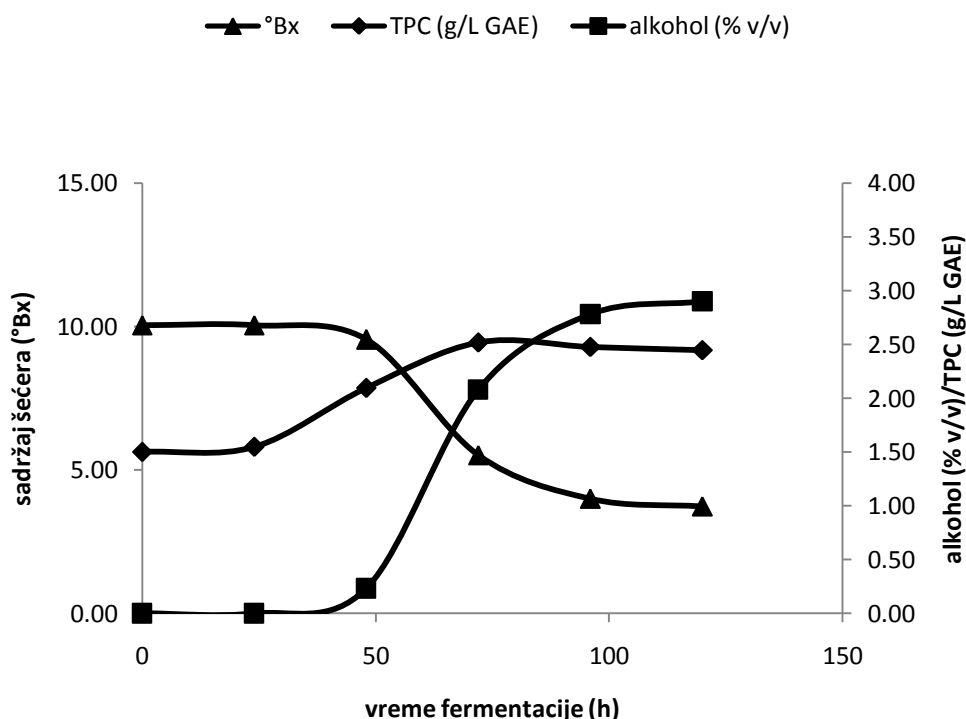


Slika 5.3. Kinetika fermentacije i ekstrakcije polifenolnih jedinjenja u uzoraku KT1

Kao rezultat ovih efekata, dobijaju se plodovi sa debljom pokožicom, sa povišenim sadržajem pektinskih materija i celuloznih jedinjenja i same ćelije ploda u kojima su smeštene hranljive materije imaju jači ćelijski zid (Rotundo et al., 1998; Gercekcioglu i

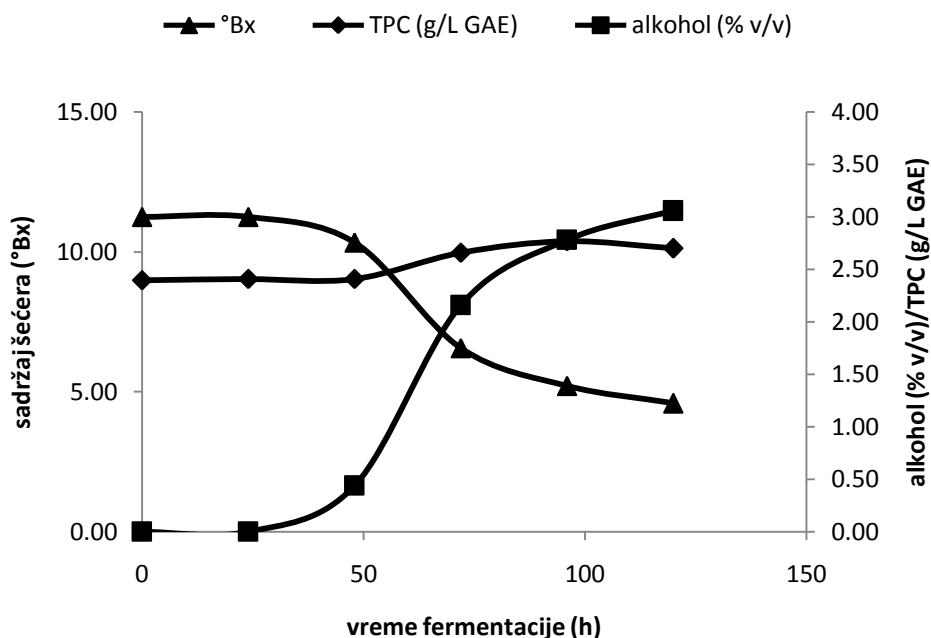
Esmek, 2005; Shiow, 2007). Da bi došlo do oslobađanja polifenolnih jedinjenja iz samih ćelija tokom alkoholne fermentacije, potreban je duži kontakt u medijumu koji sadrži više alkohola u odnosu na plodove kupine gajenih sorti, koje imaju dosta nežniju pokožicu i manje složen hemijski sastav i strukturu.

Ono što se nameće kao glavna razlika, jeste sadržaj ukupnih polifenola u uzorcima na početku i kraju alkoholne fermentacije. Kod uzorka KD1, sadržaj ukupnih polifenola na kraju fermentacije bio je viši za 1.64 g/L GAE u odnosu na sadržaj pre početka fermentacije. Kod uzoraka KČ1, KT1, MM1 i MV1, ova razlika je bila drastično manja, i iznosila je 1.22, 0.53, 0.95 i 0.30 g/L GAE, prema redosledu u tekstu. Postoji statistički veoma značajna razlika u sadržaju ukupnih polifenola u uzorku KD1 u odnosu na uzorke KČ1, KT1, MM1 i MV1. Takođe, postoji statistički značajna razlika u sadržaju ukupnih polifenola između uzoraka KČ1 i KT1, MM1 i MV1, dok ne postoji statistički značajna razlika između uzoraka KT1, MM1 i MV1.



Slika 5.4. Kinetika fermentacije i ekstrakcije polifenolnih jedinjenja u uzorku MM1

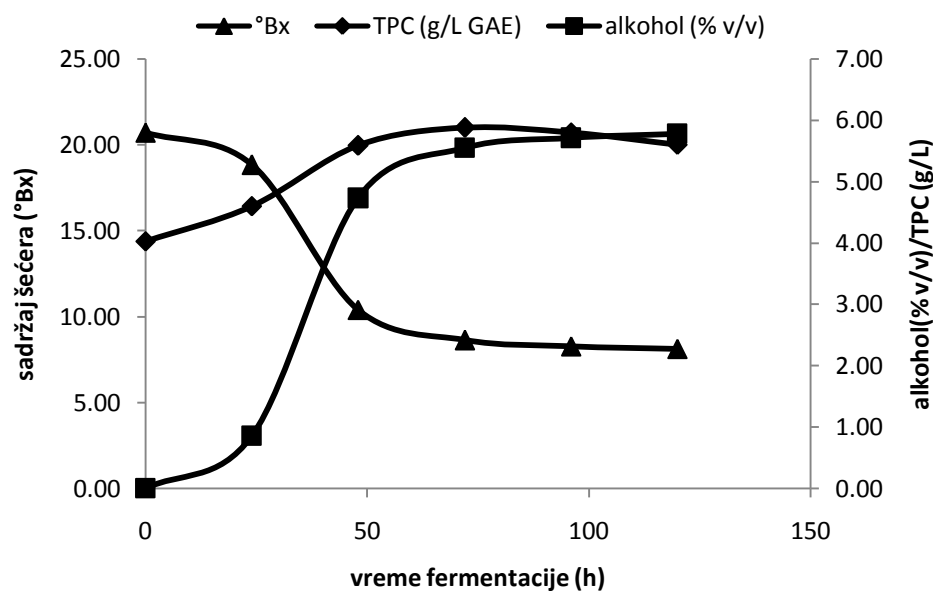
Povećanje u sadržaju ukupnih polifenola u uzorcima je posledica dejstva etanola, CO₂ koji se oslobađa tokom fermentacije, efekta temperature, SO₂ i tehnike maceracije. Sveukupni efekat ovih faktora dovodi do destrukcije ćelijskog matriksa i oslobađanja polifenolnih jedinjenja koji su smešteni u ćelijima. Ugljen-dioksid koji se oslobađa tokom fermentacije istiskuje O₂ koji je prisutan u kljuku, i na taj način vrši asfiksiju ćelija, dok SO₂ vrši destrukciju ćelijskog matriksa i povećava permeabilnost ćeliskih membrana, te na taj način utiče na bolju i intenzivniju ekstrakciju (Gil-Muñoz et al., 1999; Sacchi et al., 2005; Ribéreau-Gayon et al., 2006).



Slika 5.5. Kinetika fermentacije i ekstrakcije polifenolnih jedinjenja u uzorku MV1

Alkoholna fermentacija kod uzorka KD2, ČB2, KT2, MM2 i MV2 (fermentacija sa selekcionisanim kvascima na 22 °C) je počela već nakon nekoliko sati od momenta inokulacije selekcionisanim kvascima (slike 5.6, 5.7, 5.8, 5.9 i 5.10). Imajući u vidu da su selekcionisani kvasci već delimično adaptirani na uslove sredine koji ih očekuju u kljuku i

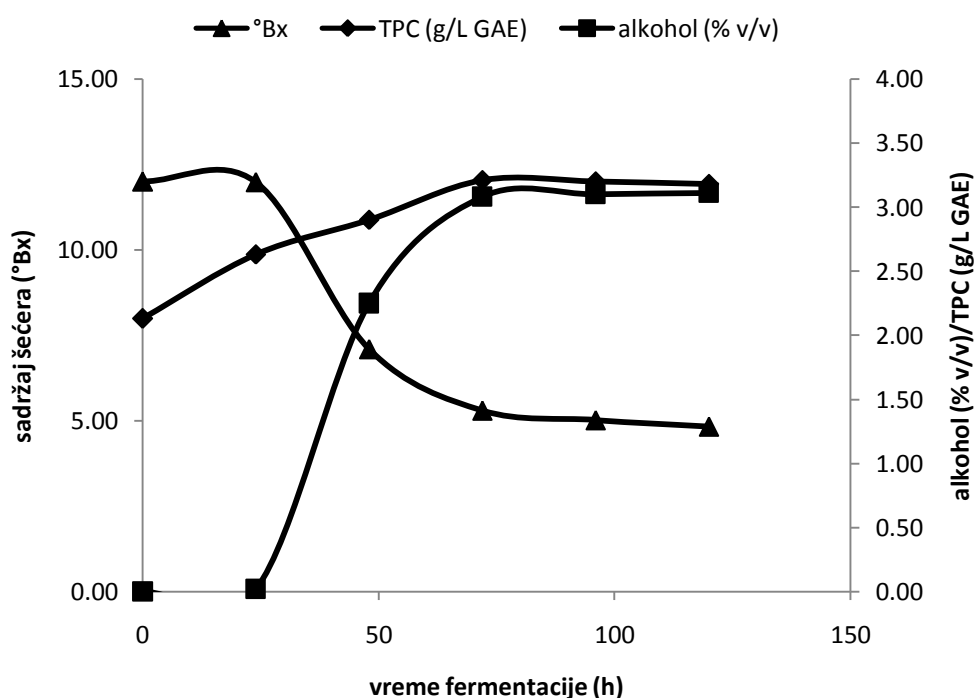
da nije vršeno sulfitisanje kljuka, period adaptacije kvasaca na uslove sredine je bio vrlo kratak. Nakon 72 h fermentacije, u svim uzorcima, ukupan fermentabilni šećer bio je transformisano u etanol. Na grafikonima se vidi da je ekstrakcija polifenola počela gotovo trenutno, odmah nakon inokulacije, i nije bilo izuzetaka u zavisnosti od uzorka, odnosno od sorte kupine ili maline. Ekstrakcija polifenolnih jedinjenja je pratila dinamiku alkoholne fermentacije, te je nakon 72 h fermentacije postignut maksimum u sadržaju ukupnih polifenola u vinu. Ne postoji statistički značajna razlika u sadržaja ukupnih polifenola u uzorcima jedne te iste sorte koji su fermentisali spontano i uzorcima koji su fermentisali sa selekcionisanim kvascima.



Slika 5.6. Kinetika fermentacije i ekstrakcije polifenolnih jedinjenja u uzorku KD2

Maksimalan intenzitet ekstrakcije polifenolnih jedinjenja u uzorcima KD2, KČ2, KT2, MM2 i MV2 je postignut nakon 40 h fermentacije i poklapa se sa maksimalnim intenzitetom alkoholne fermentacije. U odnosu na uzorke koji su fermentisali spontano (KD1, KČ1, KT1, MM1 i MV1), maksimum ekstrakcije polifenolnih jedinjenja u uzorcima koji su fermentisali sa selekcionisanim kvascima je postignut za oko 30 h ranije. Ako se izuzme period koji je bio potreban za razmnožavanje i adaptaciju kvasaca u uzorcima

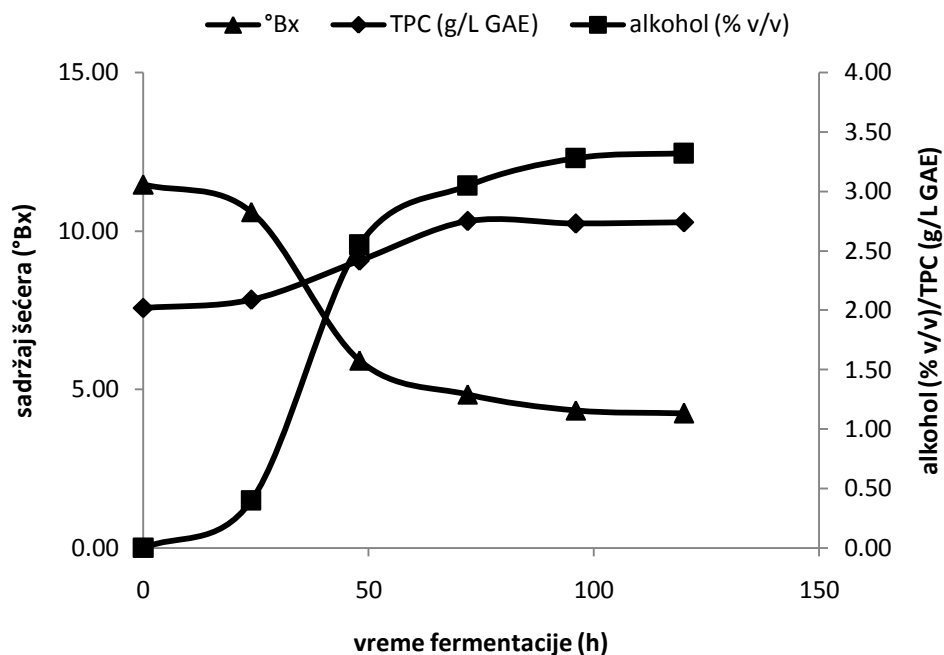
KD1, KČ1, KT1, MM1 i MV1, momenat postizanja maksimalne ekstrakcije polifenolnih jedinjenja u ovim uzorcima bi bio isti kao kod uzoraka KD2, KČ2, KT2, MM2 i MV2. Na osnovu ovog zapažanja može se zaključiti da je ključni faktor koji utiče na kinetiku ekstrakcije polifenolnih jedinjenja etanol, odnosno sadržaj etanola u kljuku, a ne dužina trajanja prefermentativne maceracije. Ovom efektu etanola na intenzitet ekstrakcije polifenolnih jedinjenja treba dodati i efekat oslobođenog CO₂ koji se najintenzivnije oslobađa u fazi burnog vrenja i koji dodatno intenzivira ekstrakciju polifenolnih jedinjenja.



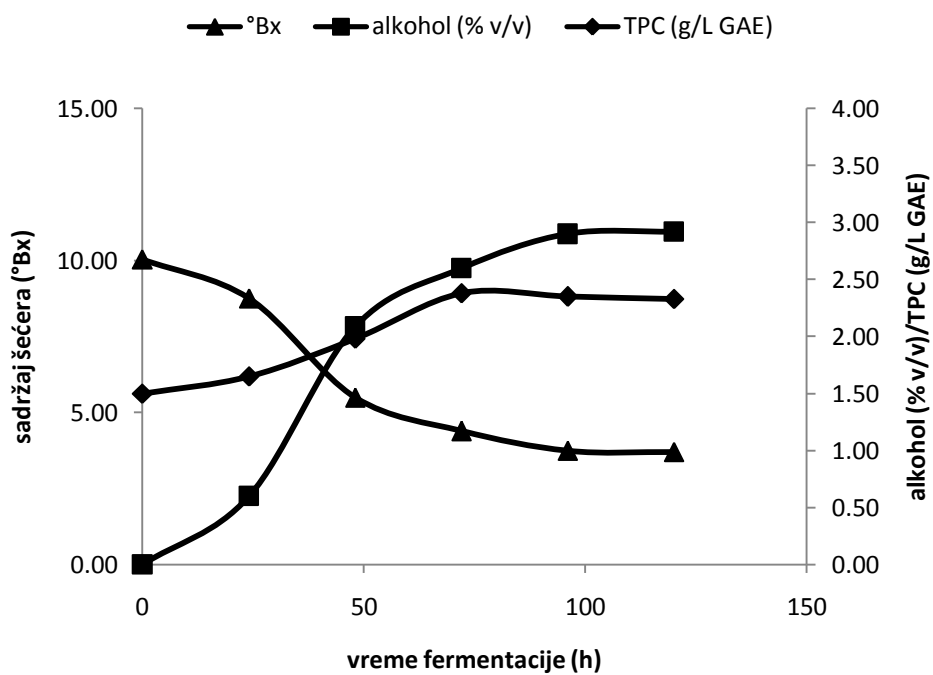
Slika 5.7. Kinetika fermentacije i ekstrakcije polifenolnih jedinjenja u uzorku KČ2

Sadržaj ukupnih polifenola u uzorcima KD2, KČ2 i KT2 do kraja alkoholne fermentacije je bio u blagom padu, 0.1, 0.14 i 0.13 g/L GAE, prema redosledu u tekstu. Posledica toga je značajno povećanje dodirne površine čvrstog dela kljuka, što je prouzrokovano destrukcijom ćelijskog matriksa, te je deo oslobođenih polifenolnih jedinjenja iz ćelija adsorbovan na čvrste delove kljuka. Pad u sadržaju polifenolnih jedinjenja može biti posledica interakcije polifenolnih jedinjenja sa proteinima i ostacima

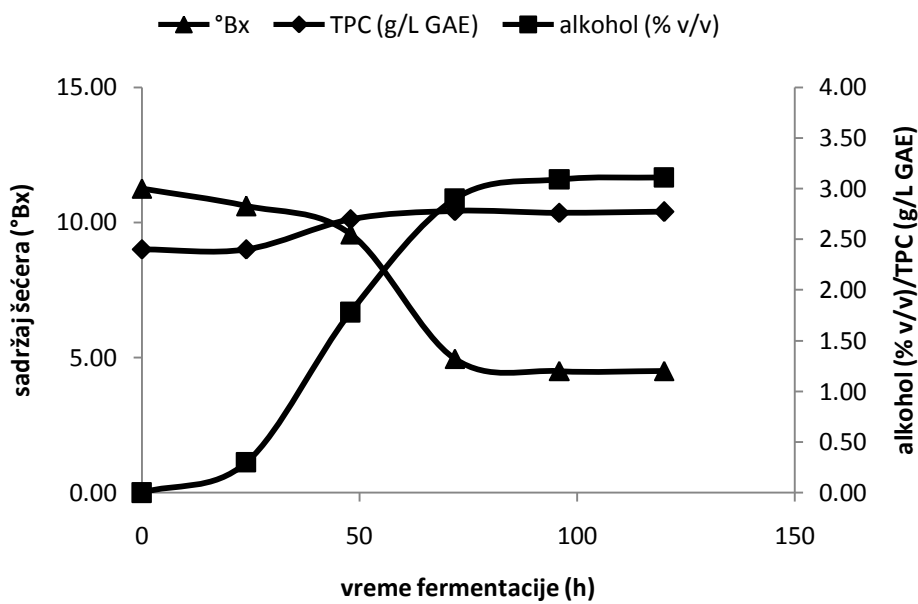
čvrstih čestica prisutnih u soku, što dovodi do inaktivacije, dok drugi deo polifenola biva adsorbovan na ćelijski zid kvasaca. Takođe, dolazi do interakcije sa polisaharidima koji su oslobođeni autolizom kvasaca a javlja se i međusobna interakcija polifenolnih jedinjenja (Siebert et al., 1996; Seibert, 1999; Papadopoulou i Frazier, 2004; Salmon, 2006).



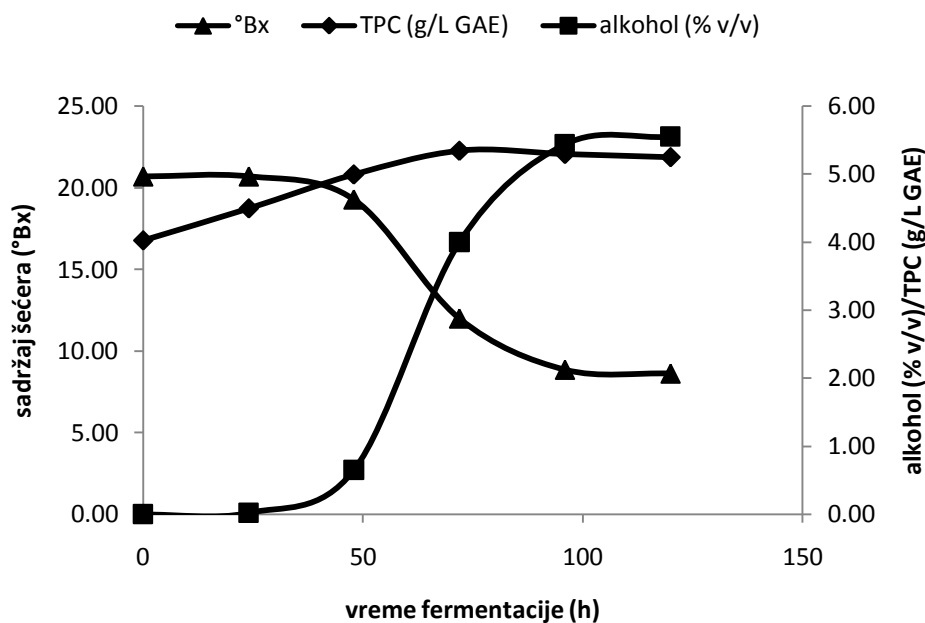
Slika 5.8 Kinetika fermentacije i ekstrakcije polifenolnih jedinjenja u uzorku KT2



Slika 5.9 Kinetika fermentacije i ekstrakcije polifenolnih jedinjenja u uzorku MM2



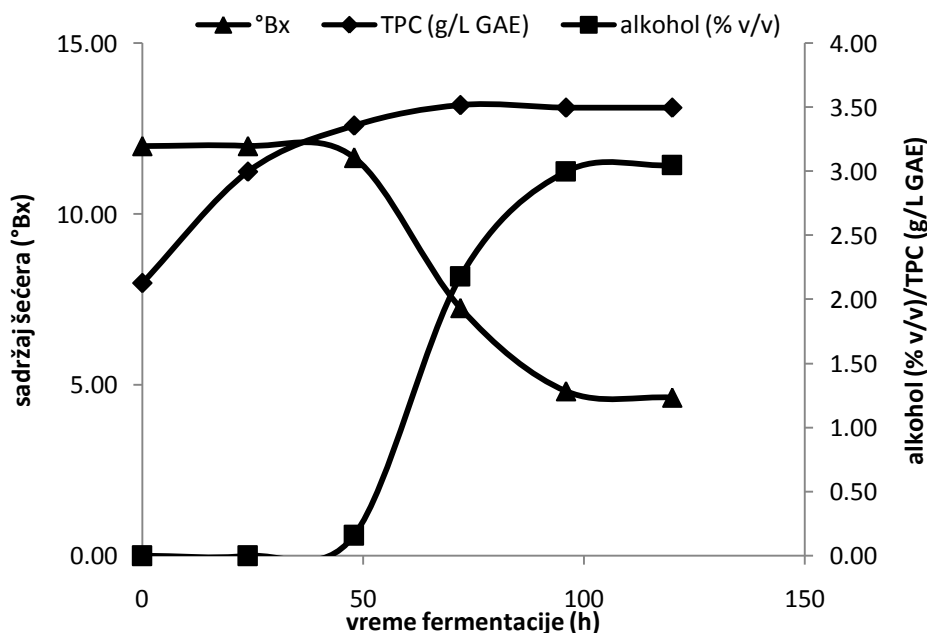
Slika 5.10 Kinetika fermentacije i ekstrakcije polifenolnih jedinjenja u uzorku MV2



Slika 5.11. Kinetika fermentacije i ekstrakcije polifenolnih jedinjenja u uzoraku KD3

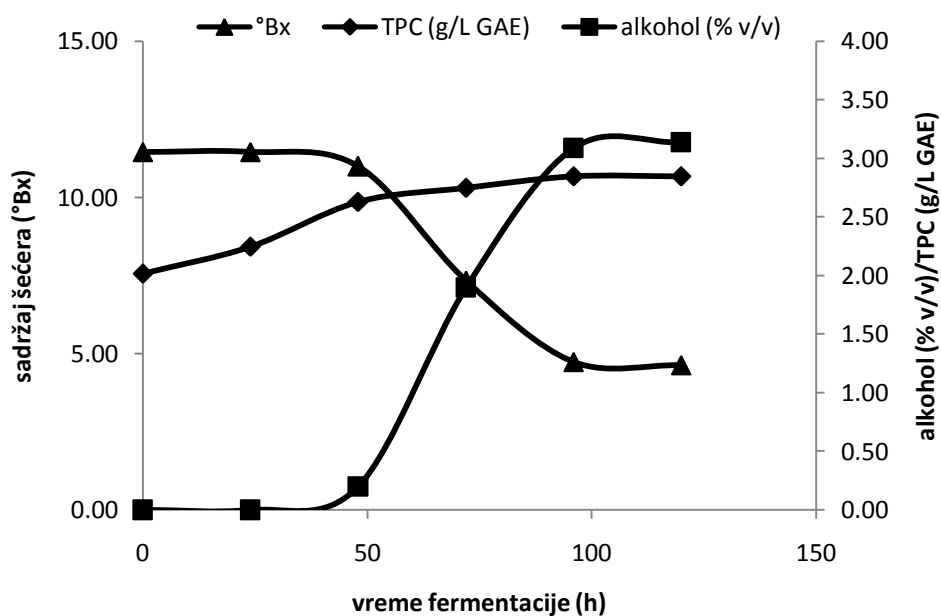
Alkoholna fermentacija u uzorcima KD3, KČ3, KT3, MM3 i MV3 (spontana fermentacija sulfitisanog kljuka na 22 °C) je počela nakon 40 h, što je vreme koje je bilo neophodno za adaptaciju ćelija kvasaca na uslove sredine. Razlog odloženog početka fermentacije je bio SO₂ koji je dodat kljuku u momentu dezintegracije plodova. Burno vrenje počelo je nakon 48 h i do 96 h fermentacije sav prisutan šećer je bio transformisan u etanol. Za razliku od uzoraka koji su fermentisali pod drugim uslovima (KD1, KČ1, KT1, MM1, MV1, KD2, KČ2, KT2, MM2 i MV2), ekstrakcija polifenolnih jedinjenja je imala drugačiji tok. Ekstrakcija je počela odmah nakon dezintegracije plodova, nezavisno od kinetike alkoholne fermentacije, čemu je doprinelo sulfisanje kljuka. Za razliku od uzoraka koji su fermentisali bez dodatka SO₂ (KD1, KČ1, KT1, MM1, MV1, KD2, KČ2, KT2, MM2 i MV2), kod kojih se maksimalna ekstrakcija polifenolnih jedinjenja poklapa sa maksimalnim intenzitetom alkoholne fermentacije, kod uzoraka KD3, KČ3, KT3, MM3 i MV3 je tok ekstrakcije drugačiji. Maksimalna ekstrakcija polifenolnih jedinjenja kod svih

uzoraka je postignuta oko 48. h fermentacije, dok je maksimalni intenzitet alkoholne fermentacije postignut nakon 72 h fermentacije.

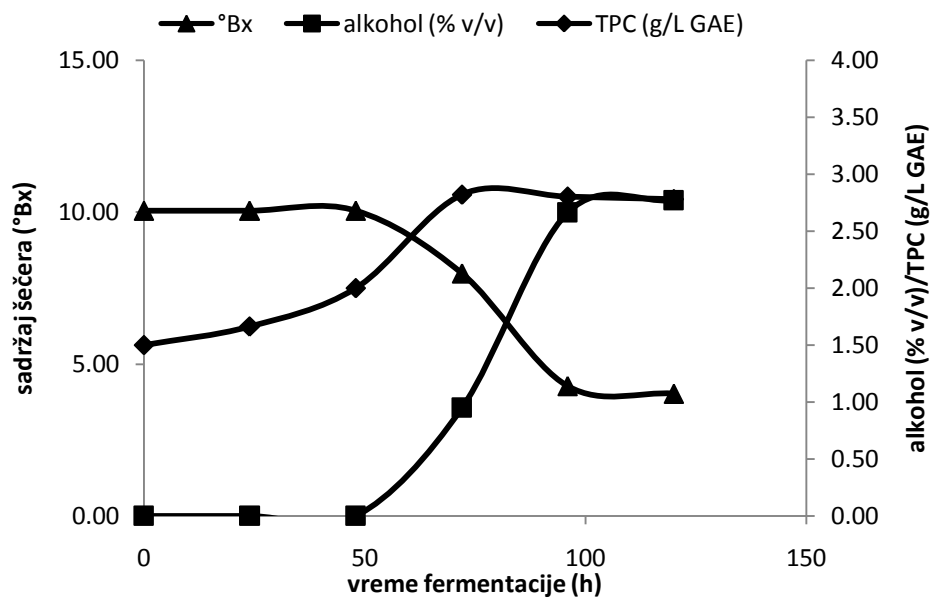


Slika 5.12. Kinetika fermentacije i ekstrakcije polifenolnih jedinjenja u uzoraku ČB3

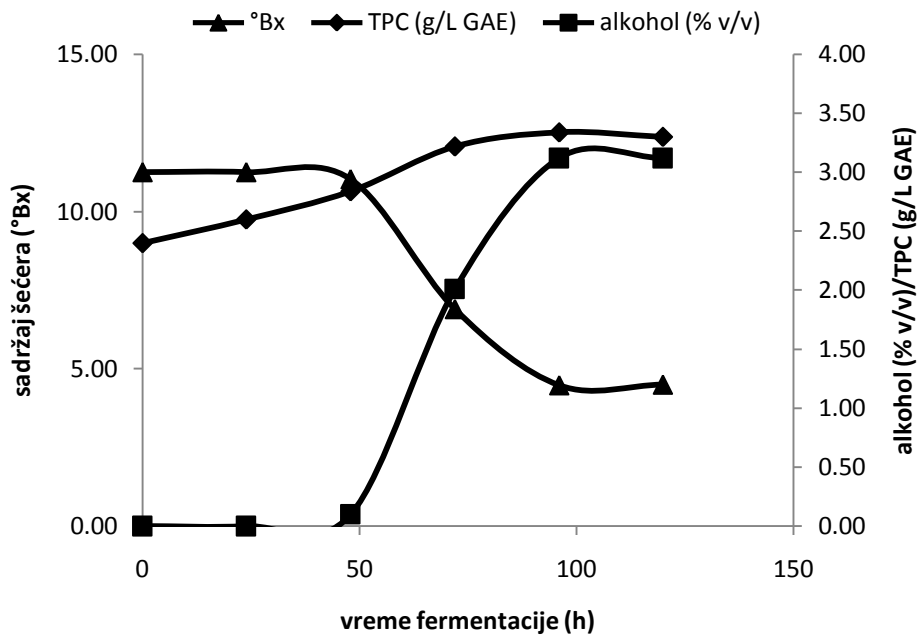
Ako se vrši prefermentativna maceracija kljuka, odmah nakon dezintegracije plodova vrši se sulfitisanje u cilju intenziviranja ekstrakcije minerala, aromatskih i polifenolnih jedinjenja. Uloga SO_2 u intenziviranju ekstrakcije je značajna jer vrši destrukciju ćelijskog matriksa i povećava permeabilnost ćelijskih membrana. Međutim, efekat temperature, etanola i CO_2 na ekstrakciju polifenolnih jedinjenja ima mnogo veći uticaj u odnosu na SO_2 , te se smatra da je uticaj SO_2 na ekstrakciju polifenolnih jedinjenja minoran u odnosu na uticaj ovih faktora. Ukoliko bi se vršila samo prefermentativna maceracija kljuka i ceđenje pre početka alkoholne fermentacije, uticaj SO_2 na ekstrakciju polifenolnih jedinjenja bio bi veoma značajan. Ove činjenice daju objašnjenje dinamike ekstrakcije polifenolnih jedinjenja u uzorcima KD3, KČ3, KT3, MM3 i MV3 (Somers i Wescombe, 1982; Chatonnet et al, 1993; Barbe et al, 2000; Ribéreau-Gayon et al., 2006; Rotter, 2011).



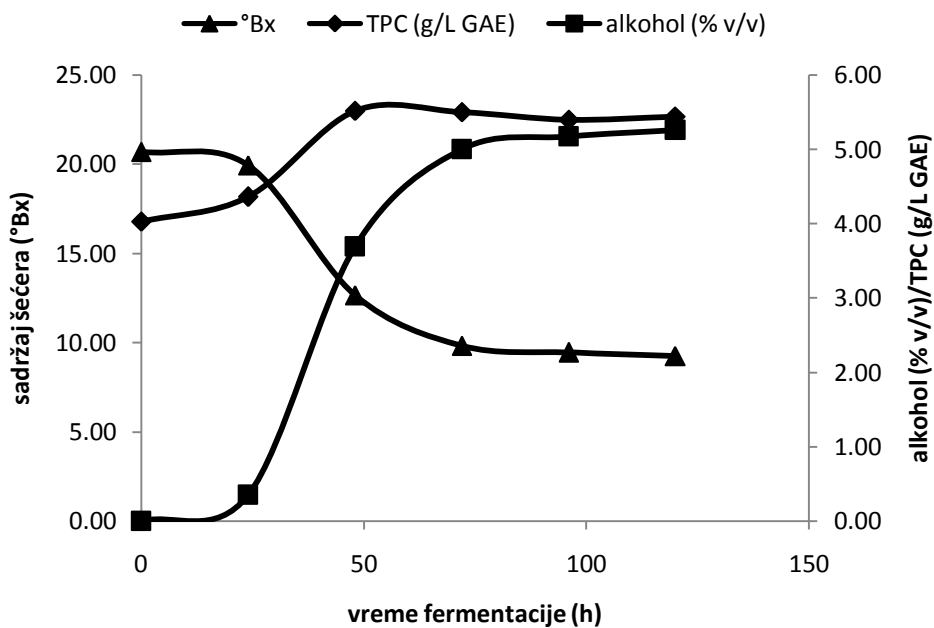
Slika 5.13. Kinetika fermentacije i ekstrakcije polifenolnih jedinjenja u uzoraku KT3



Slika 5.14 Kinetika fermentacije i ekstrakcije polifenolnih jedinjenja u uzoraku MM3

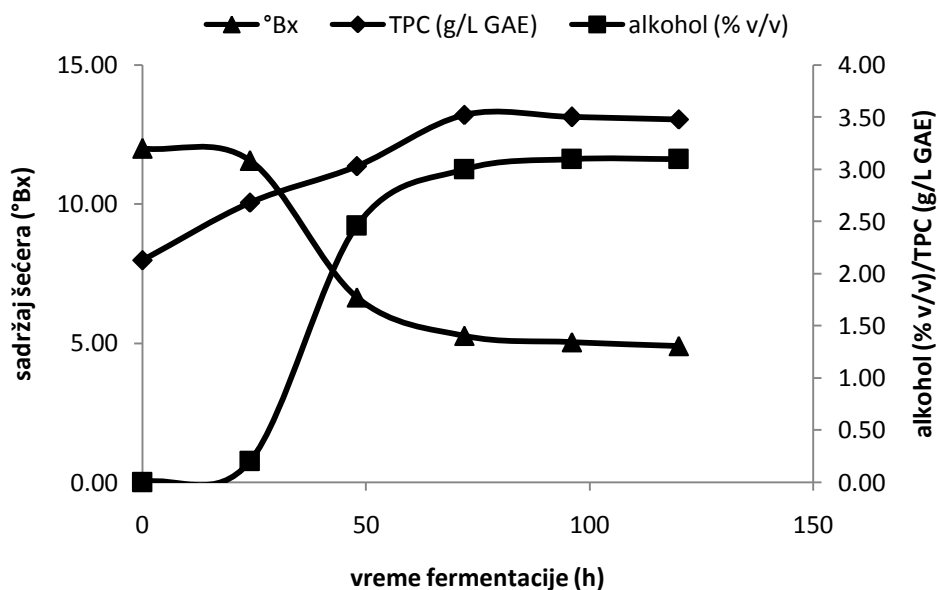


Slika 5.15. Kinetika fermentacije i ekstrakcije polifenolnih jedinjenja u uzorku MV3

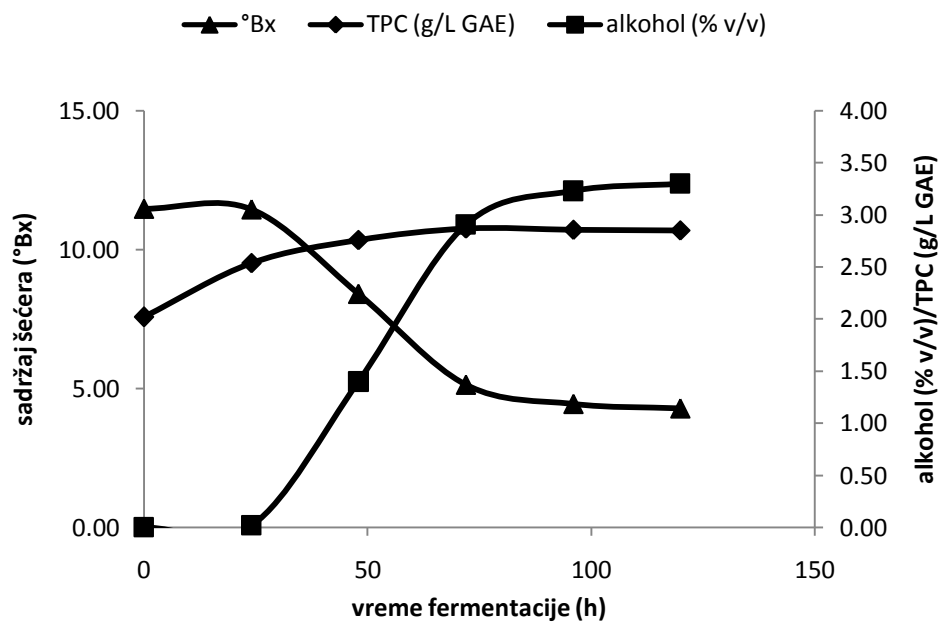


Slika 5.16. Kinetika fermentacije i ekstrakcije polifenolnih jedinjenja u uzorku KD4

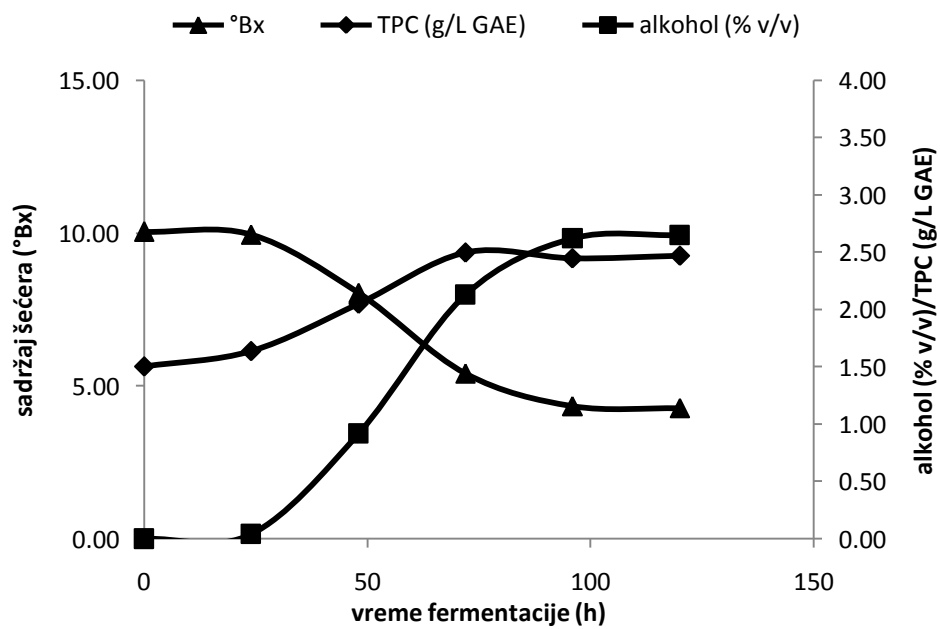
Alkoholna fermentacija u uzorcima KD4, ČB4, KT4, MM4 i MV4 (fermentacija sulfitisanog kljuka sa selekcionisanim kvascima na 22 °C) je počela 24 h nakon inokulacije (Slike 5.16.-5.20.), nešto sporije u odnosu na uzorke KD2, ČB2, KT2, MM2 i MV2 što je i bilo očekivano, jer je kljuk bio sulfitisan i kvasci su delimično bili inhibirani. Nakon 24 h, nastupa burna fermentacija, a nakon 72 h fermentacija je u svim uzorcima bila skoro završena. Ekstrakcija polifenolnih jedinjenja pratila je kinetiku alkoholne fermentacije, ali je uočljivo da je ekstrakcija polifenolnih jedinjenja počela odmah nakon inokulacije kljuka, a što se pripisuje efektu SO₂, kao i kod uzoraka KD3, ČB3, KT3, MM3 i MV3. Maksimalna ekstrakcija polifenolnih jedinjenja se javlja oko 48. h fermentacije kod svih uzoraka i poklapa se sa maksimalnim intenzitetom alkoholne fermentacije. Ne postoji statistički značajna razlika u sadržaju polifenola u uzorcima iste sorte maline ili kupine koji su fermentisali spontano u odnosu na sadržaj u uzorcima koji su fermentisali sa selekcionisanim kvascima.



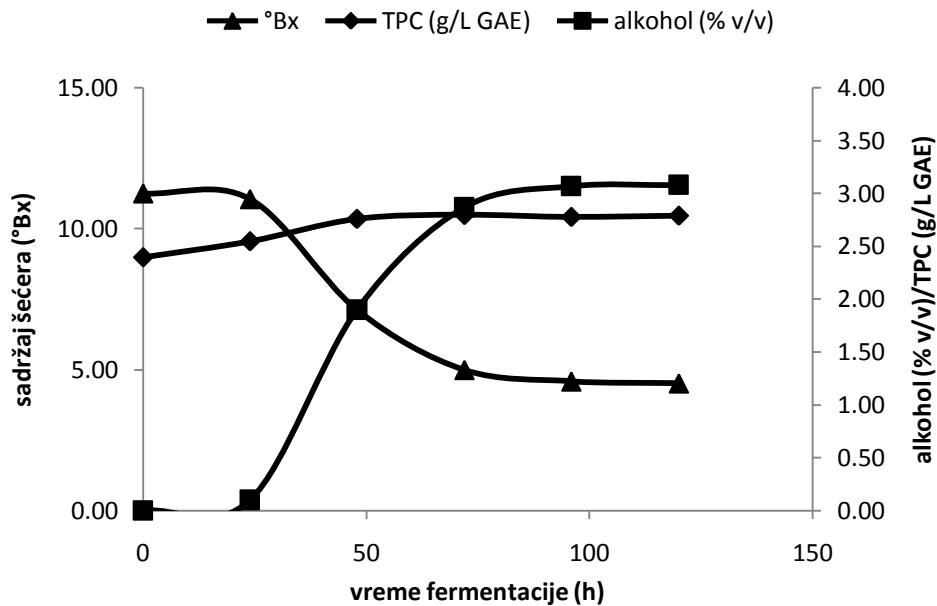
Slika 5.17. Kinetika fermentacije i ekstrakcije polifenolnih jedinjenja u uzorku KČ4



Slika 5.18. Kinetika fermentacije i ekstrakcije polifenolnih jedinjenja u uzorku KT4

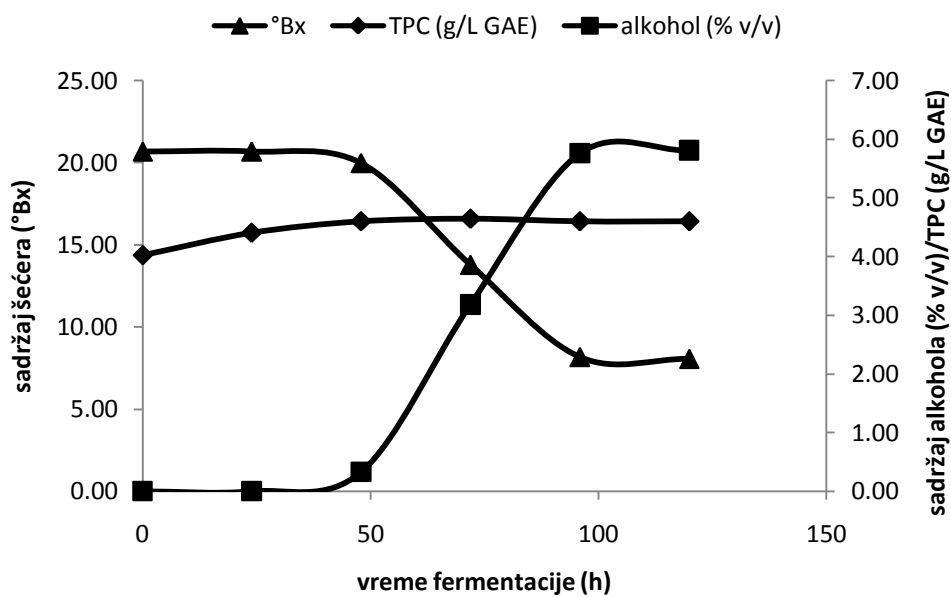


Slika 5.19. Kinetika fermentacije i ekstrakcije polifenolnih jedinjenja u uzorku MM4

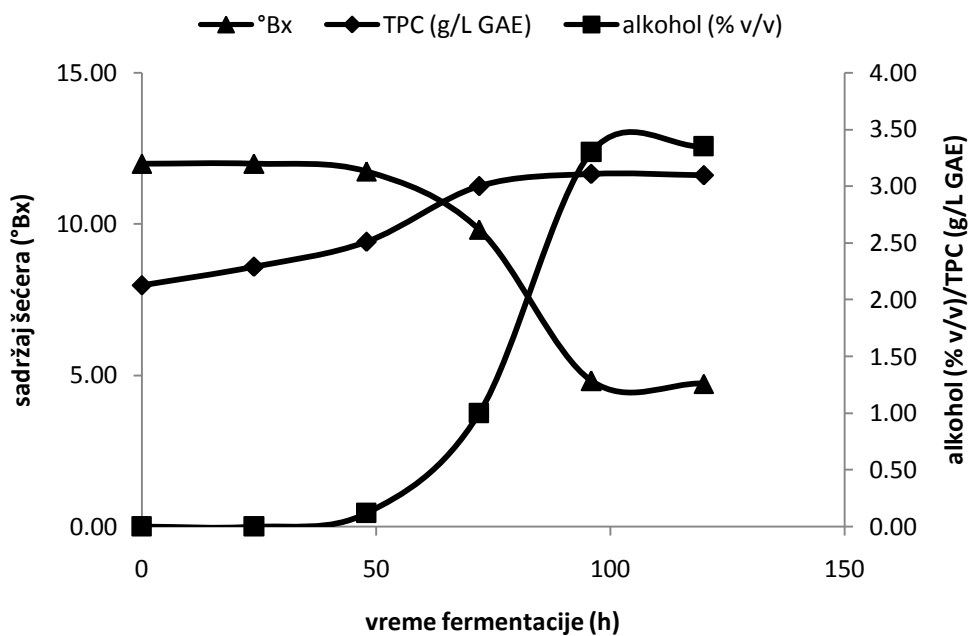


Slika 5.20. Kinetika fermentacije i ekstrakcije polifenolnih jedinjenja u uzorku MV4

Alkoholna fermentacija u uzorcima KD5, KČ5, KT5, MM5 i MV5 (spontana fermentacija kljuka na 15 °C) je otpočela nakon 48 h (slike 5.21 - 5.25). Pošto je temperatura fermentacije 15 °C, period adaptacije kvasaca na uslove sredine je trajao duže, što je i bilo očekivano. U periodu od 48 h pa do kraja fermentacije, proces se odigravao uobičajeno. U odnosu na uzorke koji su fermentisali na 22 °C, sadržaj etanola u svim uzorcima koji su fermentisali na 15 °C je bio statistički značajno viši. Evaporacija etanola i drugih lako isparljivih komponenti na temperaturi 15 °C je manja, pa je i sadržaj etanola u ovim uzorcima bio viši (Sacchi et al., 2005). Ekstrakcija polifenolnih jedinjenja kod uzoraka koji su fermentisali na 15 °C je bila manje intenzivna u odnosu na uzorke koji su fermentisali na 22 °C. Na slikama 5.21 - 5.25 se vidi da je ekstrakcija polifenolnih jedinjenja počela odmah nakon dezintegracije plodova, ali vrlo slabog inteziteta, i istim trendom se nastavila do 90 h fermentacije.



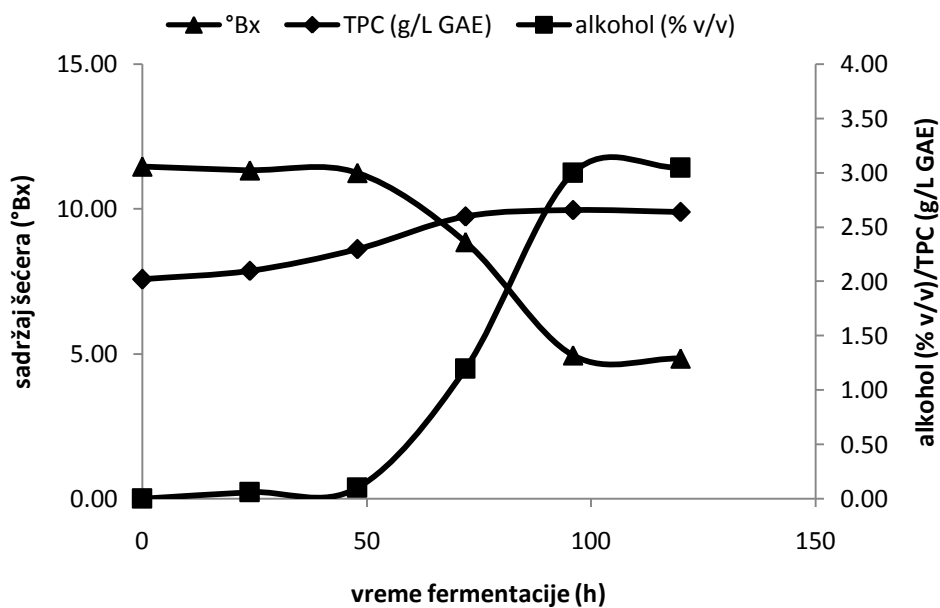
Slika 5.21. Kinetika fermentacije i ekstrakcije polifenolnih jedinjenja u uzorku KD5



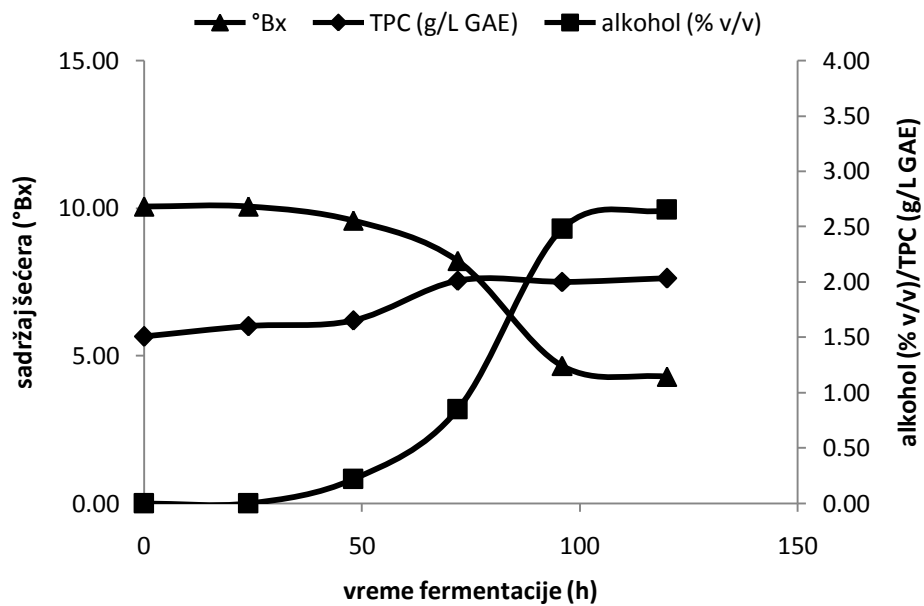
Slika 5.22. Kinetika fermentacije i ekstrakcije polifenolnih jedinjenja u uzorku ČB5

Nakon 90 h, u uzorcima nije bilo povećanja sadržaja ukupnih polifenola do kraja fermentacije. Sadržaj ukupnih polifenola u uzorku KD5 je bio 4.60 g/L GAE dok je u uzorku KD1 detektovano 5.65 g/L GAE. Ista razlika u sadržaju ukupnih polifenola je utvrđena i kod drugih uzoraka. Razlika u sadržaju ukupnih polifenola između svih uzoraka koji su fermentisali na 15 °C i 22 °C je statistički značajna. Razlika u temperaturi fermentacije kod ovih uzoraka je rezultirala razlikom u sadržaju ukupnih polifenola. Na višoj temperaturi, intenzivnije je oslobađanje CO₂ što izaziva asfiksiju ćelija, udeo slobodnog SO₂ je veći a rastvorljivost ekstraktivnih komponenti viša, što sveukupno utiče na bolju ekstrakciju polifenolnih jedinjenja (Rommel et al., 1990; Rommel et al., 1992; Sacchi et al., 2005; Ribéreau-Gayon et al., 2006; Koyama et al., 2007).

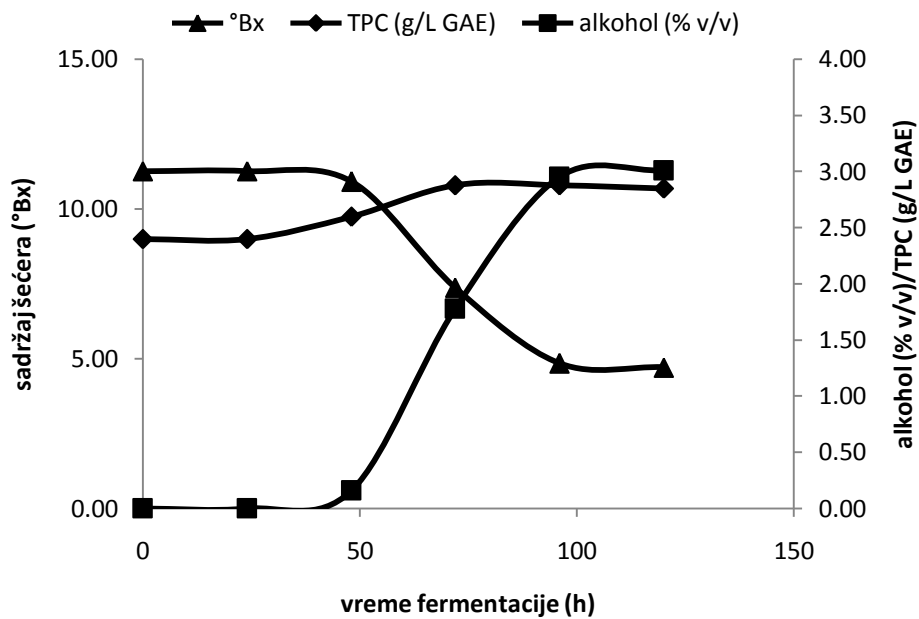
Maksimalna ekstrakcija polifenolnih jedinjenja kod uzoraka KČ5, KT5, MM5 i MV5 je postignuta u intervalu od 80 – 85 h od početka alkoholne fermentacije, a što se poklapa sa maksimalnim intenzitetom alkoholne fermentacije. U odnosu na uzorke koji su fermentisali pod svim ostalim istim uslovima, ali na 22 °C (KD1, KČ1, KT1, MM1 i MV1), kod kojih je maksimalna ekstrakcija postignuta oko 72. h fermentacije, ovde se može uočiti pomeranje momenta postizanja maksimalne ekstrakcije za oko 15 h, a što je posledica niže temperature fermentacije. U uzorku KD 5 je tok ekstrakcije polifenolnih jedinjenja bio skoro linearan, i može se uočiti određena zakonomernost u odnosu na uzorak KD1, gde se takođe ne može najjasnije utvrditi momenat maksimalne ekstrakcije polifenolnih jedinjenja. Razlozi za takav tok ekstrakcije su kompleksiniji sastav i jača pokožica plodova divlje kupine (kao što je opisano za uzorak KD1) i relativno niža temperatura fermentacije u odnosu na uzorak KD1.



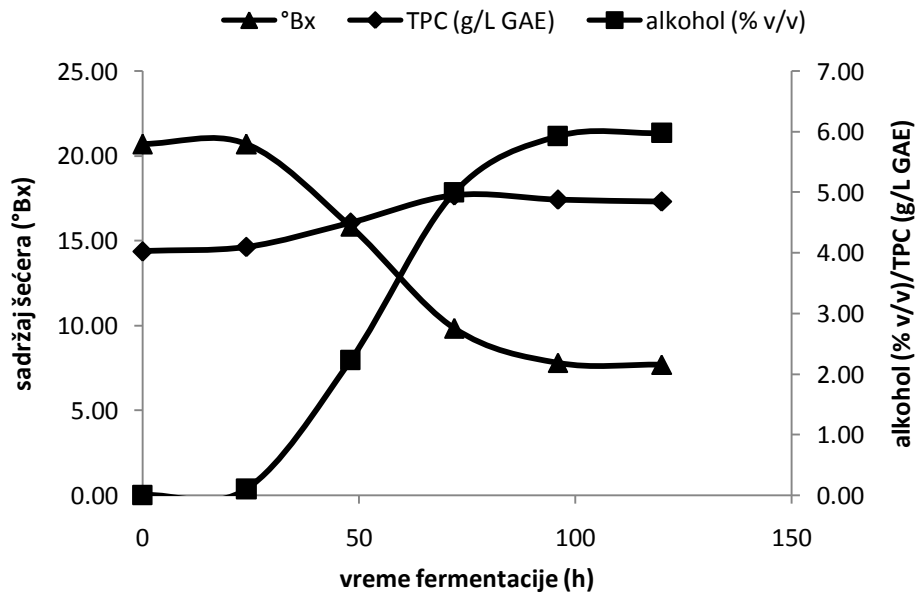
Slika 5.23. Kinetika fermentacije i ekstrakcije polifenolnih jedinjenja u uzorku KT5



Slika 5.24. Kinetika fermentacije i ekstrakcije polifenolnih jedinjenja u uzorku MM5



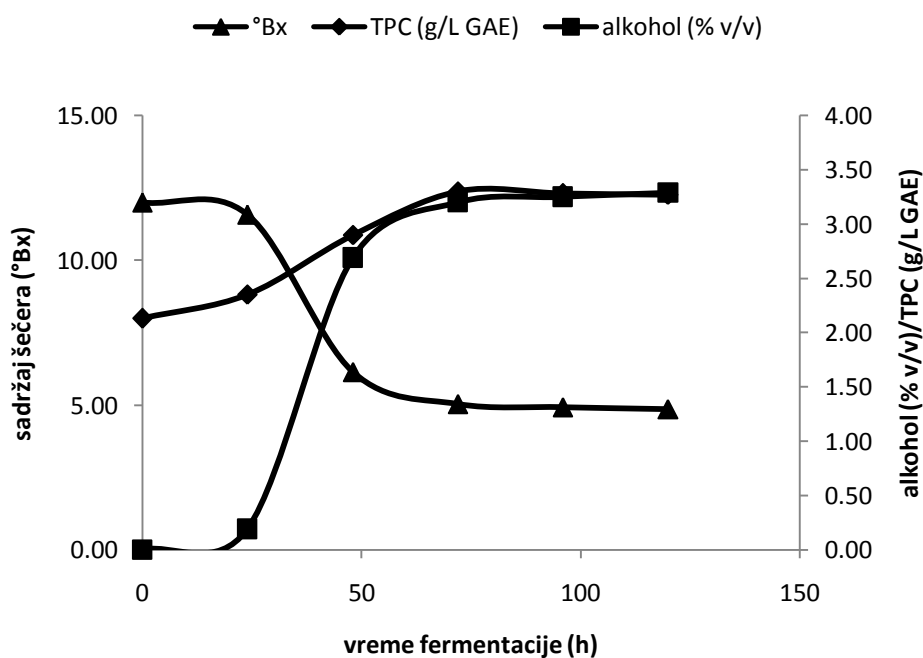
Slika 5.25. Kinetika fermentacije i ekstrakcije polifenolnih jedinjenja u uzorku MV5



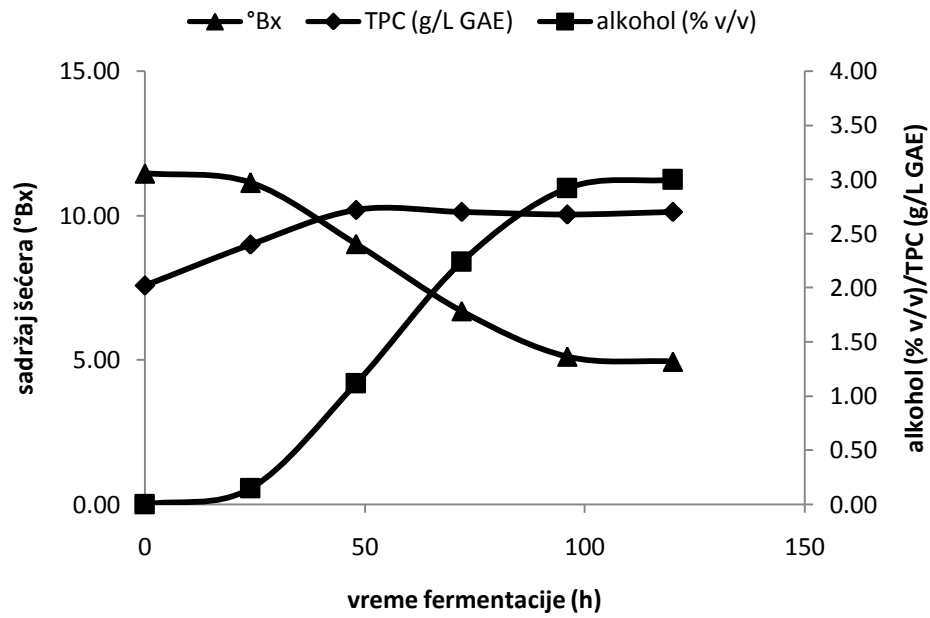
Slika 5.26. Kinetika fermentacije i ekstrakcije polifenolnih jedinjenja u uzorku KD6

U uzorcima KD6, ČB6, KT6, MM6 i MV6 (fermentacija kljuka sa selekcionisanim kvascima na 15°C) nakon 24 h od inokulacije je počela alkoholna fermentacija (slike 5.26.-5.30.). Nakon 96 h fermentacije, nije bilo prisutnih fermentabilnih šećera u kljuku. Ne postoji statistički značajna razlika u sadržaju etanola između uzoraka KD5, ČB5, KT5, MM5, MV5 i KD6, ČB6, KT6, MM6, MV6. Ekstrakcija polifenolnih jedinjenja je pratila kinetiku fermentacije, i maksimalni sadržaj polifenolnih jedinjenja u kljuku je postignut nakon 72 h fermentacije. Posle ovog perioda, nije bilo povećanja u sadržaju ukupnih polifenola u ovim uzorcima.

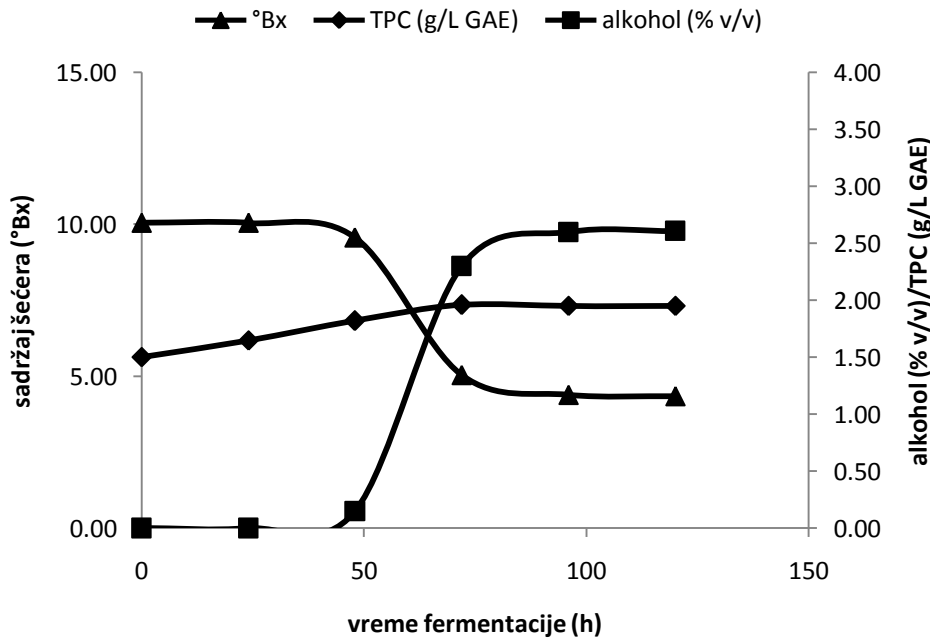
Maksimalan intenzitet ekstrakcije polifenolnih jedinjenja u uzorcima KD6, KČ6, KT6, MM6 i MV6 je postignut nakon 50 - 60 h fermentacije i poklapa se sa maksimalnim intenzitetom alkoholne fermentacije. Kao što je bio slučaj sa uzorcima KD5, ČB5, KT5, MM5 i MV5, maksimalna ekstrakcija polifenolnih jedinjenja je pomerena za oko 15 – 20 h u odnosu na uzorke koji su fermentisali pod istim ostalim uslovima ali na 22 °C.



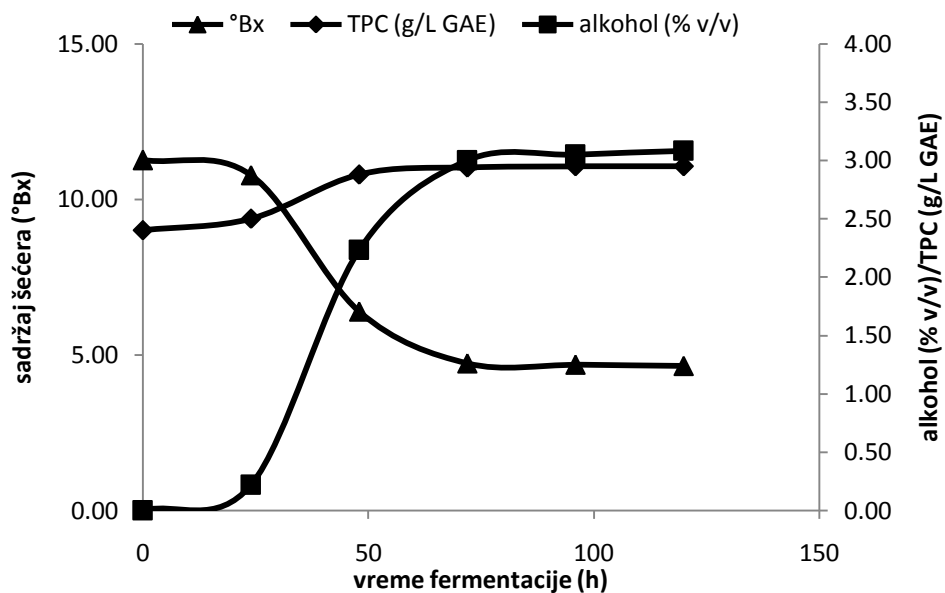
Slika 5.27. Kinetika fermentacije i ekstrakcije polifenolnih jedinjenja u uzoraku ČB6



Slika 5.28. Kinetika fermentacije i ekstrakcije polifenolnih jedinjenja u uzoraku KT6

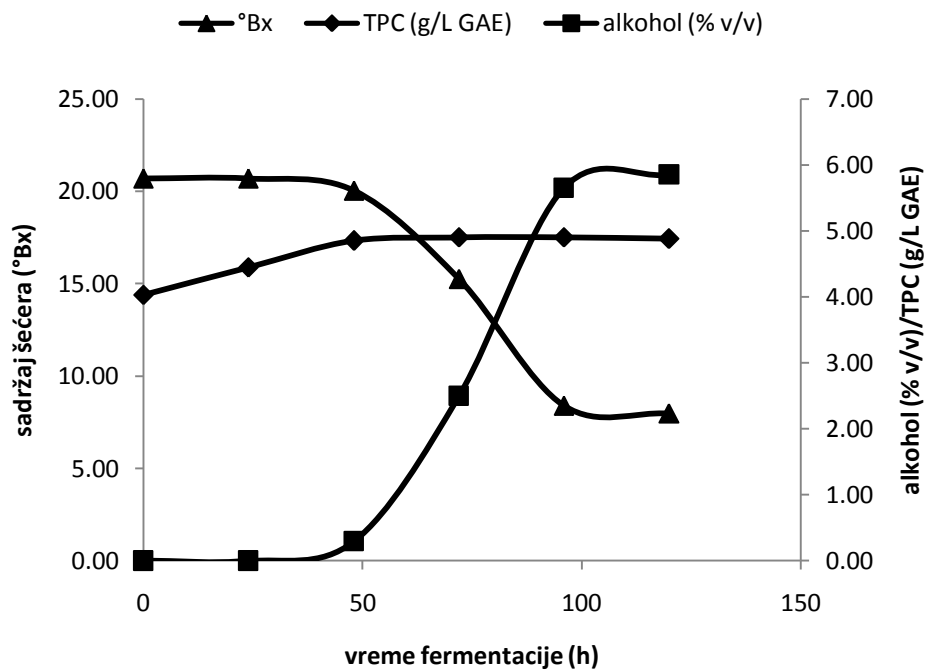


Slika 5.29. Kinetika fermentacije i ekstrakcije polifenolnih jedinjenja u uzoraku MM6

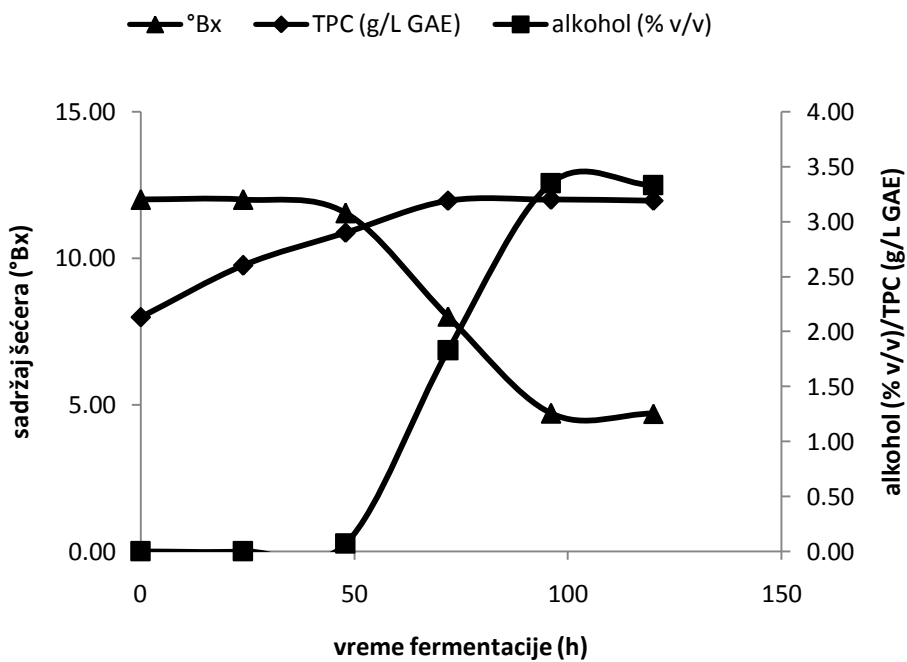


Slika 5.30. Kinetika fermentacije i ekstrakcije polifenolnih jedinjenja u uzorku MV6

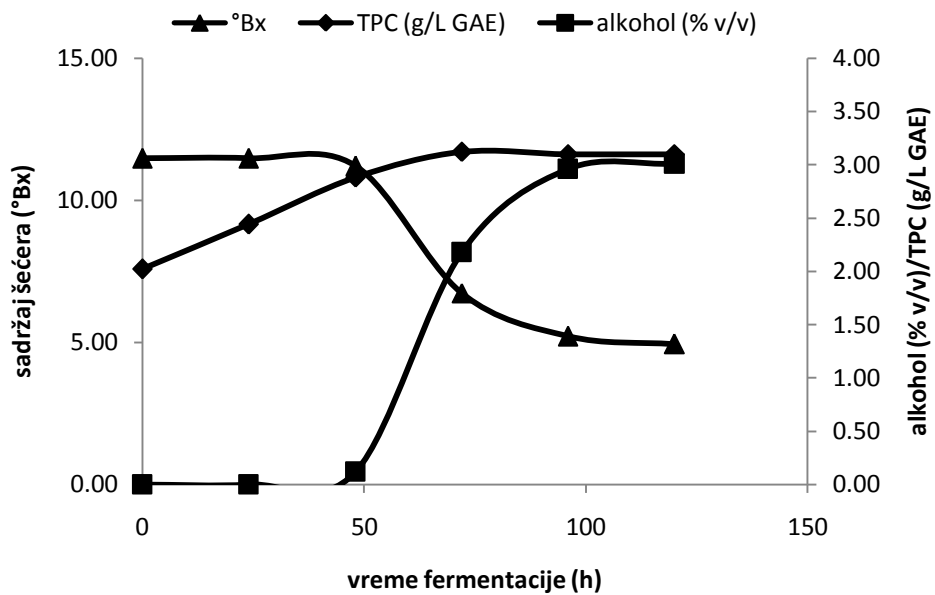
Imajući u vidu da je kljuk sulfitisan, bilo je očekivano da će početak alkoholne fermentacije biti odložen u uzorcima KD7, KČ7, KT7, MM7 i MV7 (spontana fermentacija sulfitisanog kljuka na 15 °C). Prvi znaci fermentacije u svim uzorcima javili su se nakon 48 h i do 96 h fermentacije nije bilo prisutnog šećera u kljuku (slike 5.31.-5.35.). Ekstrakcija polifenolnih jedinjenja je počela odmah nakon dezintegracije plodova, a što je posledica sulfitisanja kljuka i nakon 72 h fermentacije je postignut maksimum u sadržaju polifenola. Postoji statistički značajna razlika u sadržaju polifenolnih jedinjenja između uzorka koji su fermentisali na 22 °C i uzorka koji su fermentisali na 15 °C. Makimalni intenzitet ekstrakcije polifenolnih jedinjenja postignut je u periodu od 65. do 80. h fermentacije, u zavisnosti od uzorka. Kod svih uzorka se maksimalna ekstrakcija polifenolnih jedinjenja poklapa sa maksimalnim intenzitetom alkoholne fermentacije.



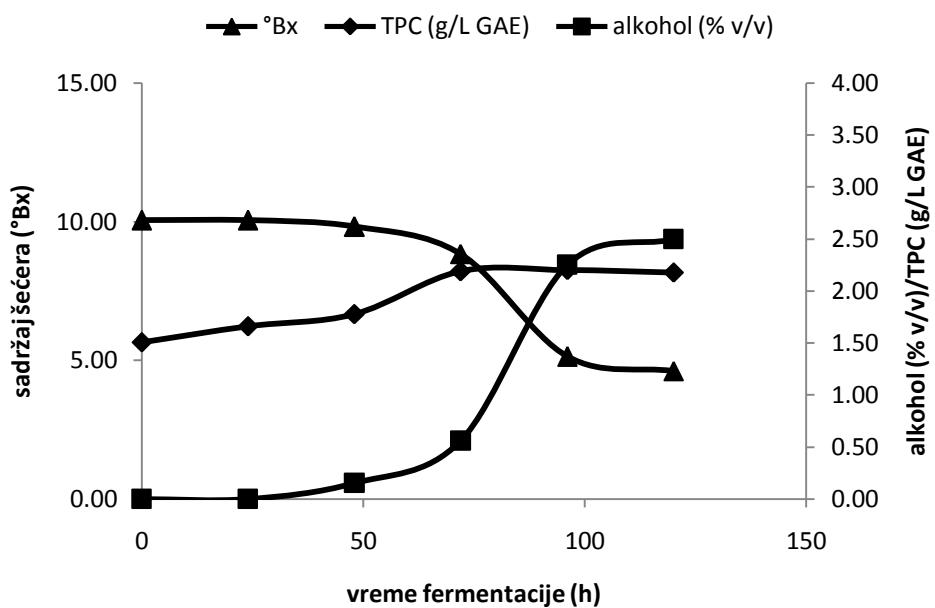
Slika 5.31. Kinetika fermentacije i ekstrakcije polifenolnih jedinjenja u uzorku KD7



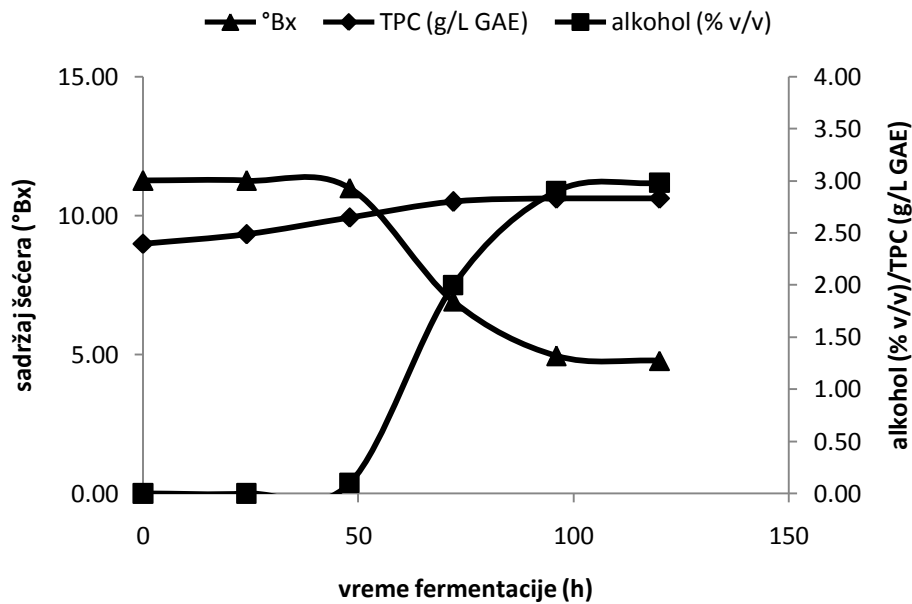
Slika 5.32 Kinetika fermentacije i ekstrakcije polifenolnih jedinjenja u uzorku ČB7



Slika 5.33. Kinetika fermentacije i ekstrakcije polifenolnih jedinjenja u uzorku KT7

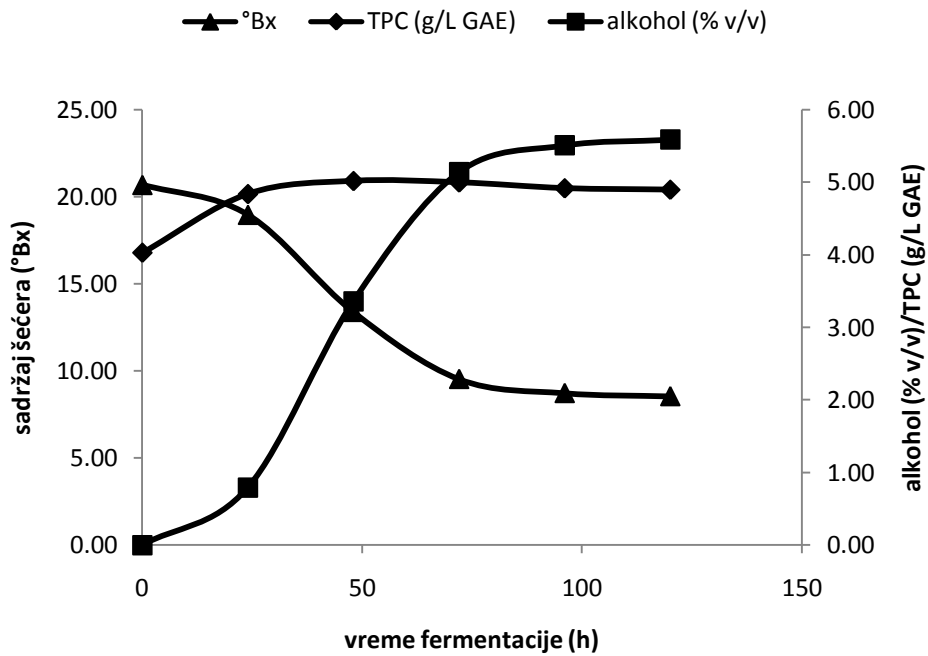


Slika 5.34. Kinetika fermentacije i ekstrakcije polifenolnih jedinjenja u uzorku MM7

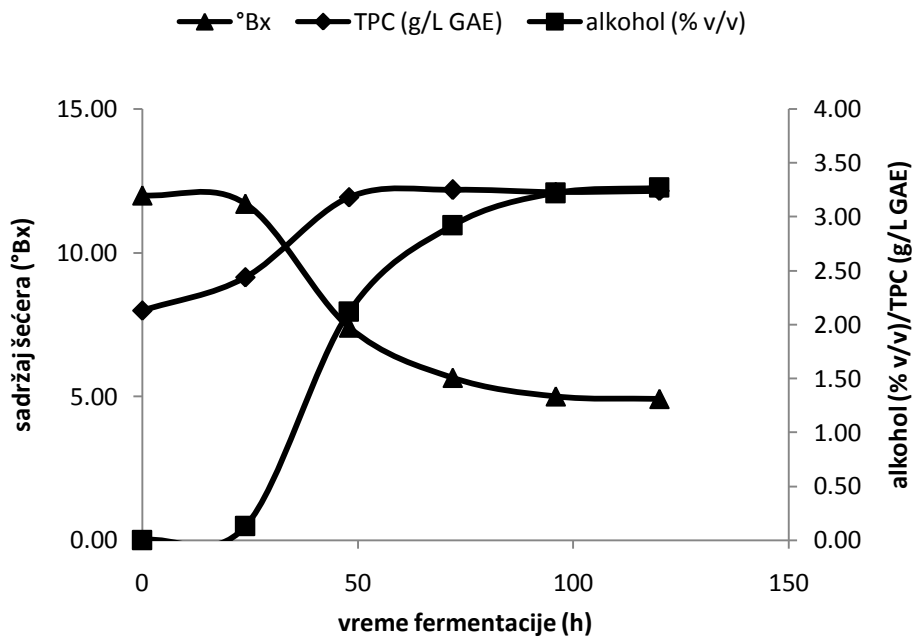


Slika 5.35. Kinetika fermentacije i ekstrakcije polifenolnih jedinjenja u uzorku MV7

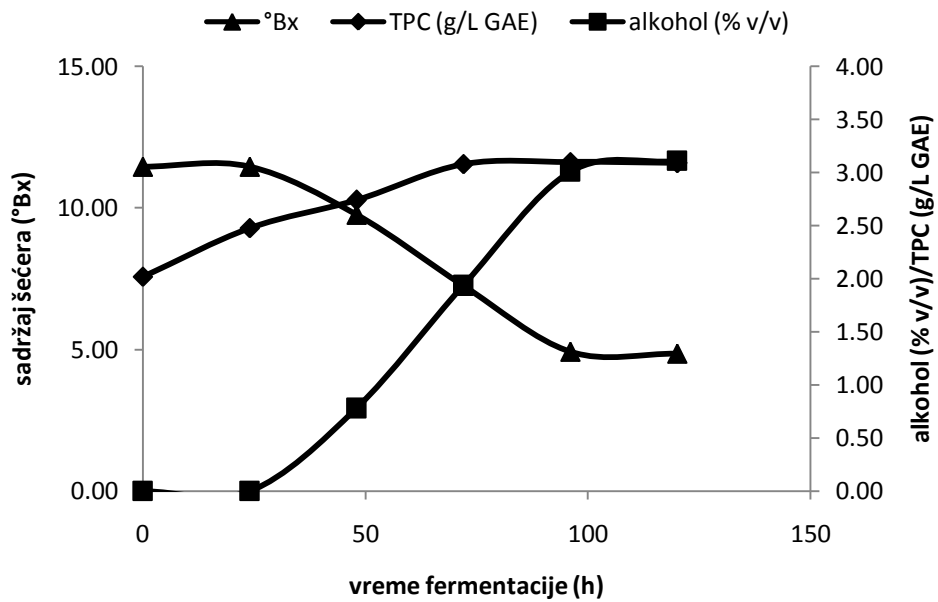
U uzorcima KD8, KČ8, KT8, MM8 i MV8 (fermentacija sufitisanog kljuka sa selekcionisanim kvascima na 15 °C), fermentacija je počela nakon nekoliko sati od momenta inokulacije selekcionisanim kvascima, i već nakon 72 h fermentacije, oko 95 % ukupno prisutnih fermentabilnih šećera je bilo transformisano u etanol. Ekstrakcija polifenolnih jedinjenja je počela odmah nakon inokulacije i već nakon 48 h od fermentacije postiže maksimum (slike 5.36.- 5.40.). Do kraja fermentacije, nije bilo promena u sadržaju polifenolnih jedinjenja ni u jednom uzorku. Kao i kod ostalih uzoraka koji su fermentisali na različitim temperaturama, postoji statistički značajna razlika u sadržaju ukupnih polifenola u uzorcima koji su fermentisali na različitim temperaturama. Masimalna ekstrakcija polifenolnih jedinjenja je postignuta u periodu od 36 do 48 h od momenta inokulacije i kao i kod svih ostalih uzoraka, maksimalna ekstrakcija polifenolnih jedinjenja je postignuta u momemntu maksimalnog inteziteta alkoholne fermentacije.



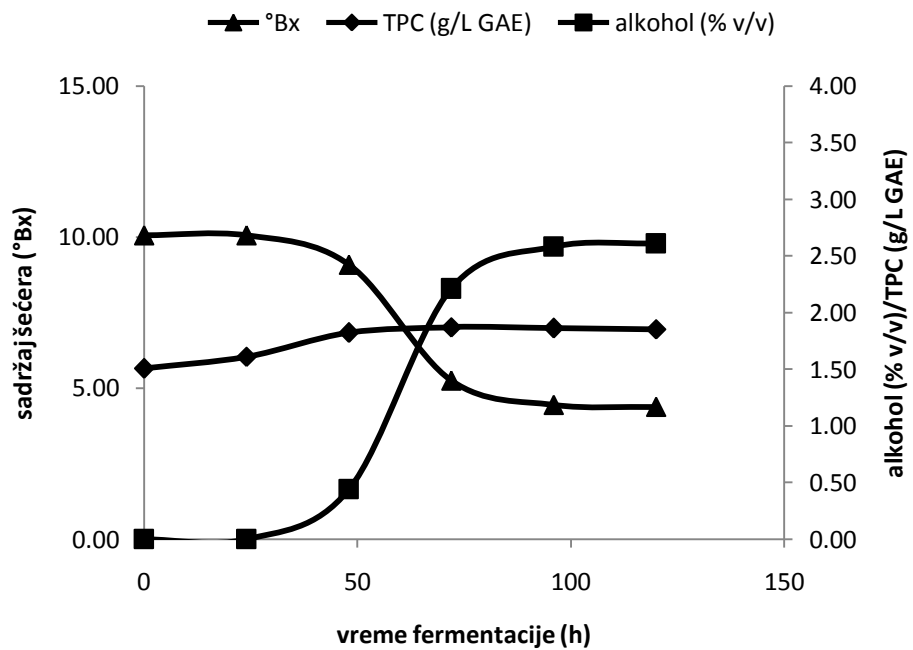
Slika 5.36. Kinetika fermentacije i ekstrakcije polifenolnih jedinjenja u uzorku KD8



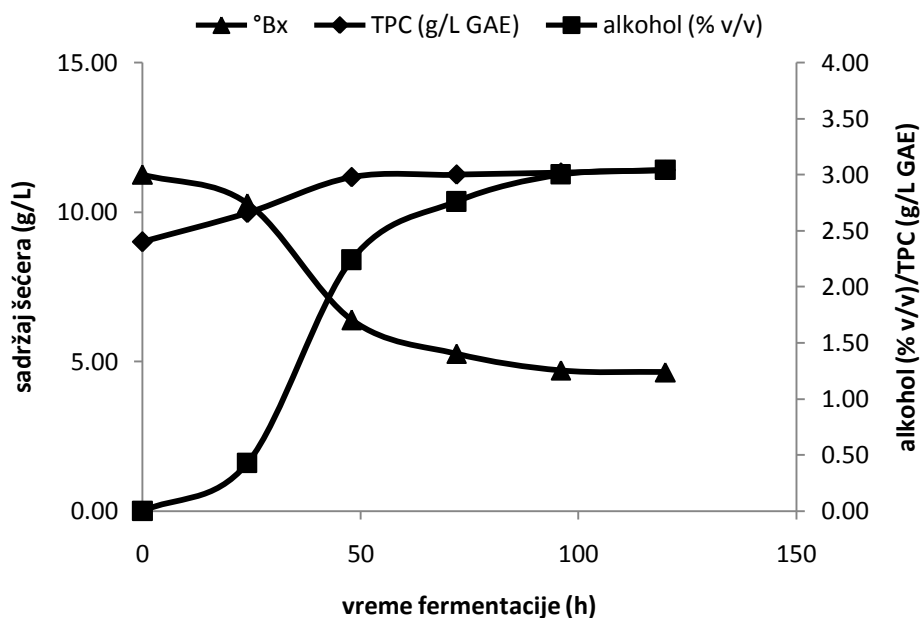
Slika 5.37. Kinetika fermentacije i ekstrakcije polifenolnih jedinjenja u uzorku KČ8



Slika 5.38. Kinetika fermentacije i ekstrakcije polifenolnih jedinjenja u uzorku KT8

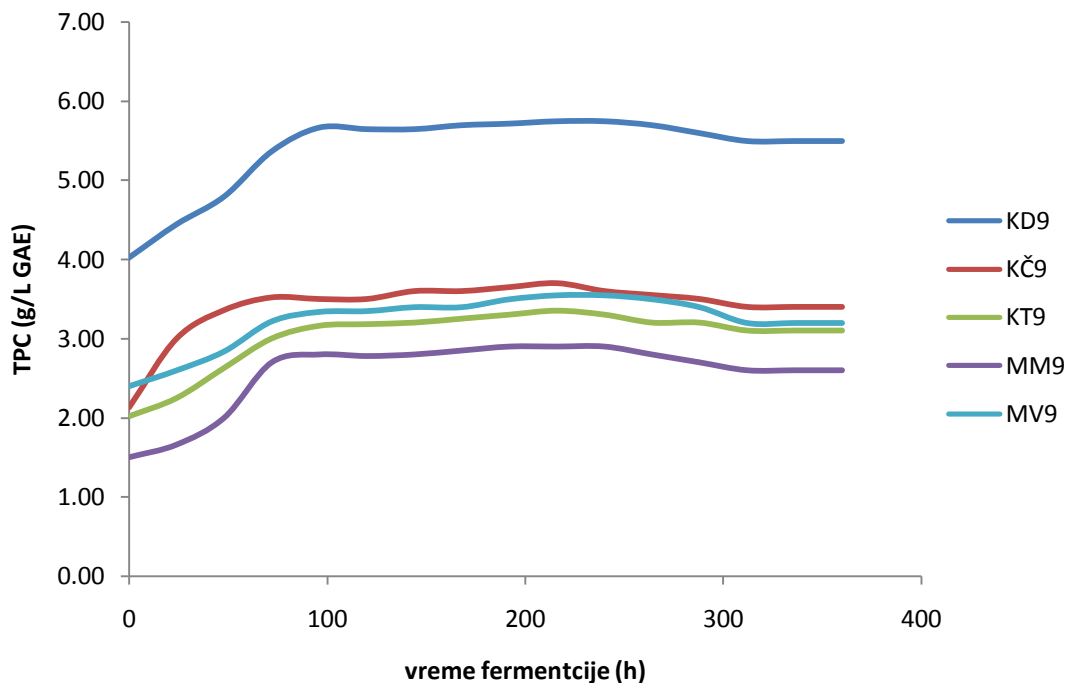


Slika 5.39. Kinetika fermentacije i ekstrakcije polifenolnih jedinjenja u uzorku MM8



Slika 5.40. Kinetika fermentacije i ekstrakcije polifenolnih jedinjenja u uzorku MV8

Nakon obavljene fermentacije i praćenja toka kinetike ekstrakcije polifenolnih jedinjenja i utvrđivanja njihovog sadržaja u uzorcima koji su fermentisali pod različitim uslovima, obavljena je fermentacija kljuka svakog od uzoraka koja je trajala 360 h, pod uslovima koji su se pokazali najoptimalnijim u pogledu kinetike ekstrakcije i sadržaja polifenolnih jedinjenja. Fermentacija je obavljena selekcionisanim kvascima uz sulfitisanje kljuka na temperaturi 22 °C, i u toku trajanja fermentacije, na svakih 24 h je određivan sadržaj ukupnih polifenola u svakom od uzoraka. Razlozi za fermentaciju pod ovim uslovima su bili: praćenje toka ekstrakcije polifenolnih jedinjenja pri dužem kontaktu sa čvrstim delovima kljuka, da se na osnovu dobijenih rezultata utvrdi da li je ceđenje kljuka nakon 120 h od početka fermentacije pravovremeno i da li je koncentracija polifenolnih jedinjenja u uzorcima vina u tom momentu maksimalno moguća. Na slici 5.41. su predstavljene krive kinetike ekstrakcije polifenolnih jedinjenja u uzorcima vina u toku 360 h fermentacije.



Slika 5.41. Kinetika ekstrakcije polifenolnih jedinjenja tokom 360 h maceracije

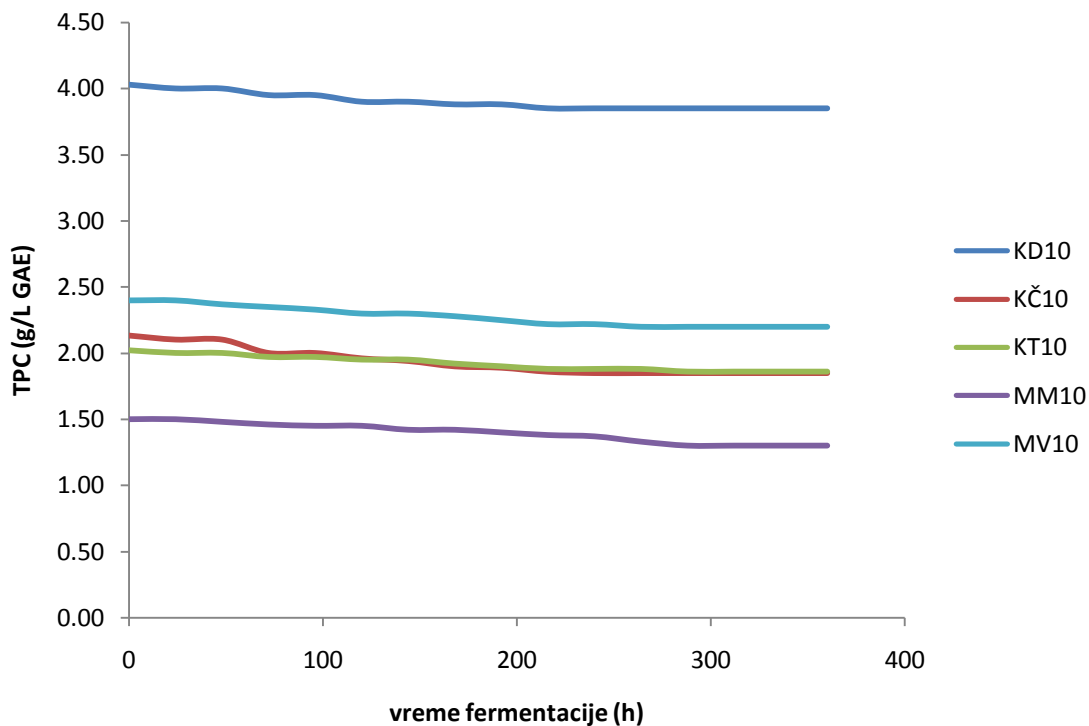
Ekstrakcija polifenolnih jedinjenja u svim uzorcima (KD9, KČ9, KT9, MM9, MV9) je imala isti tok kao i u prethodnim ogledima, nakon 72 ili 96 h od početka fermentacije postignut je maksimum u sadržaju polifenolnih jedinjenja. Od 96 h pa do 240 h maceracije, nema bitnih povećanja u sadržaju ukupnih polifenola u uzorcima, zabeležene su manje oscilacije u sadržaju, ali su vrednosti ostale na istom nivou. Od 240. h pa do kraja maceracije, beleži se blagi pad u sadržaju ukupnih polifenola u svim uzorcima, u proseku za 0.2 – 0.3 g/L GAE.

Iako je bilo očekivano da će sadržaj ukupnih polifenola tokom maceracije da raste, kao što je to slučaj kod crvenog vina od grožđa, zabeležen je pad. Kod crvenog vina od grožđa, sadržaj ukupnih polifenola tokom postfermentativne maceracije raste, jer je dobar deo polifenolnih jedinjenja smešten u semenkama grožđa. Da bi došlo do ekstrakcije polifenolnih jedinjenja iz semenki, pored ostalih faktora koji povoljno utiču na ekstrakciju (temperatura, CO₂, SO₂, tehnika maceracije) neophodno je da koncentracija etanola bude povišena, preko 10 % v/v, kako bi se intenzivirala destrukcija ćelijskog matriksa semenki i

intenzivirala ekstrakcija polifenolnih jedinjenja (Ribéreau-Gayon et al., 2006). Kako sadržaj etanola u voćnim vinima nije viši od 6 % v/v, i fermentacija je znatno kraća zbog nižeg sadržaja šećera te nema intenzivnog oslobađanja CO₂, izostaje ili se javlja vrlo slaba ekstrakcija polifenolnih jedinjenja iz semenki. Sa druge strane, udeo semenki u kljuku od maline i kupine je mnogo manji u odnosu na udeo semenki u kljuku od grožđa, te je i to jedan od faktora koji utiče na sadržaj i ekstrakciju polifenolnih jedinjenja u voćnim vinima.

Da bi se utvrdilo da li postoje razlike u sadržaju ukupnih polifenola u uzorcima vina koji su fermentisali kao kljuk i u uzorcima koji su fermentisali kao voćni sok, obavljena je fermentacija soka maline i kupine. Pored utvrđivanja razlike u sadržaju polifenola, na ovaj način je ispitivana i opravdanost fermentacije kljuka u odnosu na fermentaciju soka, zbog tehničko-tehnoloških zahteva koji moraju biti ispunjeni. Fermentacija je obavljena selekcionisanim kvascima uz dodatak SO₂ u koncentraciji 50 mg/L na temperaturi 22°C u trajanju 360 h. Tokom ovog perioda, praćena je koncentracija polifenolnih jedinjenja na svakih 24 h i dobijena je slika o toku promena u sadržaju polifenolnih jedinjenja tokom fermentacije soka (Slika 5.42.). Sadržaj polifenola u svim uzorcima do 280 h fermentacije je u blagom i konstatntnom padu, i u proseku je koncentracija polifenola u odnosu na koncentraciju na početku fermentacije bila niža za 0.2 g/L GAE. Od ovog momenta pa do kraja fermentacije, nije bilo promena u sadržaju polifenola u ovim uzorcima.

Pad u sadržaju polifenola je jednim delom posledica interakcije polifenolnih jedinjenja sa proteinima i ostacima čvrstih čestica prisutnih u soku, što dovodi do inaktivacije i sedimentacije polifenola. Drugi deo polifenola biva adsorbovan na ćelijski zid kvasaca, takođe dolazi do interakcije sa polisaharidima koji su oslobođeni autolizom kvasaca a javlja se i interakcija polifenolnih jedinjenja međusobno (Siebert et al., 1996; Seibert, 1999; Papadopoulou i Frazier, 2004; Salmon, 2006). Sadržaj polifenola u uzorcima vina dobijenih fermentacijom soka se statistički veoma značajno razlikuje od sadržaja polifenola u uzorcima dobijenim fermentacijom kljuka. Na osnovu dobijenih rezultata, jasno je da je sa aspekta sadržaja polifenolnih jedinjenja potpuno opravdano vršiti fermentaciju kljuka a ne voćnog soka.



Slika 5.42. Sadržaj polifenolnih jedinjenja u uzorcima koji su fermentisali kao voćni sok

Na osnovu činjenica i saznanja koja su dobijena tokom alkoholne fermentacije velikog broja uzoraka pri različitim uslovima i na osnovu analize dobijenih rezultata, mogu se izvesti generalni zaključci koji se odnose na intenzitet ekstrakcije i ukupni sadržaj polifenolnih jedinjenja u dobijenim uzorcima vina.

Uzorci koji su fermentisali na 22 °C, imaju statistički značajno viši sadržaj ukupnih polifenola u odnosu na uzorke koji su fermentisali na 15 °C. Ne postoji veza u sadržaju ukupnih polifenola u uzorcima koji su fermentisali sa ili bez dodatka SO₂. Primećeno je da je ekstrakcija polifenola kod sulfitisanih uzoraka počela odmah nakon sulfitsanja, ali nakon završene alkoholne fermentacije nije postojala statistički značajna razlika u sadržaju polifenola. Kod uzoraka koji nisu sulfitisani, ekstrakcija polifenola je pratila kinetiku alkoholne fermentacije. Nije primećeno da postoji statistički značajna razlika u sadržaju polifenola u uzorcima koji su fermentisali sa selekcionisanim kvascima i uzorcima koji su fermentisali prirodnom mikroflorom. Intenzitet ekstrakcije polifenolnih jedinjenja kod

uzoraka koji su fermentisali na 22 °C je bio veći, pa je posle 72 h postignut maksimum u sadržaju polifenola. Kod uzoraka koji su fermentisali na 15 °C, intenzitet ekstrakcije je bio slabiji, te je maksimum u sadržaju polifenola postignut nakon 96 h fermentacije.

Utvrđeno je da ne postoji velika razlika, ali je statistički veoma značajna, u sadržaju polifenola u jednom te istom uzorku na početku i kraju fermentacije. Razlog tome je što sok maline i kupine sadrži značajne količine polifenolnih jedinjenja i da ne postoji velika razlika u sadržaju polifenolnih jedinjenja u pokožici i soku, te shodno tome i ne postoji velika pogonska sila koja uslovljava ekstrakciju. Konkretno, nakon 72 ili 96 h fermentacije, u zavisnosti od uzorka i uslova fermentacije, ni u jednom od uzoraka nije primećen rast sadržaja polifenolnih jedinjenja. Ovo je u potpunoj suprotnosti u odnosu na proizvodnju vina od grožđa, jer je oko 90 % ukupnih polifenola prisutnih u grožđu smešteno u pokožici i semenkama a samo mali deo u soku (Gil-Muñoz et al., 1999; Cyzowska i Pogorzelski, 2002).

Sa aspekta potencijala sorti maline i kupine za proizvodnju vina sa povišenim sadržajem polifenolnih jedinjenja, najsuperiornija je divlja kupina, što je i bilo očekivano. Maksimalna koncentracija polifenolnih jedinjenja je postignuta u uzorku KD1, 5.65 g/L GAE. Kupina sorte Čačanska bestrna je na drugom mestu, zatim sledi kupina sorte Tornfri pa malina sorte Vilamet i na poslednjem mestu je malina sorte Miker.

5.3. Analiza fenolnih kiselina i flavonoida

Nakon završene fermentacije, obavljena je kvalitativna i kvantitativna analiza fenolnih jedinjenja tečnom hromatografijom visokih performansi. Analiza je obuhvatila ukupno 52 uzorka, uzorke dobijene u toku ovog istraživanja kao i uzorke domaćih proizvođača voćnih vina koji su prisutni na tržištu u slobodnoj prodaji. Detektovano je i kvantifikovano ukupno 12 fenolnih jedinjenja: fenolne kiseline (galna kiselina, elaginska kiselina, protokatehuinska kiselina, hidroksibenzoeva kiselina, hlorogena kiselina, p-kumarinska kiselina i kafeinska kiselina) i flavonoidi (katehin, epikatehin, rutin, kvercetin i kempferol).

Tabela 5.2. Sadržaj fenolnih kiselina i flavonoida u uzorcima vina od divlje kupine*

Fenolna jedinjenja (mg/L)	Uzorci ^x							
	KD1	KD2	KD3	KD4	KD5	KD6	KD7	KD8
Galna kislina	8.12±0.14 ^a	8.06±0.18 ^a	9.62±0.20 ^b	7.27±0.11 ^c	6.41±0.1 ^d	6.29±0.17 ^d	5.17±0.2 ^e	6.53±0.34 ^d
Elaginska kislina	30.76±0.52 ^a	26.57±0.6 ^b	31.45±0.33 ^a	25.99±0.35 ^b	24.25±0.38 ^c	25.82±0.4 ^b	25.07±0.76 ^b	26.59±0.9 ^b
Protokatehuinska kislina	10.52±0.09 ^a	11.53±0.19 ^b	10.19±0.21 ^a	11.67±0.11 ^b	7.94±0.19 ^c	8.91±0.23 ^d	9.4±0.33 ^d	9.38±0.22 ^d
Hidroksibenzoeva kislina	1.27±0.04 ^a	1.03±0.08 ^b	1.03±0.07 ^b	0.96±0.04 ^b	0.84±0.03 ^c	0.79±0.1 ^c	0.86±0.09 ^c	0.74±0.03 ^c
p-kumarinska kislina	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Kafeinska kislina	1.04±0.06 ^a	0.86±0.09 ^b	0.84±0.1 ^b	0.75±0.04 ^c	0.85±0.09 ^b	0.74±0.03 ^c	0.73±0.1 ^c	0.79±0.02 ^{b,c}
Hlorogena kislina	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Katehin	0.2±0.01 ^a	0.2±0.04 ^a	0.1±0.01 ^b	0.11±0.02 ^b	0.19±0.01 ^a	0.14±0.004 ^{a,b}	0.13±0.002 ^{a,b}	0.14±0.02 ^{a,b}
Epikatehin	2.46±0.11 ^a	2.37±0.13 ^a	2.49±0.17 ^a	2.94±0.14 ^b	1.47±0.12 ^c	1.74±0.09 ^d	1.8±0.1 ^d	1.98±0.19 ^e
Rutin	0.28±0.09 ^a	0.25±0.05 ^a	0.3±0.02 ^a	0.25±0.06 ^a	N.D.	N.D.	0.09±0.002 ^b	N.D.
Kvercetin	0.33±0.07 ^a	0.21±0.05 ^b	0.23±0.1 ^b	0.13±0.01 ^c	0.1±0.007 ^c	0.13±0.03 ^c	0.31±0.07 ^a	0.22±0.02 ^b
Kempferol	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.

*rezultati su izraženi kao srednja vrednost tri ponavljanja±sd

^x za objašnjenje sifri uzoraka pogledati tabelu 4.2.

sd – standardna devijacija

N.D. – nije detektovano

^{a-e} vrednosti sa različitim eksponentom u istom redu su statistički značajno različite (p<0.05)

Iz grupe fenolnih kiselina, u uzorcima vina od divlje kupine (KD1-KD8) u najvećim količinama su bile prisutne protokatehuinska i galna kiselina (Tabela 5.2.). Elaginska kiselina, koja je u uzorcima vina od divlje kupine veoma prisutna, se klasifikuje u posebnu grupu, kao elagitanini i derivati elaginske kiseline, mada se u literaturi može naći u grupi fenolnih kiselina. U plodovima bobičastog voća se može naći u slobodnoj, acilovanoj i glikozidnoj formi, a takođe je prisutna i u formi elagitanina. Sadržaj elaginske kiseline se kreće u granicama od 24.25 mg/L za uzorak KD5 do 31.45 mg/L za uzorak KD3. U odnosu na uzorke ČB i KT, sadržaj elaginske kiseline je viši za 2 - 5 puta. Koncentracija galne kiseline u uzorcima vina od divlje kupine je bila niža u odnosu na koncentraciju u uzorcima ČB i KT i kretala se u granicama od 5.17 mg/L za uzorak KD7 do 9.62 mg/L za uzorak KD3. Sadržaj protokatehuinske kiseline u KD uzorcima prati isti trend kao i sadržaj galne i elaginske kiseline, i viši je u uzorcima KD1-KD4 u odnosu na uzorke KD5-KD8. U uzorcima KD1-KD4, koji su fermentisali na 22 °C, sadržaj elaginske kiseline, galne i protokatehuinske je statistički značajno viši u odnosu na sadržaj u uzorcima KD5-KD8, koji su fermentisali na 15 °C. Hlorogenska kiselina, p-kumarinska i kempferol nisu detektovani u KD uzorcima, za razliku od ČB i KT uzoraka, gde su detektovani u manjim količinama. Amidžić-Klarić et al. (2011) su ispitali sadržaj polifenolnih jedinjenja u vinu od kupine proizvedenog u različitim regijama hrvatske. Sadržaj galne kiseline je bio od 28.14 – 122.41 mg/L, hlorogenske od 1.028 - 3.942 mg/L, kafeinske od 2.031 - 4.845 mg/L i p-kumarinske od 1.033 - 4.354 mg/L.

Sadržaj hidroksibenzoeve i kafeinske kiseline je oko vrednosti od 1 mg/L vina, i takođe postoji statistički značajna razlika u sadržaju ovih jedinjenja u uzorcima koji su fermentisali na 22 °C i onih koji su fermentisali na 15 °C. Od flavonoida, sadržaj epikatehina u KD uzorcima je značajno viši (1.47 – 2.94 mg/L) u odnosu na sadržaj katehina, rutina i kvercetina, čiji je sadržaj bio u okviru vrednosti 0.1 – 0.3 mg/L. Minussi et al. (2003) su analizirali sadržaj flavonoida u uzorcima belog, roze i crvenog vina i sadržaj katehina i epikatehina je bio u granicama od 0.1 do 15.2 mg/L i 0.3 do 13.7 mg/L, prema redosledu u tekstu.

Tabela 5.3. Sadržaj fenolnih kiselina i flavonoida u uzorcima vina od Čačanske bestrne kupine*

Fenolna jedinjenja (mg/L)	Uzorci ^x							
	KČ1	KČ2	KČ3	KČ4	KČ5	KČ6	KČ7	KČ8
Galna kislina	11.99±0.55 ^a	12.19±0.42 ^a	10.37±0.33 ^b	11.85±0.61 ^a	3.92±0.83 ^c	3.41±0.12 ^c	3.62±0.18 ^c	2.29±0.15 ^d
Elaginska kiselina	17.77±1.10 ^a	16.67±1.34 ^b	18.68±1.44 ^c	21.02±1.22 ^d	9.37±0.87 ^e	12.24±1.01 ^f	12.19±0.98 ^f	13.66±0.89 ^g
Protokatehuinska kiselina	6.13±0.18 ^a	6.25±0.36 ^a	6.37±0.14 ^a	7.66±0.11 ^b	5.39±0.58 ^c	6.03±0.34 ^a	5.12±0.44 ^c	5.31±0.19 ^c
Hidroksibenzoeva kiselina	1.45±0.09 ^a	1.12±0.09 ^a	1.14±0.10 ^a	1.35±0.08 ^a	1.07±0.03 ^b	1.02±0.05 ^b	0.87±0.11 ^c	0.84±0.07 ^c
p-kumarinska kiselina	0.30±0.06 ^a	0.27±0.07 ^a	0.18±0.06 ^b	0.19±0.04 ^b	0.16±0.02 ^b	0.12±0.02 ^c	0.18±0.04 ^b	0.12±0.05 ^c
Kafeinska kiselina	0.99±0.17 ^a	1.06±0.09 ^a	0.92±0.13 ^a	1.06±0.11 ^a	0.51±0.11 ^b	0.98±0.13 ^a	0.82±0.22 ^c	0.65±0.13 ^b
Hlorogena kiselina	0.24±0.03 ^a	0.20±0.04 ^a	0.23±0.01 ^a	0.22±0.03 ^a	N.D.	N.D.	N.D.	0.20±0.04 ^a
Katehin	0.30±0.04 ^a	0.27±0.06 ^a	0.18±0.02 ^b	0.19±0.03 ^b	0.16±0.03 ^b	0.12±0.02 ^c	0.18±0.02 ^b	N.D.
Epikatehin	3.32±0.33 ^a	3.45±0.10 ^a	2.49±0.16 ^b	3.22±0.11 ^a	1.89±0.03 ^c	2.13±0.13 ^c	2.68±0.19 ^b	1.94±0.16 ^c
Rutin	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Kvercetin	2.37±0.18 ^a	2.14±0.08 ^b	1.76±0.09 ^c	1.26±0.11 ^d	0.86±0.18 ^e	0.38±0.09 ^f	1.17±0.08 ^d	0.99±0.11 ^d
Kempferol	0.23±0.04	N.D.	N.D.	0.05±0.001	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.

*rezultati su izraženi kao srednja vrednost tri ponavljanja±sd

^x za objašnjenje sifri uzoraka pogledati tabelu 4.2.

sd – standardna devijacija

N.D. – nije detektovano

^{a-g} vrednosti sa različitim eksponentom u istom redu su statistički značajno različite (p<0.05)

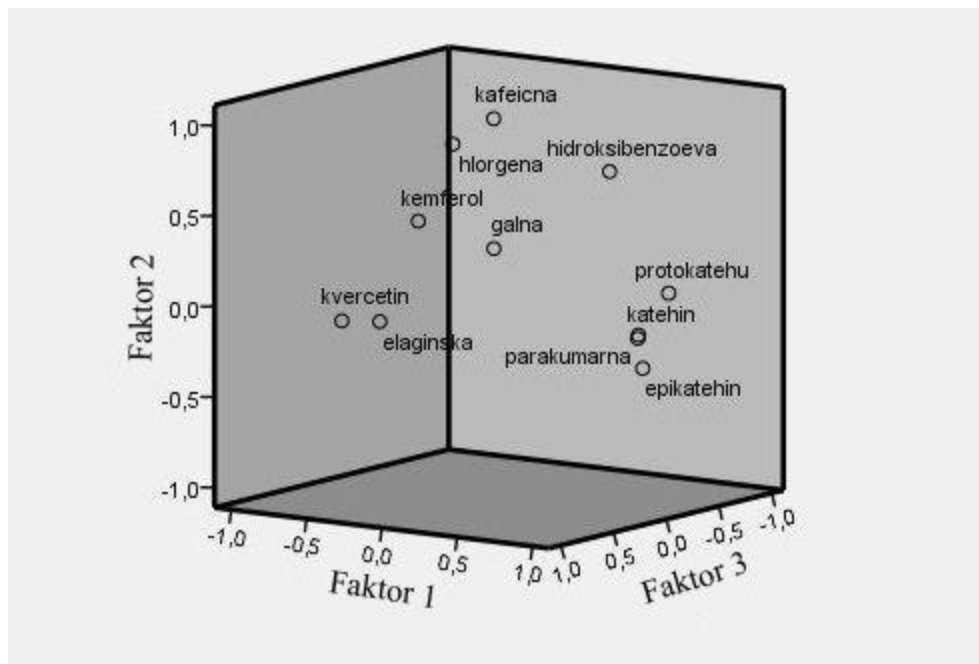
Na osnovu statističke analize glavni komponenti (PCA analiza) (Prilog 1), gde je ispitivano koja od kvantifikovanih polifenolnih jedinjenja najviše karakterišu vina od date sorte, vidi se da tri polifenolna jedinjenja karakterišu vino od divlje kupine sa 80.1 %. Najveći uticaj na karakterizaciju imaju kvercetin sa 41.9 %, zatim kafeinska kiselina sa 24.2 % i p-hidroksibenzojeva kiselina sa 14.0 %.

Kao i kod KD uzoraka gde je od svih analiziranih fenolnih jedinjenja sadržaj elaginske kiseline bio najviši, isti je slučaj i kod uzoraka KČ i KT. Najveća količina elaginske kiseline je detektovana u uzorcima KČ1 - KČ4 (16.67 – 21.02 mg/l) dok je sadržaj ove komponente bio najniži u uzorcima KT5 – KT8 (1.9 – 3.46 mg/L). Sadržaj galne kiseline u uzorcima KČ je bio u granicama 2.29 – 12.19 mg/L za razliku od KT uzoraka, gde je sadržaj ove kiseline u granicama 1.39 – 9.1 mg/L. S obzirom da su svi uslovi fermentacije za svaki od uzoraka bili identični, jedini faktor koji može da utiče na razliku u kompoziciji fenolnih jedinjenja u ovim uzorcima jeste sorta (Rommel i Wrolstad, 1993; Wang et al., 1994; Wada i Ou, 2002). Sadržaj protokatehuinske kiseline je bio neznatno viši u uzorcima KT u odnosu na uzorke KČ, sadržaj hidroksibenzojeve kiseline je ujednačen i nije uslovljen kultivarom dok rutin nije uopšte detektovan u ovim uzorcima. Katehin i kempferol su detektovani u tragovima, u granicama 0.05 - 0.3 mg/L u svim uzorcima KČ i KT. Sadržaj kvercetina u uzorcima KČ i KT je značajno viši u odnosu na KD uzorke gde je detektovan u tragovima dok razlike u sadržaju epikatehina između ovih uzoraka nije bilo.

Na osnovu rezultata prikazanih u tabelama 5.2. – 5.4., jasno je da postoji razlika u sadržaju pojedinih komponenti u uzorcima koji su fermentisali na 22 °C i 15 °C. Uticaj temperature fermentacije na rastvorljivost i ekstrakciju polifenolnih jedinjenja je nedvosmislen, što potvrđuju i navodi drugih autora koji su istraživali uticaj temperature na intenzitet ekstrakcije polifenolnih jedinjenja (Sacchi et al., 2005; Ribéreau-Gayon et al., 2006). Takođe, može se zaključiti da ne postoji jasna veza između sadržaja ukupnih polifenola u uzorcima koji su fermentisali spontano i uzoraka koji su fermentisali sa selekcionisanim kvascima sa ili bez dodatka SO₂.

Analizom glavnih komponenti uzoraka vina od Čačanske bestrne kupine (Prilog 2.) utvrđeno je da parakumarinska kiselina, katehin i galna kiselina karakterišu ove uzorke sa ukupno 82.5 %. Parakumarinska u ukupnoj karakterizaciji učestvuje sa 55.2%, katehin sa

16.9 % i galna kiselina sa 12.4 %. Ako se napravi poređenje sa polifenolnim jedinjenjima koja karakterišu uzorke vina od divlje kupine, uočava se da nema zajedničkih komponenti koje utiču na karakterizaciju, a što je uslovljeno kultivarom od kojeg je vino proizvedeno.



Slika 5.43. Grafikon PCA analize za vino od sorte kupine Tornfri

Na slici 5.43. su prikazani rezultati PCA analize za uzorke vina od Tornfri kupine. Na slici se može videti da su katehin, p-kumarna kiselina, epikatehin i protokatehuinska kiselina grupisane u jednoj regiji grafikona i ove komponente karakterišu vino od Tornfri kupine sa ukupno 83.7 %. Najveći utucaj na karakterizaciju ima katehin sa 42.5 %, zatim slede p-kumarna kiselina sa 23.6 %, epikatehin sa 17.5 % i protokatehuinska kiselina sa 7.7 %.

U uzorcima MM i MV, koncentracija galne kiseline je bila najviša (tabele 5.5. i 5.6.), od 7.22 – 15.18 mg/L za MM i od 7.42 – 12.78 mg/L za MV. Koncentracija elaginske kiseline je neznatno niža, i ne postoji statistički značajna razlika u sadržaju elaginske kiseline između uzoraka MM i MV.

Tabela 5.4. Sadržaj fenolnih kiselina i flavonoida u uzorcima vina od Tornfri kupine*

Fenolna jedinjenja (mg/L)	Uzorci ^x							
	KT1	KT2	KT3	KT4	KT5	KT6	KT7	KT8
Galna kislina	3.51±0.16 ^a	2.31±0.09 ^b	2.71±0.11 ^c	3.44±0.44 ^a	1.39±0.27 ^d	2.65±0.18 ^c	2.98±0.28 ^d	2.75±0.12 ^c
Elaginska kiselina	8.05±0.63 ^a	8.83±0.75 ^b	11.19±0.98 ^c	8.25±0.78 ^a	1.9±0.33 ^d	2.19±0.54 ^d	2.94±0.57 ^e	3.46±0.66 ^f
Protokatehuinska kiselina	7.02±0.09 ^a	8.77±0.55 ^b	9.1±0.11 ^b	8.43±0.67 ^b	7.4±0.19 ^a	5.42±0.22 ^c	7.94±0.35 ^a	6.14±0.33 ^d
Hidroksibenzoeva kiselina	1.33±0.05 ^a	1.52±0.07 ^b	1.51±0.04 ^b	1.46±0.10 ^{a,b}	1.42±0.09 ^{a,b}	1.27±0.08 ^c	1.03±0.04 ^d	1.18±0.03 ^{c,d}
p-kumarinska kiselina	0.05±0.01 ^a	0.18±0.01 ^b	0.12±0.01 ^c	0.17±0.02 ^b	0.07±0.01 ^d	N.D.	0.16±0.03 ^b	0.08±0.01 ^d
Kafeinska kiselina	1.67±0.16 ^a	1.83±0.17 ^b	1.88±0.14 ^b	1.6±0.22 ^a	1.93±0.28 ^b	1.86±0.19 ^b	1.56±0.14 ^a	1.74±0.18 ^c
Hlorogena kiselina	0.32±0.03 ^a	0.36±0.02 ^a	0.3±0.01 ^a	0.31±0.03 ^a	0.39±0.04 ^a	0.37±0.01 ^a	0.37±0.02 ^a	0.35±0.03 ^a
Katehin	0.05±0.009 ^a	0.18±0.02 ^b	0.12±0.01 ^c	0.17±0.01 ^b	0.07±0.004 ^a	N.D.	0.16±0.01 ^b	0.08±0.007 ^a
Epikatehin	1.04±0.20 ^a	2.62±0.33 ^b	2.1±0.22 ^c	2.66±0.34 ^b	0.81±0.42 ^d	0.74±0.23 ^d	1.44±0.31 ^e	1.06±0.15 ^a
Rutin	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Kvercetin	2.24±0.09 ^a	2.54±0.11 ^b	1.93±0.10 ^c	2.46±0.12 ^b	1.19±0.17 ^d	1.38±0.09 ^d	0.32±0.08 ^e	0.09±0.03 ^f
Kempferol	0.05±0.002 ^a	0.04±0.001 ^a	N.D.	N.D.	0.09±0.008 ^b	N.D.	N.D.	0.19±0.1 ^c

* rezultati su izraženi kao srednja vrednost tri ponavljanja±sd

^x za objašnjenje sifri uzoraka pogledati tabelu 4.2.

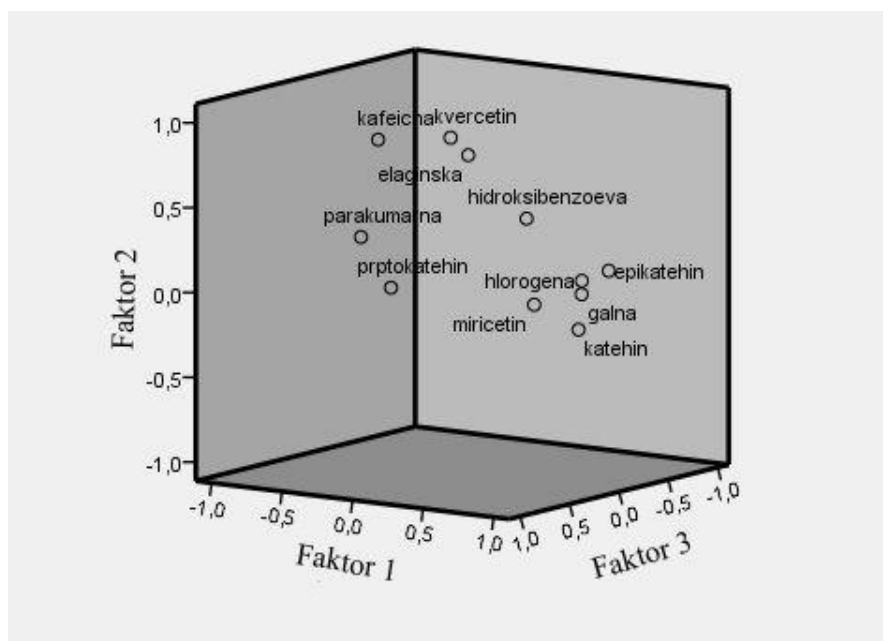
sd – standardna devijacija

N.D. – nije detektovano

^{a-f} vrednosti sa različitim eksponentom u istom redu su statistički značajno različite (p<0.05)

U poređenju sa sadržajem protokatehuinske kiseline u uzorcima vina od kupine, sadržaj ove kiseline u uzorcima MM i MV je veoma nizak, 0.14 - 1.94 mg/L. Kafeinska i benzoeva kiselina u svim uzorcima kupine i maline su prisutne skoro u istim količinama, a što je u saglasnosti sa navodima koji se mogu naći u literaturi. Sadržaj kafeinske i hidroksibenzoeve kiseline za rod *Rubus*, kome pripadaju i malina i kupina, iz istog proizvodnog područja je prilično ujednačen, i ne postoje značajne oscilacije za pojedine vrste u okviru ovog roda (Määttä-Riihinen et al., 2004; Mertz et al., 2005). Rutin nije detektovan ni u jednom od uzorka maline, dok su kvercetin i kempferol detektovani u tragovima (0.03 – 0.9 mg/L). Sadržaj epikatehina u uzorcima MV je do 4 puta viši u odnosu na sadržaj ove komponente u uzorcima MM.

Kao i u uzorcima vina od kupine, postoji statistički veoma značajna razlika u sadržaju polifenolnih jedinjenja u uzorcima vina od maline koji su fermentisali na 22 °C i 15 °C. Nije utvrđeno da postoji veza između sadržaja polifenolnih jedinjenja u uzorcima koji su fermentisali spontano i uzorcima koji su fermentisali sa selekcionisanim kvascima, na osnovu čega može da se zaključi da soj kvasca kojim se vrši fermentacija ne utiče na sadržaj polifenolnih jedinjenja u uzorcima vina.



Slika 5.44. Grafikon PCA analize za vino od sorte maline Vilamet

Tabela 5.5. Sadržaj fenolnih kiselina i flavonoida u uzorcima vina od maline Miker*

Fenolna jedinjenja (mg/L)	Uzorci ^x							
	MM1	MM2	MM3	MM4	MM5	MM6	MM7	MM8
Galna kislina	14.68±0.67 ^a	15.18±0.56 ^a	11.17±0.26 ^b	14.02±0.33 ^a	10.61±0.47 ^c	8.03±0.34 ^d	11.83±0.39 ^b	7.22±0.44 ^d
Elaginska kiselina	7.22±0.54 ^a	6.73±0.45 ^b	4.81±0.44 ^c	5.16±0.33 ^d	6.37±0.28 ^b	4.01±0.49 ^e	2.19±0.28 ^f	2.89±0.38 ^f
Protokatehuinska kiselina	1.71±0.12 ^a	1.32±0.11 ^b	1.43±0.17 ^b	1.94±0.24 ^c	1.6±0.14 ^a	0.41±0.08 ^d	0.45±0.09 ^d	0.96±0.14 ^c
Hidroksibenzoeva kiselina	1.50±0.12 ^a	1.29±0.13 ^b	1.64±0.17 ^a	1.83±0.16 ^c	1.36±0.11 ^b	1.22±0.17 ^b	1.71±0.12 ^{a,c}	1.28±0.1 ^b
p-kumarinska kiselina	0.55±0.09 ^a	0.33±0.06 ^b	0.29±0.08 ^b	0.33±0.09 ^b	N.D.	N.D.	0.64±0.04 ^a	N.D.
Kafeinska kiselina	1.37±0.1 ^a	1.13±0.12 ^b	1.54±0.1 ^c	1.27±0.11 ^{a,b}	1.28±0.1 ^{a,b}	0.91±0.09 ^d	0.62±0.09 ^e	1.31±0.07 ^a
Hlorogena kiselina	0.33±0.04 ^a	N.D.	0.09±0.01 ^b	0.37±0.05 ^{a,c}	0.41±0.04 ^{c,d}	0.35±0.04 ^{a,b,c}	0.46±0.03 ^d	0.35±0.04 ^{a,b,c}
Katehin	0.21±0.05 ^a	0.41±0.05 ^b	0.35±0.08 ^b	0.28±0.04 ^c	0.22±0.05 ^a	0.15±0.02 ^d	0.23±0.03 ^a	0.22±0.04 ^a
Epikatehin	3.06±0.3 ^a	2.48±0.37 ^b	3.96±0.7 ^c	4.0±0.44 ^c	2.63±0.28 ^b	3.57±0.19 ^d	2.59±0.21 ^b	3.47±0.28 ^d
Rutin	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Kvercetin	N.D.	0.43±0.1 ^a	0.25±0.06 ^b	N.D.	0.13±0.02 ^c	0.29±0.03 ^b	N.D.	0.38±0.06 ^a
Kempferol	N.D.	0.05±0.01 ^a	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	0.03±0.009 ^b

*rezultati su izraženi kao srednja vrednost tri ponavljanja±sd

^x za objašnjenje sifri uzoraka pogledati tabelu 4.2.

sd – standardna devijacija

N.D. – nije detektovano

^{a-f} vrednosti sa različitim eksponentom u istom redu su statistički značajno različite (p<0.05)

Tabela 5.6. Sadržaj fenolnih kiselina i flavonoida u uzorcima vina od maline Vilamet*

Fenolna jedinjenja (mg/L)	Uzorci ^x							
	MV1	MV2	MV3	MV4	MV5	MV6	MV7	MV8
Galna kislina	12.78±0.86 ^a	11.33±0.74 ^b	12.19±0.66 ^c	11.83±0.71 ^d	9.44±0.54 ^e	8.59±0.61 ^f	8.27±0.54 ^f	7.42±0.57 ^g
Elaginska kiselina	9.37±0.69 ^a	7.85±0.53 ^b	6.39±0.74 ^c	7.02±0.49 ^d	5.24±0.63 ^e	4.53±0.44 ^f	5.28±0.66 ^e	4.25±0.58 ^f
Protokatehuinska kiselina	0.87±0.1 ^a	0.86±0.09 ^a	0.74±0.08 ^b	0.63±0.09 ^c	0.66±0.07 ^c	0.88±0.1 ^a	0.53±0.07 ^d	0.98±0.11 ^e
Hidroksibenzojeva kiselina	1.54±0.19 ^a	1.37±0.17 ^b	1.38±0.17 ^b	1.42±0.22 ^b	1.67±0.14 ^c	1.15±0.11 ^d	1.26±0.1 ^d	1.21±0.16 ^d
p-kumarinska kiselina	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	0.72±0.08 ^a	N.D.
Kafeinska kiselina	1.39±0.1 ^a	1.3±0.12 ^{a,b}	1.48±0.17 ^{a,c}	1.24±0.13 ^b	1.08±0.13 ^d	0.89±0.1 ^e	0.82±0.09 ^e	0.91±0.08 ^e
Hlorogena kiselina	N.D.	N.D.	0.15±0.02 ^a	0.14±0.02 ^a	0.12±0.01 ^a	0.05±0.009 ^b	N.D.	N.D.
Katehin	0.63±0.09 ^a	0.51±0.06 ^{a,b}	0.41±0.05 ^{b,c}	0.56±0.04 ^a	0.46±0.06 ^c	0.24±0.03 ^d	0.1±0.01 ^e	0.27±0.02 ^d
Epikatehin	13.56±1.2 ^a	11.31±0.99 ^b	9.1±0.79 ^c	11.09±0.9 ^b	3.65±0.94 ^d	2.78±0.2 ^e	1.99±0.25 ^f	3.2±0.023 ^d
Rutin	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Kvercetin	0.9±0.07 ^a	0.42±0.07 ^b	0.27±0.04 ^c	0.38±0.03 ^{b,c}	N.D.	0.06±0.01 ^d	0.13±0.04 ^d	0.11±0.03 ^d
Kempferol	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.

* rezultati su izraženi kao srednja vrednost tri ponavljanja±sd

^x za objašnjenje sifri uzoraka pogledati tabelu 4.2.

sd – standardna devijacija

N.D. – nije detektovano

^{a-g} vrednosti sa različitim eksponentom u istom redu su statistički značajno različite (p<0.05)

Katehin karakteriše voćno vino od sorte maline Vilamet sa 33.1 %, galna kiselina sa 22.9 %, epikatehin sa 21.5 % i p-hidroksibenzojeva sa 8.6 %, ukupno 86.1 % (Slika 5.44.). Ako se uzme u obzir da ukupno 11 polifenolnih jedinjenja 100 % karakteriše vino od sorte Vilamet, može da se zaključi da četiri navedena jedinjenja imaju veliki udeo u ukupnoj karakterizaciji.

Kod uzoraka vina od sorte maline Miker, kemferol utiče na karakterizaciju sa 35.6 %, kvercetin sa 26.6 %, galna kiselina sa 14.7 % i protokatehuinska kiselina sa 13.0 %, ukupno 89.8 % (Prilog 3). Kao i kod vina od kupine od različitih sorti, komponente koje karakterišu vino od mline od različitih sorti nisu iste, već se razlikuju od kultivara do kultivara.

Sadržaj fenolnih kiselina i flavonoida u uzorcima KD9, KČ9, KT9 MM9 i MV9, nije bio statistički značajno različit u odnosu na uzorke KD4, KČ4, KT4, MM4 i MV4, koji su pokazali najbolje rezultate u prvoj seriji oglada (Tabela 5.7.). Sadržaj pojedinih komponenti je bio niži i proporcionalan smanjenju sadržaja ukupnih polifenola koji je konstantovan tokom perioda od 15 dana maceracije u uzorcima vina.

Tabela 5.7. Sadržaj polifenolnih jedinjenja u uzorcima vina koji su fermentisali 360 h*

Fenolna jedinjenja (mg/L)	Uzorci ^x				
	KD9	KČ9	KT9	MM9	MV9
Galna kiselina	7.55±0.23 ^a	11.05±0.51 ^b	3.04±0.34 ^c	14.2±0.23 ^d	11.01±0.61 ^b
Elaginska kiselina	26.79±0.32 ^a	20.58±1.02 ^b	7.25±0.68 ^c	4.16±0.30 ^d	7.2±0.40 ^c
Protokatehuinska kiselina	12.67±0.21 ^a	7.36±0.79 ^b	8.05±0.61 ^b	1.54±0.14 ^c	0.33±0.06 ^d
Hidroksibenzojeva kiselina	0.76±0.09 ^a	1.31±0.10 ^b	1.26±0.11 ^b	1.22±0.17 ^b	1.22±0.20 ^b
p-kumarinska kiselina	N.D	0.17±0.05 ^a	0.13±0.03 ^b	0.23±0.08 ^c	N.D
Kafeinska kiselina	0.70±0.08 ^a	1.01±0.11 ^b	1.4±0.12 ^c	1.10±0.10 ^b	1.04±0.13 ^b
Hlorogena kiselina	N.D	0.20±0.05 ^a	0.24±0.07 ^a	0.27±0.06 ^a	0.10±0.03 ^b
Katehin	0.15±0.04 ^{a,b}	0.11±0.03 ^b	0.14±0.03 ^{a,b}	0.18±0.03 ^a	0.36±0.04 ^c
Epikatehin	2.81±0.15	3.02±0.19	2.36±0.32	3.28±0.24	10.09±0.20
Rutin	0.20±0.06	N.D	N.D	N.D	N.D
Kvercetin	0.11±0.02 ^a	1.04±0.14 ^b	2.16±0.19 ^c	N.D	0.32±0.04 ^d
Kempferol	N.D	0.07±0.01	N.D	N.D	N.D

* rezultati su izraženi kao srednja vrednost tri ponavljanja±sd

^x za objašnjenje sifri uzoraka pogledati tabelu 4.2.; sd – standardna devijacija; N.D. – nije detektovano

^{a-d} vrednosti sa različitim eksponentom u istom redu su statistički značajno različite (p<0.05)

U uzorcima KD10, KČ10, KT10, MM10 i MV10, koji su fermentisali kao voćni sok, sadržaj fenolnih kiselina i flavonoida je bio statistički značajno niži u odnosu na sadržaj u svim ostalim uzorcima (Tabela 5.8.). Sadržaj svih komponenti je bio nešto niži u odnosu na sadržaj u voćnom soku, pre početka fermentacije. U toku fermentacije došlo je do taloženja polifenolnih jedinjenja, što je rezultat interakcije sa drugim komponentama soka, odnosno vina. Primećeno je da je smanjenje sadržaja svake od komponenti bilo proporcionalno smanjenju sadržaja ukupnih polifenola.

Tabela 5.8. Sadržaj fenolnih kiselina i flavonoida u uzorcima vina koji su fermentisali kao voćni sok*

Fenolna jedinjenja (mg/L)	Uzorci ^x				
	KD10	KČ10	KT10	MM10	MV10
Galna kislina	6.32±0.35 ^a	9.05±0.52 ^b	2.24±0.33 ^c	12.28±0.20 ^d	9.01±0.44 ^b
Elaginska kislina	21.72±0.27 ^a	18.50±0.84 ^b	6.25±0.61 ^c	3.56±0.23 ^d	5.28±0.47 ^e
Protokatehuinska kislina	9.33±0.44 ^a	5.96±0.69 ^b	7.12±0.55 ^c	1.22±0.11 ^d	0.22±0.05 ^e
Hidroksibenzoeva kislina	0.56±0.08 ^a	1.11±0.10 ^b	1.06±0.13 ^b	1.12±0.13 ^b	0.94±0.14 ^c
p-kumarinska kislina	N.D	0.14±0.04 ^{a,b}	0.11±0.03 ^a	0.18±0.09 ^b	N.D
Kafeinska kislina	0.51±0.09 ^a	0.91±0.10 ^b	1.14±0.10 ^c	1.01±0.12 ^c	0.77±0.10 ^d
Hlorogena kislina	N.D	0.16±0.04 ^a	0.19±0.06 ^{a,b}	0.22±0.05 ^b	0.10±0.04 ^c
Katehin	0.11±0.03 ^{a,b}	0.09±0.03 ^a	0.11±0.03 ^{a,b}	0.14±0.05 ^b	0.28±0.03 ^c
Epikatehin	2.44±0.35 ^a	2.82±0.22 ^b	2.02±0.28 ^c	2.18±0.19 ^c	7.97±0.35 ^d
Rutin	0.16±0.06	N.D	N.D	N.D	N.D
Kvercetin	0.10±0.02 ^a	1.00±0.12 ^b	1.96±0.16 ^c	N.D	0.24±0.06 ^d
Kempferol	N.D	0.06±0.01	N.D	N.D	N.D

* rezultati su izraženi kao srednja vrednost tri ponavljanja±sd

^x za objašnjenje sifri uzoraka pogledati tabelu 4.2.

sd – standardna devijacija

N.D. – nije detektovano

^{a-d} vrednosti sa različitim eksponentom u istom redu su statistički značajno različite (p<0.05)

Sadržaj fenolnih kiselina i flavonoida u komercijalnim uzorcima vina čija je analiza vršena u cilju poređenja sveukupnog kvaliteta sa uzorcima dobijenim u ovom istraživanju je predstavljen u tabeli 5.9. Sadržaj galne kiseline u uzorku K1 je bio 2-4 puta niži u odnosu na sadržaj u uzorcima KD, KČ, MM i MV, dok nije bilo statistički značajne razlike u odnosu na sadržaj galne kiseline u KT uzorcima. Sadržaj galne kiseline u K2 uzorku je bio

dva puta niži u odnosu na K1 uzorak. Sadržaj hidroksibenzoeve i protokatehuinske kiseline je bio u okviru vrednosti koje su izmerene u MV uzorcima, dok je sadržaj katehina u uzorcima K1 i K2 bio statistički značajno viši nego u bilo kom od uzoraka dobijenih u ovom radu.

Tabela 5.9. Sadržaj fenolnih kiselina i flavonoida u komercijalnim voćnim vinima*

Fenolna jedinjenja (mg/L)	Uzorci ^x	
	K1	K2
Galna kislina	4.21±0.33 ^a	2.03±0.21 ^b
Elaginska kiselina	3.00±0.21 ^a	1.83±0.12 ^b
Protokatehuinska kiselina	0.41±0.1	N.D.
Hidroksibenzoeva kiselina	0.16±0.04 ^a	0.38±0.05 ^b
p-kumarinska kiselina	0.25±0.05	N.D.
Kafeinska kiselina	0.52±0.11 ^a	0.16±0.04 ^b
Hlorogena kiselina	0.07±0.02 ^a	1.12±0.09 ^b
Katehin	2.08±0.16 ^a	0.2±0.03 ^b
Epikatehin	1.37±0.13 ^a	0.43±0.08 ^b
Rutin	0.18±0.03	N.D.
Miricetin	0.33±0.08 ^a	0.01±0.01 ^b
Kvercetin	0.98±0.10 ^a	0.54±0.09 ^b
Kempferol	0.09±0.03 ^a	0.02±0.01 ^b

* rezultati su izraženi kao srednja vrednost tri ponavljanja±sd

^x za objašnjenje sifri uzoraka pogledati tabelu 4.2.

sd – standardna devijacija

N.D. – nije detektovano

^{a-d} vrednosti sa različitim eksponentom u istom redu su statistički značajno različite (p<0.05)

Miricetin u uzorcima KD, KČ, KT, MM i MV nije uopšte detektovan, dok je u uzorcima K1 i K2 detektovan u količin 0.98 i 0.54 mg/L. Generalno, K2 uzorak ima daleko niži sadržaj ukupnih polifenola a takođe rezultati fizičko-hemijske analize su pokazali da su svi ispitivani parametri na minimalnom nivou. Uzorak K2 je pokazao viši nivo kvaliteta, i dobijeni rezultati su u okviru vrednosti koje se izmerene za uzorke KT i MM.

5.4. Antioksidativni kapacitet voćnih vina i korelacija između sadržaja ukupnih polifenola i antioksidativnog kapaciteta

Nakon završene alkoholne fermentacije i perioda fizičko-hemijske stabilizacije uzoraka vina, obavljena je analiza antioksidativne aktivnosti FRAP metodom, kapacitet vezivanja slobodnih radikala DPPH metodom i određivanje antioksidativnog kapaciteta TEAC testom. U tabeli 5.10. dat je uporedni pregled rezultata antioksidativnog kapaciteta analiziranih uzoraka vina. Najviše vrednosti za antioksidativni kapacitet u uzorcima vina od kupine se izmerene u KD uzorcima pa zatim u ČB i KT uzorcima. Izmerene FRAP vrednosti za KD1, ČB1 i KT1 uzorke su 70.74, 56.40 i 40.50 mmol TE/L, prema redosledu navođenja. Uzorci koji su fermentisali na 22 °C poseduju statistički značajno viši antioksidativni kapacitet u odnosu na uzorke koji su fermentisali na 15 °C. Kod uzoraka vina od maline, FRAP i TEAC vrednosti kod MV uzoraka su bile u proseku 1.5 puta veće u odnosu na FRAP i TEAC vrednosti kod MM uzoraka.

Larson (1988) je istraživao uticaj kultivara određene vrste voća na sadržaj polifenolnih jedinjenja i antioksidativni kapacitet. Utvrđeno je da postoji veoma značajna razlika među kultivarima iste vrste koji su gajeni u istom podneblju, i zaključeno je da je to sortna odlika. Od strane druge grupe autora (Kähkönen et al., 2001; Ehalala et al., 2005) je objavljeno da je sadržaj ukupnih polifenola i antioksidativni kapacitet značajno viši kod divljih plodova jagodastog voća u odnosu na gajene, što je u saglasnosti sa rezultatima istraživanja ovog rada. Siriwoharn et al. (2004) su analizirali 11 različitih kultivara kupine iz istog proizvodnog područja i utvrdili su da su FRAP vrednosti od 63.5 - 91.5 mmol TE/kg svežih plodova. Stratil et al. (2008) su ispitivali antioksidativni kapacitet komercijalnih crvenih i belih vina. Srednje vrednosti TEAC testa za bela i crvena vina su bile 4.95 i 26.4 mmol TE/L, prema redosledu navođenja. Drugi autori (Fernandez-Pachon et al., 2006) su objavili rezultate DPPH testa za komercijalno dostupna bela i crvena vina, 0.84 mmol TE/L za bela i 5.52 mmol TE/L za crvena vina.

Tabela 5.10. Rezultati analize antioksidativnog kapaciteta voćnih vina*

Uzorak ^x	Metoda		
	FRAP ¹	DPPH ²	TEAC ³
KD1	70.74±0.60 ^a	22.73±0.55 ^a	35.05±0.72 ^a
KD2	70.06±1.09 ^a	21.51±0.57 ^b	37.58±0.50 ^b
KD3	71.42±0.95 ^a	22.57±0.74 ^a	38.31±0.46 ^b
KD4	72.47±1.17 ^b	19.84±1.16 ^c	35.71±0.55 ^a
KD5	66.25±1.20 ^c	19.08±0.58 ^{d,c}	29.07±1.00 ^e
KD6	57.82±1.53 ^d	18.96±0.38 ^{e,c}	30.93±1.10 ^c
KD7	68.37±1.47 ^c	21.41±0.51 ^{f,b}	31.97±0.70 ^c
KD8	67.75±0.88 ^c	20.85±0.38 ^{g,b}	28.36±0.75 ^e
ČB1	56.42±2.06 ^a	15.00±0.50 ^a	26.37±0.62 ^a
ČB2	52.70±2.22 ^b	14.77±0.72 ^a	25.00±0.88 ^b
ČB3	52.09±0.93 ^{c,b}	14.66±0.72 ^a	23.28±0.70 ^c
ČB4	48.82±2.05 ^{d,e}	14.01±0.27 ^a	20.10±0.19 ^d
ČB5	52.81±1.57 ^b	14.64±1.06 ^a	22.65±1.03 ^c
ČB6	52.21±0.84 ^b	13.84±0.26 ^a	21.33±0.75 ^d
ČB7	50.71±1.25 ^f	14.98±0.21 ^a	23.70±0.70 ^c
ČB8	48.95±2.08 ^{e,g}	14.13±0.26 ^a	22.99±0.71 ^c
KT1	40.50±0.50 ^a	14.45±0.39 ^a	21.49±0.46 ^a
KT2	41.00±1.15 ^a	13.98±1.03 ^a	23.50±0.69 ^{b,d}
KT3	42.30±1.34 ^a	14.26±0.68 ^a	22.67±0.52 ^{c,d}
KT4	41.50±0.61 ^a	14.37±0.72 ^a	23.83±0.26 ^b
KT5	34.40±0.53 ^b	11.78±0.39 ^b	16.93±0.59 ^e
KT6	34.39±0.67 ^b	11.04±0.37 ^b	18.22±0.53 ^f
KT7	37.97±0.36 ^c	12.02±0.54 ^b	18.81±0.65 ^f
KT8	34.04±0.88 ^b	12.24±0.46 ^b	18.68±0.89 ^f
MM1	30.30±0.40 ^a	12.40±0.18 ^a	19.86±0.71 ^a
MM2	27.30±0.44 ^b	11.99±0.22 ^a	18.99±0.66 ^a
MM3	31.70±0.47 ^c	13.17±0.33 ^b	21.03±0.76 ^b
MM4	37.30±0.55 ^d	12.98±0.39 ^a	20.34±0.60 ^b
MM5	28.14±0.51 ^e	9.57±0.29 ^c	16.24±0.55 ^c
MM6	26.31±0.38 ^f	8.94±0.24 ^c	15.22±0.52 ^d
MM7	28.80±0.34 ^e	10.58±0.31 ^d	17.11±0.49 ^c
MM8	26.00±0.52 ^f	8.97±0.29 ^c	13.69±0.44 ^e

Nastavak tabele 5.10.

MV1	46.49±1.03 ^a	12.88±0.22 ^a	23.81±0.56 ^a
MV2	44.78±0.94 ^b	12.81±0.19 ^a	22.20±0.49 ^b
MV3	46.09±1.10 ^a	13.33±0.44 ^a	25.56±0.66 ^c
MV4	41.52±0.88 ^c	12.39±0.40 ^a	22.23±0.34 ^b
MV5	40.37±0.83 ^d	12.43±0.49 ^a	20.58±0.50 ^d
MV6	40.90±0.99 ^d	12.79±0.38 ^a	18.87±0.58 ^e
MV7	42.40±0.74 ^c	12.58±0.34 ^a	20.35±0.87 ^d
MV8	40.33±0.66 ^d	12.39±0.31 ^a	16.03±0.70 ^f
KD9	75.74±0.63 ^a	20.73±0.45 ^a	32.05±0.62 ^a
KČ9	51.42±1.76 ^b	13.00±0.40 ^b	23.37±0.72 ^b
KT9	36.50±0.60 ^c	11.45±0.29 ^c	18.49±0.36 ^c
MM9	24.30±0.46 ^d	10.40±0.16 ^d	17.86±0.71 ^c
MV9	40.49±0.93 ^e	10.88±0.32 ^d	21.80±0.46 ^d
KD10	50.99±1.10 ^a	14.20±0.42 ^a	21.86±0.99 ^a
KČ10	33.28±0.87 ^b	9.38±0.33 ^b	16.48±0.91 ^b
KT10	29.26±0.74 ^c	9.03±0.24 ^b	13.43±0.87 ^c
MM10	16.94±0.47 ^d	7.75±0.17 ^c	12.41±0.44 ^d
MV10	20.00±0.36 ^e	8.05±0.23 ^c	14.88±0.39 ^e
K1	31.03±0.77 ^a	11.15±0.55 ^a	15.16±0.43 ^a
K2	9.23±0.35 ^b	1.97±0.22 ^b	7.17±0.29 ^b

* rezultati su izraženi kao srednja vrednost tri ponavljanja±sd

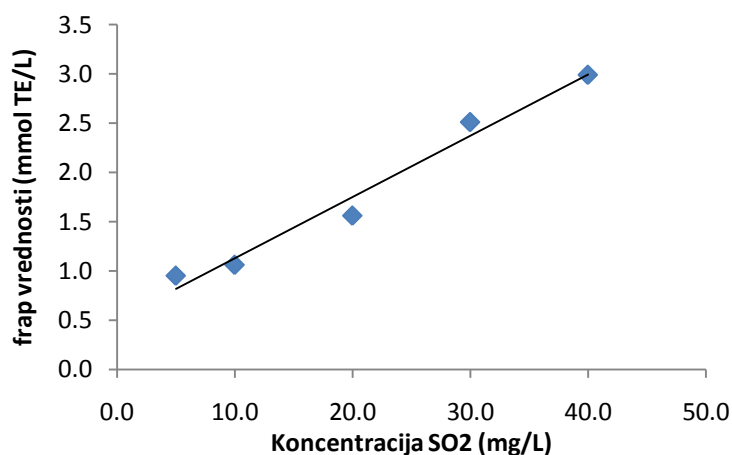
sd – standardna devijacija

^{1,2,3} mmol TE/L

^{a-g} vrednosti sa različitim eksponentom u istoj koloni su statistički značajno različite (p<0.05)

^x za objašnjenje sifri uzoraka pogledati tabelu 4.2.

Sumpor dioksid kojim se vrši sulfitisanje kljuka ili koji je produkovan od strane ćelija kvasaca u toku alkoholne fermentacije ima značajan uticaj na ukupan antioksidativni kapacitet vina. Uticaj slobodnog SO₂ na antioksidativni kapacitet je ispitan FRAP metodom. U matriks rastvorima određene koncentracije slobodnog SO₂ su izmerene FRAP vrednosti na identičan način kao što je to obavljeno na uzorcima voćnih vina. Na slici 5.45. su prikazane FRAP vrednosti matrix rastvora u funkciji od koncentracije slobodnog SO₂. Sa porastom koncentracije slobodnog SO₂ raste i antioksidativni kapacitet matriks rastvora i postoji jaka korelacija (R² = 0.976) između koncentracije SO₂ i izmerenih FRAP vrednosti.



Slika 5.45. Uticaj slobodnog SO₂ na antioksidativni kapacitet

Na osnovu dobijenih rezultata za FRAP vrednosti za slobodni SO₂, može se tačno izračunati udeo antioksidativnog kapaciteta u uzorcima voćnih vina koji se odnosi na SO₂. Kod uzoraka voćnih vina iz ovog oglada, maksimalna izmerena vrednost za slobodni SO₂ ne prelazi 3 mg/L. Ako se zna da je FRAP vrednost za uzorak MM1 30.30 mmol TE/L, i sadržaj slobodnog SO₂ 3 mg/L, dolazi se do podatka da je za 2.31 % ukupnog antioksidativnog kapaciteta odgovoran SO₂. Ako se uzme u obzir da je sadržaj slobodnog SO₂ oko 35 mg/L u vinu u momentu razlivanja u boce, značajan deo ukupnog antioksidativnog kapaciteta će biti posledica prisutnog SO₂. Za uzorke K1 i K2, 5.30 % i 22.30 %, prema redosledu u tekstu, ukupnog antioksidativnog kapaciteta je posledica prisutnog SO₂ u vinu. Abramović et al. (2015) su ispitivali uticaj SO₂ na antioksidativni kapacitet belih vina i interferenciju SO₂ sa drugim antioksidansima prisutnim u vinima. Antioksidativni kapacitet model rastvora koji je sadržao 41 µmol/L (2.62 mg/L) slobodnog SO₂ je bio 0.53 mmol/L TE.

Da bi se utvrdilo da li postoji veza između sadržaja ukupnih polifenola i antioksidativnog kapaciteta voćnih vina, izvršena je korelaciona analiza dobijenih rezultata i rezultati su dati u tabeli 5.11. Utvrđeno je da postoji visoka pozitivna korelacija između sadržaja ukupnih polifenola i FRAP vrednosti. Nešto slabija, ali još uvek dobra pozitivna korelacija postoji između sadržaja ukupnih polifenola i DPPH i TEAC vrednosti u ispitivanim uzorcima. Tvrdnja da postoji jaka pozitivna korelacija između sadržaja

ukupnih polifenola i antioksidativnog kapaciteta soka od bobičastog voća i vina od grožđa je objavljena od strane više autora (Abu- Amsha et al., 1996; Moyer et al., 2002). Sa druge strane, u literaturi se mogu naći i suprotne tvrdnje. Heinonen et al. (1998) u detaljnoj studiji sprovedenoj na 44 uzorka voćnih vina su utvrdili da analizirani uzorci poseduju značajna antioksidativna svojstva, ali da ne postoji jaka korelacija između sadržaja ukupnih polifenola i antioksidativnog kapaciteta.

Tabela 5.11. Korelacija između sadržaja ukupnih polifenola i antioksidativnog kapaciteta

	TPC	FRAP	DPPH	TEAC
	Koeficijent korelacije (r)			
TPC	/	0.94	0.81	0.68
FRAP		/	0.7	0.59
DPPH			/	0.54
TEAC				/

5.5. Sadržaj ukupnih antocijana i intenzitet boje u uzorcima vina

U tabeli 5.12. su date vrednosti za sadržaj ukupnih polifenolnih jedinjenja, ukupnih monomernih antocijana i intenzitet boje. Sadržaj ukupnih polifenola i njihova kompozicija su detaljnije opisani u sekcijama 5.1. i 5.2., a u ovoj sekciji su vrednosti predstavljene tabelarno radi boljeg uvida i poređenja sadržaja ukupnih polifenola, ukupnih antocijana i intenziteta boje.

Sadržaj ukupnih antocijana u uzorcima vina je bio u opsegu od 0.218 g CGE/L (cijanidin-3-glukozid ekvivalenata) za uzorak MM10 do 0.980 g CGE/L za uzorak KD1. U KD uzorcima sadržaj ukupnih antocijana je bio najviši, pa zatim u KČ uzorcima pa onda slede KT uzorci. Sadržaj ukupnih antocijana u MM uzorcima je na istom nivou kao u KT uzorcima, i ne postoji statistički značajna razlika u njihovom sadržaju. Sadržaj ukupnih antocijana u svakom od uzoraka je proporcionalan sadržaju ukupnih polifenolnih jedinjenja: što je viši sadržaj ukupnih polifenola viši je i sadržaj ukupnih antocijana. Svi uzorci iste sorte koji su fermentisali na 22 °C imaju statistički značajno viši sadržaj ukupnih antocijana u odnosu na uzorke koji su fermentisali na 15 °C.

Tabela 5.12. Sadržaj ukupnih polifenola, ukupnih monomernih antocijana i intenzitet boje u uzorcima vina*

Uzorak ^x	TPC ¹	TA ²	CI ³
KD1	5.65 ± 0.55 ^a	0.980±0.1 ^a	13.00±1.20 ^a
KD2	5.60± 0.52 ^a	0.974±0.09 ^a	12.48±1.18 ^a
KD3	5.25±0.41 ^b	0.966±0.08 ^a	12.66±0.76 ^a
KD4	5.44±0.66 ^{a,b}	0.977±0.09 ^a	11.54±1.16 ^b
KD5	4.60±0.34 ^c	0.913±0.10 ^{a,b}	11.58±0.58 ^b
KD6	4.85±0.45 ^d	0.904±0.08 ^b	11.72±0.88 ^b
KD7	4.88±0.13 ^d	0.900±0.10 ^b	12.06±0.97 ^b
KD8	4.90±0.67 ^d	0.898±0.09 ^b	11.64±0.98 ^b
ČB1	3.35±0.50 ^a	0.776±0.08 ^a	10.78±1.05 ^a
ČB2	3.18±0.44 ^a	0.762±0.06 ^a	10.48±0.72 ^a
ČB3	3.50±0.14 ^a	0.747±0.07 ^a	11.00±0.92 ^a
ČB4	3.48±0.39 ^a	0.750±0.08 ^a	10.50±1.03 ^a
ČB5	3.10±0.17 ^a	0.713±0.06 ^a	9.84±1.06 ^b
ČB6	3.27±0.34 ^a	0.715±0.08 ^a	9.06±0.86 ^b
ČB7	3.19±0.20 ^a	0.701±0.06 ^a	9.76±0.71 ^b
ČB8	3.24±0.22 ^a	0.694±0.06 ^a	9.48±0.66 ^b
KT1	2.55±0.24 ^a	0.477±0.07 ^a	8.58±0.77 ^a
KT2	2.74±0.29 ^a	0.480±0.08 ^a	8.60±1.03 ^a
KT3	2.85±0.34 ^a	0.470±0.06 ^a	8.28±0.68 ^a
KT4	2.85±0.19 ^a	0.466±0.02 ^a	9.06±0.72 ^b
KT5	2.64±0.18 ^a	0.410±0.05 ^b	8.04±0.59 ^a
KT6	2.70±0.19 ^a	0.407±0.07 ^b	8.00±0.77 ^a
KT7	3.10±0.31 ^b	0.401±0.08 ^b	8.80±0.84 ^b
KT8	3.24±0.31 ^b	0.415±0.06 ^b	8.04±0.66 ^a
MM1	2.45±0.20 ^a	0.387±0.05 ^a	7.50±0.78 ^a
MM2	2.33±0.19 ^a	0.394±0.04 ^a	7.24±0.82 ^a
MM3	2.78±0.21 ^a	0.380±0.03 ^a	7.52±0.53 ^a
MM4	2.47±0.25 ^a	0.400±0.08 ^a	7.40±0.89 ^a
MM5	2.03±0.21 ^b	0.355±0.04 ^a	6.20±0.49 ^b
MM6	1.95±0.17 ^b	0.350±0.04 ^a	6.54±0.54 ^b
MM7	2.18±0.14 ^a	0.344±0.06 ^a	6.84±0.61 ^b
MM8	1.85±0.15 ^b	0.346±0.05 ^a	6.86±0.59 ^b

Nastavak tabele 5.12.

MV1	2.70±0.13 ^a	0.466±0.07 ^a	9.36±0.92 ^a
MV2	2.77±0.23 ^a	0.454±0.04 ^a	9.34±0.49 ^a
MV3	3.30±0.21 ^b	0.447±0.04 ^a	9.28±0.44 ^a
MV4	2.79±0.18 ^a	0.398±0.05 ^b	8.76±0.40 ^b
MV5	2.85±0.13 ^a	0.390±0.05 ^b	8.00±0.47 ^b
MV6	2.95±0.19 ^a	0.389±0.06 ^b	8.30±0.48 ^b
MV7	2.83±0.24 ^a	0.398±0.05 ^b	8.68±0.54 ^b
MV8	3.04±0.26 ^a	0.385±0.07 ^b	8.10±0.61 ^b
KD9	5.50±0.44 ^a	0.955±0.09 ^a	12.73±0.75 ^a
KČ9	3.40±0.36 ^b	0.766±0.06 ^b	10.00±0.44 ^b
KT9	3.10±0.20 ^b	0.457±0.06 ^c	8.84±0.46 ^c
MM9	2.6±0.22 ^c	0.366±0.06 ^d	6.88±0.56 ^d
MV9	3.20±0.30 ^b	0.413±0.06 ^e	8.00±0.64 ^e
KD10	3.85±0.31 ^a	0.664±0.05 ^a	8.38±0.55 ^a
KČ10	1.85±0.18 ^b	0.443±0.06 ^b	6.99±0.53 ^b
KT10	1.86±0.17 ^b	0.286±0.04 ^c	5.03±0.44 ^c
MM10	1.30±0.11 ^c	0.218±0.04 ^d	5.75±0.47 ^d
MV10	2.20±0.16 ^d	0.277±0.03 ^c	6.44±0.33 ^e
K1	2.12±0.19 ^a	0.239±0.05 ^a	5.57±0.39 ^a
K2	0.98±0.11 ^b	0.096±0.02 ^b	2.51±0.28 ^b

* rezultati su izraženi kao srednja vrednost tri ponavljanja±sd

sd – standardna devijacija

¹sadržaj ukupnih polifenola (g/L GAE)

²sadržaj ukupnih monomernih antocijana (mg cijanidin-3-glukozid ekvivalenta po litri vina, mg CGE/L)

³intenzitet boje (AU)

^{a-e}vrednosti sa različitim eksponentom u istoj koloni su statistički značajno različite (p<0.05)

^x za objašnjenje sifri uzoraka pogledati tabelu 4.2.

U uzorcima KD9, KČ9, KT9, MM9 i MV9, sadržaj ukupnih monomernih antocijana je bio statistički značajno niži u odnosu na sadržaj u uzorcima KD4, KČ4, KT4, MM4 i MV4. Imajući u vidu da su ovi uzorci fermentisali pod istim uslovima sa tom razlikom što je maceracija/fermentacija u uzorcima KD9, KČ9, KT9, MM9 i MV9 trajala 360 h, nameće se zaključak da sadržaj ukupnih antocijana u toku duge maceracije opada. Sadržaj ukupnih antocijana u uzorcima KD10, KČ10, KT10, MM10 i MV10, koji su fermentisali

kao voćni sok je bio 1.5 - 2 puta niži u odnosu na sadržaj u uzorcima KD9, KČ9, KT9, MM9 i MV9.

Kod uzorka K1, sadržaj ukupnih antocijana je bio u opsegu vrednosti izmerenih za uzorak KT10, dok je sadržaj ukupnih antocijana u uzorku K2 bio daleko ispod najniže izmerene vrednosti za bilo koji uzorak.

Sadržaj antocijana i njihov međusobni odnos u plodovima bobičastog voća varira u zavisnosti od vrste i kultivara. U plodovima maline, oko 90 % sadržaja ukupnih antocijana čine cijanidin-3-glukozid i cijanidin-3-sofrozid, dok u plodovima kupine cijanidin-3-glukozid i cijanidin-3-rutinozid čine više od 95 % ukupno prisutnih antocijana (Mullen et al., 2002; Tian et al., 2006). Sadržaj ukupnih antocijana u plodovima maline je od 650 – 720 mg/kg svežih plodova dok je sadržaj ukupnih antocijana u plodovima kupine nešto viši, od 1140 – 2415.4 mg/kg svežih plodova, u zavisnosti od kultivara (Liu et al., 2002; Maatta-Riihinen et al., 2004). Castillo-Sanchez et al. (2006) su ispitali uticaj kultivara i uslova vinifikacije na sadržaj ukupnih antocijana u uzorcima crvenog vina. Sadržaj ukupnih monomernih antocijana detektovan je u količini od 111 - 827 mg/L vina. Lee et al. (2005) su objavili rezultate analize sadržaja ukupnih monomernih antocijana u voćnim sokovima i vinima i crvenim vinima. Opseg vrednosti je bio od 201.6 mg CGE/L za crveno vino do 336.7 mg CGE/L za voćno vino od maline.

Intenzitet boje kod svih uzoraka je bio u korelaciji sa sadržajem ukupnih antocijana. U uzorcima gde je detektovan viši sadržaj ukupnih antocijana, intenzitet boje je bio viši. U uzorcima vina od divlje kupine, vrednosti za intenzitet boje su bile od 11.64 – 13.00 AU (apsorbacionih jedinica) sa statistički značajnom razlikom u intenzitetu boje između uzoraka koji su fermentisali na 22°C i 15°C. Statistički značajne razlike u intenzitetu boje su postojale i kod KČ, KT, MM i MV uzoraka koji su fermentisali na različitim temperaturama. Intenzitet boje u uzorku K1 je bio 5.57 AU, što je u okviru nivoa vrednosti za KT uzorke. Intenzitet boje u K2 uzorku je iznosio 2.51 AU, što je dva puta niža vrednost u odnosu na najniže izmerenu vrednost u KT10 uzorku.

Vrednosti za intenzitet boje crvenih vina koje se mogu naći u literaturu, variraju u širokom opsegu, u zavisnosti od tipa vina i primenjenije metode merenja. Castillo-Sanchez et al. (2006) su objavili rezultate analize intenziteta boje u 15 uzoraka crvenog vina.

Vrednosti su bile u opsegu od 11.30 AU u vinima koja su odležala 26 meseci u boci do 28.10 AU u mladim vinima. Stratil et al. (2008) su vršili analizu intenziteta boje u 29 uzoraka crvenog vina i vrednosti su bile od 1.06 - 8.28 AU, u zavisnosti od sorte grožđa od koje je vino proizvedeno. Vrednosti za intenzitet boje u voćnim sokovima, voćnom vinu i vinu od grožđa, se poklapaju sa opsegom vrednosti intenziteta boje koji su izneti u ovom radu.

5.6. Senzorna analiza voćnih vina

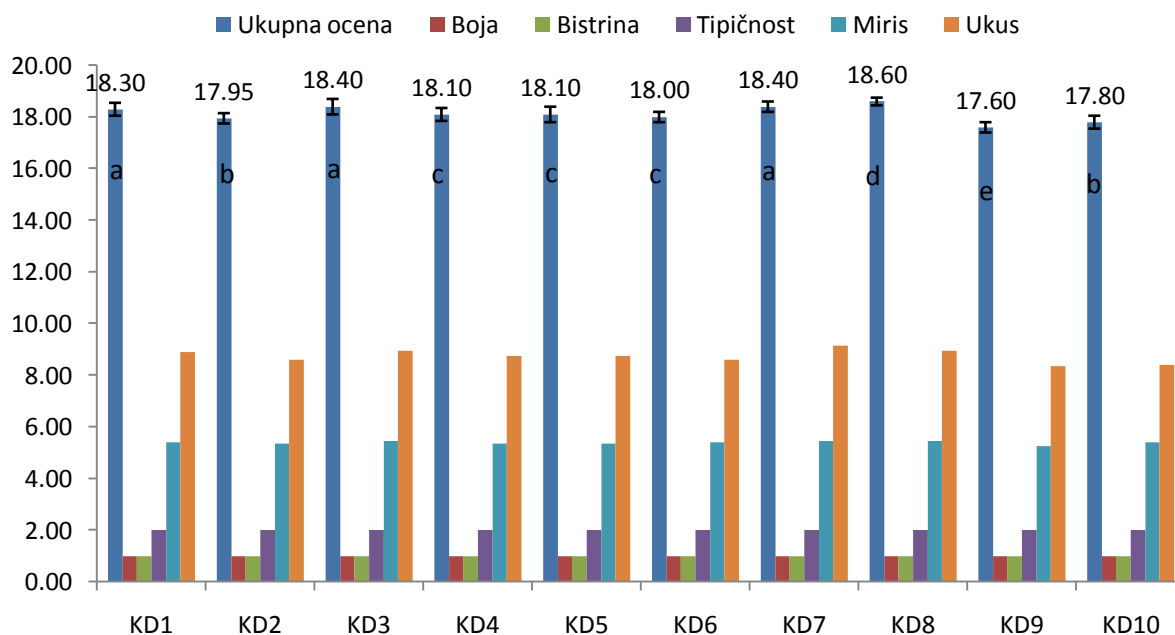
Senzorna analiza uzoraka voćnih vina je izvršena od strane profesionalnog ocenjivačkog panela modifikovanom Buxbaum metodom pozitivnog rangiranja sa skalom do najviše 20 bodova. Ocenjivani su boja, bistrina, tipičnost, miris i ukus (Nikićević i Tešević, 2008). Bistrina predstavlja sveukupnu vizuelnu dopadljivost pića. Boja se definiše kao kombinacija vizuelno shvaćene informacije sadržane u svetlosti koju odašilje ili rasipa uzorak. Tipičnost je parametar koji definiše svojstva određenog pića koje se ocenjuje. Prema ovom kriterijumu, piće može biti nesvojstveno (atipično) i svojstveno (tipično) sirovini od koje je piće proizvedeno. Miris se definiše kao olfaktorni utisak pri udisanju i/ili izdisanju vazduha preko nosa. Ukus predstavlja najvažnije svojstvo nekog proizvoda i nastaje stimulacijom gustatornih receptora komponentama proizvoda koji se ocenjuje (Radovanović i Popov-Raljić, 2001).

U tabeli 5.13. su dati uslovi fermentacije i oznake koje su korištene za svaki uzorak pojedinačno. Na slici 5.46. su predstavljeni rezultati senzornog ocenjivanja uzoraka voćnih vina od divlje kupine a dalje u tekstu je dat detaljni opis svakog od uzoraka od strane ocenjivačkog panela.

Tabela 5.13. Uslovi fermentacije i oznake uzoraka

Oznaka uzorka*	Uslovi fermentacije		
	Temperatura fermentacije (°C)	Sulfitisnje kljuka	Selekcionisani kvasci
KD1/KČ1/KT1/MM1/MV1	22	Ne	Ne
KD2/KČ2/KT2/MM2/MV2	22	Ne	Da
KD3/KČ3/KT3/MM3/MV3	22	Da	Ne
KD4/KČ4/KT4/MM4/MV4	22	Da	Da
KD5/KČ5/KT5/MM5/MV5	15	Ne	Ne
KD6/KČ5/KT5/MM5/MV5	15	Ne	Da
KD7/KČ7/KT7/MM7/MV7	15	Da	Ne
KD8/KČ8/KT8/MM8/MV8	15	Da	Da
KD9/KČ9/KT9/MM9/MV9	22	Da	Da
KD10/KČ10/KT10/MM10/MV10	22	Da	Da

*KD – divlja kupina; KČ – sorta kupine Čačanska bestrna; KT – sorta kupine Tornfri; MM – sorta maline Miker; MV – sorta maline Vilamet



Slika 5.46. Senzorna ocena uzoraka vina od divlje kupine^x

^x za objašnjenje sifri uzoraka pogledati tabelu 5.13.

^{a-e} ukupne ocene označene različitim slovima se statistički značajno razlikuju ($p < 0.05$)

Uzorak KD1

Boja i bistrina: Intenzivne rubin crvene boje sa nijansom zagasite višnja boje, kristalno bistro.

Miris: Tipičan za vino od kupine, umerenog intenziteta, kompleksan, čist.

Ukus: Pun, harmoničan, sa blagom oporošću, aperitivnog profila, prijatnog voćnog karaktera, veoma dugog naknadnog dela ukusa. **Ocena: 18,30**

Uzorak KD2

Boja i bistrina: Intenzivne rubin crvene boje sa nijansom zagasite višnja boje, kristalno bistro.

Miris: Tipičan miris kupine, umerenog intenziteta, čist, sa diskretnim zeljastim mirisnim tonom.

Ukus: Srednje pun, umereno harmoničan, sa naglašenijom astrigencijom, voćnog karaktera, srednje duge perzistencije. **Ocena: 17,95**

Uzorak KD3

Boja i bistrina: Intenzivne rubin crvene boje sa nijansom zagasite višnja boje, kristalno bistro.

Miris: Tipičan sortni, umerenog intenziteta, kompleksan, veoma čist, sa dozom svežine.

Ukus: Umerene punoće, veoma pitko, dobro zaokruženo, vrlo prijatno, duge perzistencije. **Ocena: 18,40**

Uzorak KD4

Boja i bistrina: Intenzivne rubin crvene boje sa nijansom zagasite višnja boje, kristalno bistro.

Miris: Umerenog intenziteta, čist, bez stranih mirisa, sa diskretnim zeljastim mirisnim tonovima.

Ukus: Umerene punoće, pitko, zaokruženo, srednje duge perzistencije. **Ocena: 18,10**

Uzorak KD5

Boja i bistrina: Intenzivne rubin crvene boje sa nijansom zagasite višnja boje, kristalno bistro.

Miris: Tipičan miris kupine, umerenog intenziteta, čist, dopadljiv.

Ukus: Umerene punoće, veoma pitko, harmonično, dobro zaokruženo, aperitivnog karaktera, duge perzistencije. **Ocena: 18,10**

Uzorak KD6

Boja i bistrina: Veoma intenzivne rubin crvene boje sa nijansom zagasite višnja boje, kristalno bistro.

Miris: Umerenog intenziteta, čist, bez stranih mirisa, sa diskretnim zeljastim mirisnim tonovima, umereno kompleksan.

Ukus: Umerene punoće, veoma pitko, dobro zaokruženo, prijatno, srednje duge perzistencije. **Ocena: 18,00**

Uzorak KD7

Boja i bistrina: Veoma intenzivne rubin crvene boje sa nijansom zagasite višnja boje, kristalno bistro.

Miris: Umereno prigušen, somotastog profila, dopadljiv, zagonetan, kompleksan.

Ukus: Pun, harmoničan, sa dobro ukopljenim kiselinama, dižestivnog karaktera, veoma duge i prijatne perzistencije. **Ocena: 18,40**

Uzorak KD8

Boja i bistrina: Veoma intenzivne rubin crvene boje sa nijansom zagasite višnja boje, kristalno bistro.

Miris: Umerenog intenziteta, dopadljiv, čist, umereno kompleksan.

Ukus: Pun, harmoničan, umereno kompleksan, sa dobro izbalansiranim kiselinama i ekstraktom, duge i prijatne perzistencije. **Ocena: 18,60**

Uzorak KD9

Boja i bistrina: Intenzivne rubin crvene boje sa nijansom zagasite višnja boje, kristalno bistro.

Miris: Umerenog intenziteta, sa vrlo blagom tonom izvetrelosti, sa diskretnim zeljastim mirisnim tonovima.

Ukus: Umerene punoće, pitko, zaokruženo, duge perzistencije. **Ocena: 17,60**

Uzorak KD10

Boja i bistrina: Crvene boje slabijeg intenziteta, kristalno bistro.

Miris: Tipičan za vino od kupine, umerenog intenziteta, kompleksan, čist.

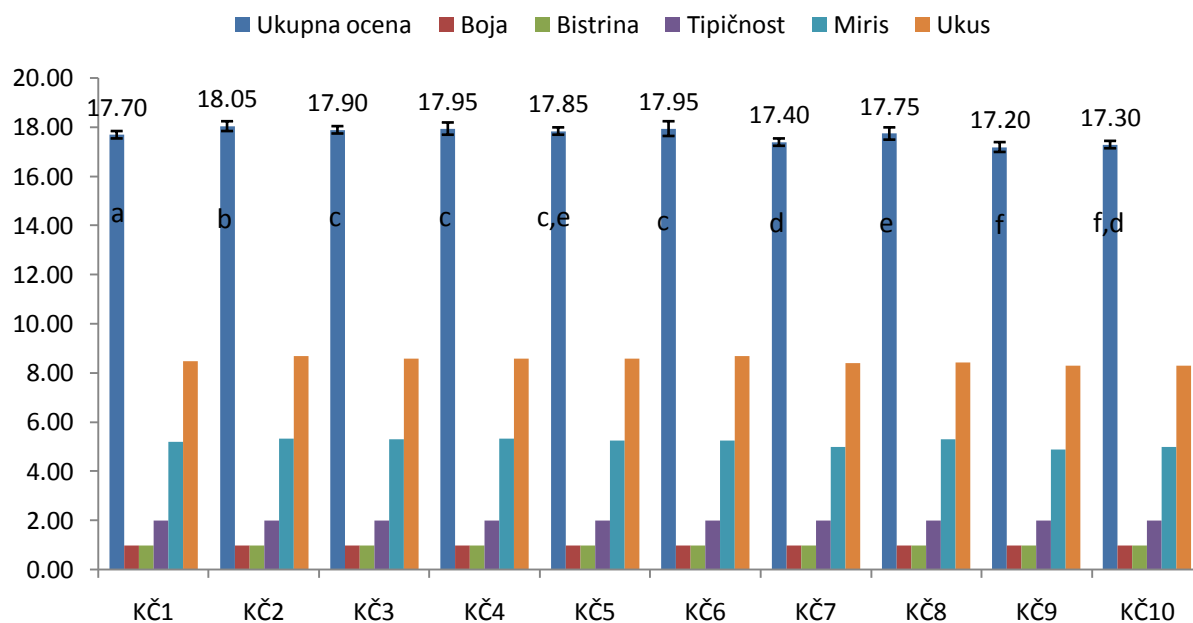
Ukus: Pun, harmoničan, aperitivnog profila, prijatnog voćnog karaktera, kratke zavrčnice.

Ocena: 17,80

Na osnovu rezultata senzorne analize i opisa datih od strane ocenjivačkog panela, može se zaključiti da je uzorak KD8 u odnosu na sve ostale uzorke, najbolje ocenjen sa ukupnom ocenom 18.60. Postoji statistička značajna razlika u senzornim svojstvima između KD8 uzorka i svih ostalih KD uzoraka. KD8 je uzorak koji je fermentisao sa selekcionisanim kvascima uz dodatak SO₂ na 15°C. Ako se uzmu u obzir rezultati fizičko-hemijske i instrumentalne analize, bilo je očekivano da će neki od uzoraka KD1-KD4 biti najbolje ocenjen. Sa druge strane, bitna je činjenica da je ovaj uzorak fermentisao na 15°C pa je intenzitet alkoholne fermentacije bio slabiji što je uticalo na očuvanje primarnih mirisnih materija. Ove činjenice potvrđuju da ne postoji striktna veza između osnovnih parametara kvaliteta i rezultata senzorne analize, i da senzorna ocena daje konačni sud o kvalitetu pića. Slične tvrdnje se mogu naći u radovima čiji je predmet istraživanja bio analiza veze između parametara fizičko-hemijske i senzorne analize vina (Preys et al., 2006; Chira et al., 2011). Uzorci vina od divlje kupine su generalno najbolje ocenjeni uzorci, među svim ocenjivanim uzorcima. Ova činjenica je potvrda superiornosti divlje kupine kao sirovine za proizvodnju voćnih vina, jer pored dobrih senzornih svojstava, ovi uzorci obiluju u sadržaju polifenolnih jedinjenja i minerala i imaju prirodno dobar balans kiselina i drugih komponenti ekstrakta, pa nema zahteva za optimizacijom sadržaja šećera i kiselina.

Na slici 5.47. su dati rezultati senzorne analize, a u nastavku teksta detaljan opis uzoraka od Čačanske bestrne kupine. Uzorci vina od Čačanske bestrne kupine su slabije ocenjeni u odnosu na KD uzorke. Vrednosti senzorne ocene su bile u proseku niže za 0.5 bodova u odnosu na ocene za KD uzorke. Uzorak KČ2 je najbolje ocenjen uzorak sa ocenom 18.05 i senzorna svojstva ovog uzorka se statistički značajno razlikuju u odnosu na senzorna svojstva svih ostalih KČ uzoraka. Ovaj uzorak je fermentisao sa selekcionisanim kvascima bez dodatka SO₂ na 22°C. Sa aspekta vrednosti rezultata fizičko-hemijske analize i sadržaja ukupnih polifenola, uzorak KČ2 je pokazao superiornost u odnosu na ostale uzorke. Uzorci KČ5-KČ8 su slabije ocenjeni u odnosu na

uzorke KČ1-KČ5 što je u suprotnosti sa KD uzorcima. Uzorci KČ9 i KČ10 su dobili najniže ocene, i ako se uzme u obzir činjenica da je fermentacija/maceracija kod ovih uzoraka trajala 360 h, što je rezultiralo višim sadržajem isparljivih kiselina i pojačanom oksidacijom, razumljivo je da su ovi uzorci lošije ocenjeni.



Slika 5.47. Senzorna ocena uzoraka vina od kupine sorte Čačanske bestrne^x

^x za objašnjenje sifri uzoraka pogledati tabelu 5.13.

^{a-f} ukupne ocene označene različitim slovima se statistički značajno razlikuju ($p < 0.05$)

Uzorak KČ1

Boja i bistrina: Svetlo crvena sa nijansama karmin crvene boje, dobre bistrine.

Miris: Srednje intenzivan sa jasnim mirisom kupine.

Ukus: Srednje pun, harmoničan sa dozom slasti i jasno izraženim kiselinama, srednje duge perzistencije. Nakon gutanja zaostaje blaga kiselost.

Ocena: 17,70

Uzorak KČ2

Boja i bistrina: Intenzivne rubin crvene boje sa nijansom boje cvekle u pozadini, dobre bistrine.

Miris: Kompleksan i intenzivan miris na kupinu, somotastog profila.

Ukus: Harmoničan, pun, sa skladnim kiselinama, dobro izbalansirano, sa dugom završnicom.

Ocena: 18,05

Uzorak KČ3

Boja i bistrina: Intenzivne rubin crvene boje sa nijansama boje cvekle, dobre bistrine.

Miris: Smiren, umerenog intenziteta na kupinu, kompleksan. Oseća se prisustvo SO₂.

Ukus: Srednje punoće, sa izraženim kiselinama, aperitivnog profila. Umereno duge završnice, bez previše kompleksnosti.

Ocena: 17,90

Uzorak KČ4

Boja i bistrina: Intenzivne rubin crvene boje sa nijansama purpurne, dobre bistrine.

Miris: Intenzivan, umereno kompleksan sa izraženom svežinom.

Ukus: Srednje pun do pun, sa dobro uklopljenim kiselinama u teksturu, umereno duge perzistencije, aperitivnog karaktera.

Ocena: 17,95

Uzorak KČ5

Boja i bistrina: Zagasite rubin crvene boje sa nijansama karmin crvene, dobre bistrine.

Miris: Izraženog intenziteta na kupinu sa primesama sirćetne kiseline.

Ukus: Dobro izbalansirane kiseline i ekstrakt, umerene punoće, prijatno, sa dozom astringencije, umereno duge perzistencije.

Ocena: 17,85

Uzorak KČ6

Boja i bistrina: Rubin crvene boje sa nijansama karmin crvene, kristalno bistro.

Miris: Intenzivan miris kupine, malo prigušen sa blago izraženim zeljastim tonovima.

Ukus: Izražena punoća ukusa, dobro izbalansirano, sa umerenom kiselošću, razučeno i slojevito sa veoma dugom perzistencijom.

Ocena: 17,95

Uzorak KČ7

Boja i bistrina: Intenzivne rubin crvene sa nijansama karmin crvene boje, kristalno bistro.

Miris: Intenzivan miris kupine sa jasno izraženim prisustvom isparljivih fenola.

Ukus: Umerene punoće, harmonično, sa pikantnim kiselinama, srednje duge perzistencije.

Ocena: 17,40

Uzorak KČ8

Bistrina: Intenzivne rubin crvene sa nijansama karmin crvene boje, kristalno bistro.

Miris: Srednje intenzivan miris na kupinu, kompleksan, umereno svež.

Ukus: Harmoničan, srednje pun ukus sa pikantnim kiselinama i blagom astrigencijom, srednje duge perzistencije. **Ocena: 17,70**

Uzorak KČ9

Boja i bistrina: Zagasite rubin crvene boje sa nijansama karmin crvene, dobre bistrine.

Miris: Srednje izraženog intenziteta na kupinu sa primesama sirćetne kiseline.

Ukus: Dobro izbalansirane kiseline i ekstrakt, umerene punoće, prijatno, sa dozom astrigencije, srednje duge perzistencije. **Ocena: 17,20**

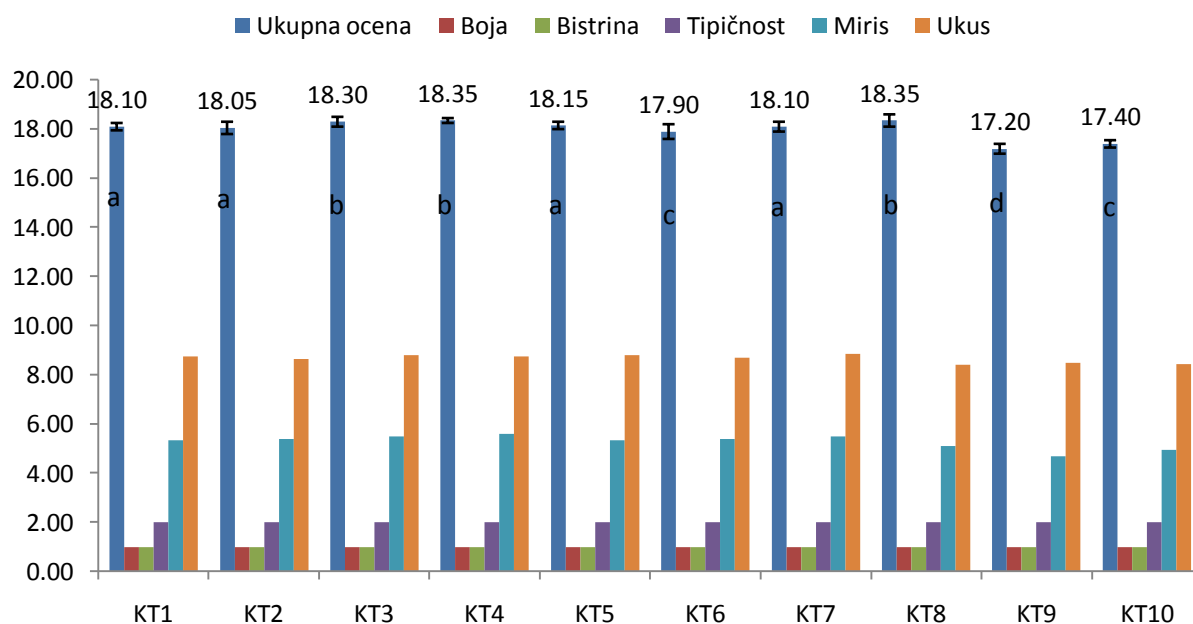
Uzorak KČ10

Boja i bistrina: Rubin crvene sa nijansama karmin crvene boje, kristalno bistro.

Miris: Srednje intenzivan miris kupine sa izraženim prisustvom isparljivih fenola.

Ukus: Umerene punoće, harmonično, srednje duge perzistencije. **Ocena: 17,30**

Na slici 5.48. su date senzorne ocene uzoraka vina od sorte kupine Tornfri, a dalje u tekstu je dat detaljan opis svakog uzorka.



Slika 5.48. Senzorna ocena uzoraka vina od sorte kupine Tornfri^x

^x za objašnjenje sifri uzoraka pogledati tabelu 5.13.

^{a-d} ocene označene različitim slovima se statistički značajno razlikuju ($p < 0.05$)

Uzorak KT1

Boja i bistrina: Intenzivne rubin crvene boje, kristalno bistro.

Miris: Srednje intenzivan, sortni, diskretno prigušen, bez stranih mirisa.

Ukus: Veoma pun, dopadljiv, sa blagim kiselinama, dobre teksture, aperitivnog karaktera, veoma duge perzistencije.

Ocena: 18,10

Uzorak KT2

Boja i bistrina: Intenzivne rubin crvene boje, kristalno bistro.

Miris: Srednje intenzivan sortni miris, sa diskretnim zeljastim tonom, dopadljiv.

Ukus: Pun, harmoničan, sa dobrim odnosom kiselina i ekstrakta, dižestivnog karaktera, sa vegetativnim ukusnim impresijama u retronazalnom delu ukusa.

Ocena: 18,05

Uzorak KT3

Boja i bistrina: Intenzivne rubin crvene sa nijansama zagasite cvekla boje, kristalno bistro.

Miris: Kompleksan, dopadljiv, veoma intenzivan sortni miris.

Ukus: Pun, harmoničan, sa skladnim odnosom kiselina i ekstrakta, sa dugim i smirenim naknadnim ukusom.

Ocena: 18,30

Uzorak KT4

Boja i bistrina: Intenzivne rubin crvene boje, kristalno bistro.

Miris: Srednje intenzivan, nežan, sortni, diskretno prigušen, bez stranih mirisa.

Ukus: Srednje pun, harmoničan, dobro izbalansiran, srednje duge perzistencije.

Ocena: 18,35

Uzorak KT5

Boja i bistrina: Intenzivne rubin crvene boje, kristalno bistro.

Miris: Srednje intenzivan sortni miris, sa diskretnim zeljastim tonom, dopadljiv.

Ukus: Pun, harmoničan, sa dobrim odnosom kiselina i ekstrakta, dižestivnog karaktera, sa vegetativnim ukusnim impresijama, srednje duge perzistencije.

Ocena: 18,15

Uzorak KT6

Boja i bistrina: Intenzivne rubin crvene boje, kristalno bistro.

Miris: Intenzivan, jasan, sortni miris, veoma čist i precizan, bez primesa.

Ukus: Harmoničan, srednje pun, dobre teksture, aperitivnog karaktera, duge perzistencije.

Ocena: 17,90

Uzorak KT7

Boja i bistrina: Intenzivne rubin crvene boje, kristalno bistro.

Miris: Kompleksan, dopadljiv, intenzivan sortni.

Ukus: Harmoničan, umerene punoće, sa dobrim balansom, prijatan, sa kratkim naknadnim ukusom.

Ocena: 18,10

Uzorak KT8

Boja i bistrina: Intenzivne rubin crvene boje, kristalno bistro.

Miris: Umerenog intenziteta, sortni, čist, veoma dopadljiv.

Ukus: Srednej pun do pun, umereno harmoničan sa prisustvom astrigencije, sa kratkim naknadnim ukusom.

Ocena: 18,35

Uzorak KT9

Boja i bistrina: Intenzivne rubin crvene boje, kristalno bistro.

Miris: Umerenog intenziteta sa primesama zelenčivosti, umereno dopadljiv.

Ukus: Srednej pun, sa primesama zelenčivosti, umereno harmoničan sa prisustvom astrigencije, kratke perzistencije.

Ocena: 17,20

Uzorak KT10

Boja i bistrina: Rubin crvene boje, kristalno bistro.

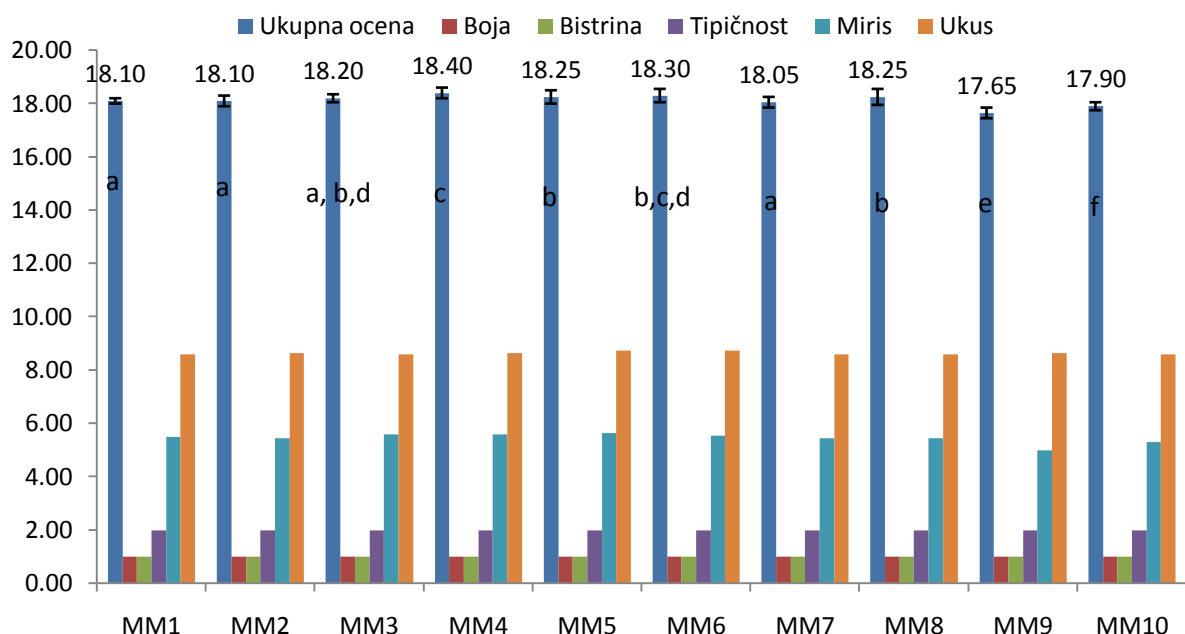
Miris: Srednje intenzivan sortni miris, sa diskretnim zeljastim tonom, umereno dopadljiv.

Ukus: Harmoničan, umerene punoće sa dobrim odnosom kiselina i ekstrakta, dižestivnog karaktera, sa vegetativnim ukusnim impresijama, duge perzistencije.

Ocena: 17,40

U uzorcima vina od kupine sorte Tornfri, uzorci KT4 i KT8 su podjednako dobro ocenjeni, ocenom 18.35 (Slika 5.48.). Iako svi KT uzorci imaju značajno niži sadržaj ukupnih polifenola i niže vrednosti parametara fizičko hemijske analize, generalno su veoma dobro ocenjeni sa ocenama koje su jako blizu vrednosti ocena za KD uzorke. Uzorci KD9 i KD10 su ocenjeni niskim ocenama.

Na slici 5.49. su date senzorne ocene uzoraka vina od sorte maline Miker, a dalje u tekstu je dat detaljan opis svakog uzorka.



Slika 5.49. Senzorna ocena uzoraka vina od Miker maline^x

^x za objašnjenje sifri uzoraka pogledati tabelu 5.13.

^{a-f} ocene označene različitim slovima se statistički značajno razlikuju ($p < 0.05$)

Uzorak MM1

Boja i bistrina: Bistro i dopadljive rubin crvene boje sa nijansom boje cvekle.

Miris: Čist, tipičan za sortu Miker, somotast, intenzivan, dopadljiv.

Ukus: Srednje puno do puno, kiseline se diskretno izdvajaju iz teksture, aperitivno deluje, jasne cvetne ukusne impresije, harmonično. Duga cvetna impresija, raskošno, svežina dugih perzistencija.

Ocena: 18,10

Uzorak MM2

Boja i bistrina: Bistro, tamne rubin crvene boje sa zagastimim nijansama boje cvekle u pozadini.

Miris: Tipičan, skladan, somotast profil, sa prigušenim i stidljivim mirisnim tonovima maline.

Ukus: Manji intenzitet cvetnih tonova, sa diskretnom punoćom i dominacijom kiselina u olfaktornoj regiji, dug naknadni ukus.

Ocena: 18,10

Uzorak MM3

Boja i bistrina: Tipična boja maline sa dobrom bistrinom.

Miris: Tipičan, dopadljiv, somotast, srednje intenzivan miris maline. Pored mirisa maline, prisutni vegetativni mirisni tonovi.

Ukus: Pun ukus sa dobro uklopljenim kiselinama u teksturu vina. Dobra perzistencija sa diskretnom notom slasti. **Ocena: 18,20**

Uzorak MM4

Boja i bistrina: Boja i intenzitet boje tipični za vino od maline, dobra bistrina.

Miris: Tipičan, srednje-intenzivan sortni miris, somotast, dopadljiv.

Ukus: Harmoničan, pun, sa naglasenijim ali uklopljenim kiselinama, pitko, kompleksno sa dugom perzistencijom. **Ocena: 18,40**

Uzorak MM5

Boja i bistrina: Dopadljive rubin crvene boje, blago opalasceno.

Miris: Intenzivan i čist, dopadljiv, razudjen.

Ukus: Harmoničan, pun, sa pikantnim kiselinama koje su dobro uklopljene u teksturu, sa aperitivnim karakterom. Duga prijatna perzistencija i duga zavrčnica. **Ocena: 18,25**

Uzorak MM6

Boja i bistrina: Intenzivna crvena boja sa dobrim stepenom bistrine

Miris: Slabijeg intenziteta sa primesama vegetativnih mirisnih tonova.

Ukus: Izražena punoća ukusa sa manje naglašenim kiselinama, veoma pitko sa aperitivnim karakterom. **Ocena: 18,30**

Uzorak MM7

Boja i bistrina: Intenzivna crvena boja sa dobrom bistrinom.

Miris: Pored tipičnog sortnog mirisa prisutni i strani mirisi. Jasno prisustvo mlečnih tonova i zeljast miris.

Ukus: Umerena punoća ukusa, duge perzistencije sa prisustvom nečistoća. **Ocena: 18,05**

Uzorak MM8

Boja i bistrina: Intenzivna crvena boja sa dobrom bistrinom.

Miris: Intenzivan sortni, čist miris.

Ukus: Sa umerenom punoćom, dopadljiv, jasan ukus maline, duge perzistencije.

Ocena: 18,25

Uzorak MM9

Boja i bistrina: Intenzivna crvena boja sa dobrom bistrinom.

Miris: Pored sortnog mirisa prisutni i strani mirisi.

Ukus: Umerena punoća ukusa, sa dugom perzistencijom.

Ocena: 17,65

Uzorak MM10

Boja i bistrina: Intenzivna crvena boja sa dobrim stepenom bistrine.

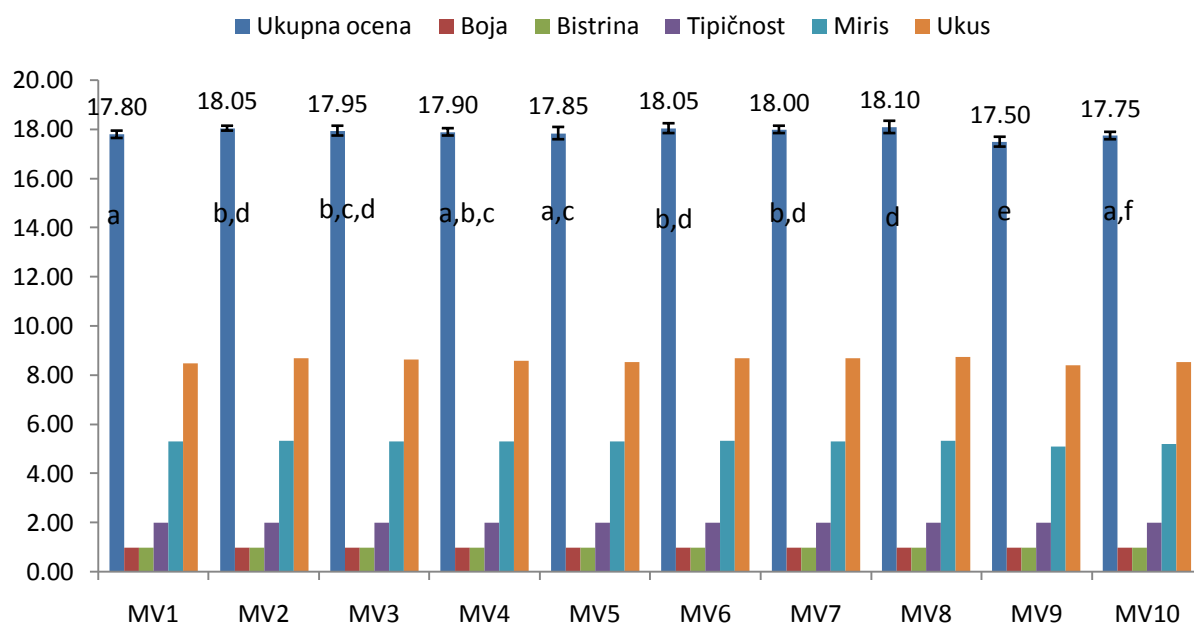
Miris: Slabijeg intenziteta sa primesama sirćetnih mirisnih tonova.

Ukus: Umerena punoća ukusa sa manje naglašenim kiselinama, pitko sa aperitivnim karakterom.

Ocena: 17,90

Najbolje ocenjeni uzorci vina od sorte maline Miker su MM4 i MM6 sa ocenama 18.40 i 18.13 (Slika 5.49.). U MM uzorcima vina, izmerene su najniže vrednosti parametara fizičko-hemijske analize i sadržaja ukupnih polifenola, ali je balans između kiselina i ekstrakta bio na optimalnom nivou, što pozitivno utiče na senzorna svojstva.

Na slici 5.50. su date senzorne ocene uzoraka vina od sorte maline Vilamet, a dalje u tekstu je dat detaljan opis svakog uzorka.



Slika 5.50. Senzorna ocena uzoraka vina od Vilamet maline^x

^x za objašnjenje sifri uzoraka pogledati tabelu 5.13.

^{a-f} ocene označene različitim slovima se statistički značajno razlikuju ($p < 0.05$)

Uzorak MV1

Boja i bistrina: Intenzivna crvena boja sa nijansom boje zrele cvekle, opalascentan.

Miris: Srednje intenzivan, tipičan sortni, dopadljiv.

Ukus: Srednje harmoničan, umerene punoće, sa naglašenim kiselinama koje se izdvajaju iz teksture, sa blagom astringencijom.

Ocena: 17,80

Uzorak MV2

Boja i bistrina: Intenzivna crvena boja, kristalna bistrina.

Miris: Svež, intenzivan sortni, dopadljiv sa zeljastim tonovima.

Ukus: Pun, harmoničan, sa lepo inkorporiranim kiselinama, aperitivnog karaktera, duge perzistencije.

Ocena: 18,05

Uzorak MV3

Boja i bistrina: Intenzivna crvena boja, kristalno bistro.

Miris: Umereno intenzivan, umereno dopadljiv, pomalo zatvoren.

Ukus: Umereno pun, sa pikantnom kiselošću, svež, srednje duge perzistencije.

Ocena: 17,95

Uzorak MV4

Boja i bistrina: Intenzivna rubin crvena boja, veoma bistro.

Miris: Zatvoren, srednje intenzivan sa diskretnim sortnim tonom, umereno dopadljiv, prisutna sumporna jedinjenja.

Ukus: Harmoničan, umerene punoće, sa maskiranim kiselinama, duge perzistencije.

Ocena: 17,90

Uzorak MV5

Boja i bistrina: Intenzivno crvene boje, sa nijansama purpurno crvene, veoma bistro.

Miris: Srednje intenzivan, prigušen, umereno dopadljiv, sa primesama "nečistoće".

Ukus: Srednje pun sa umerenim kiselinama, prisustvo mlečnih tonova, srednje duge perzistencije.

Ocena: 17,85

Uzorak MV6

Boja i bistrina: Intenzivno crvene boje, bistro.

Miris: Umereno izražen sortni miris, umereno dopadljiv, prigušen sa prisustvom zeljastih tonova.

Ukus: Pun, srednje harmoničan, sa dugim naknadnim ukusom, aperitivnog profila.

Ocena: 18,05

Uzorak MV7

Boja i bistrina: Crveno purpurna boja dobrog stepena bistrine.

Miris: Srednje intenzivan, prigušen sa prisutnim "nečistoćama".

Ukus: Harmoničan, srednje umeren, sa blagom kiselošću i blagom astringencijom unaknadnom delu ukusa.

Ocena: 18,00

Uzorak MV8

Boja i bistrina: Intenzivno crvena boja, dobre bistrine.

Miris: Srednje intenzivan, harmoničan, sa dozom svežine.

Ukus: Pun, harmoničan, skladan, sa doziranom kiselošću, duge perzistencije.

Ocena: 18,10

Uzorak MV9

Boja i bistrina: Crvena boja dobrog stepena bistrine.

Miris: Srednje intenzivan, prigušen, sa prisutnim primesama nečistoće.

Ukus: Harmoničan, srednje umeren, sa blagom kiselošću i blagom astringencijom.

Ocena: 17,50

Uzorak MV10

Boja i bistrina: Intenzivna rubin crvena boja, veoma bistro.

Miris: Zatvoren, srednje intenzivan sa diskretnim sortnim tonom, prisutna sumporna jedinjenja.

Ukus: Srednje harmoničan, umerene punoće, srednje duge perzistencije.

Ocena: 17,75

Uzorak MV8 je najbolje ocenjen sa ocenom 18.10. Uzorci MV su u proseku slabije ocenjeni u odnosu na uzorke MM. Uzorci MV9 i MV10, kao što je slučaj i kod uzoraka KD9, KD10, KČ9, KČ10, KT9, KT10, MM9 i MM10 su slabije ocenjeni.

Uzorci vina K1 i K2 su podvrgnuti senzornoj analizi pod istim uslovima kao i prethodni uzorci. Senzorne ocene ovih uzoraka su bliske ocenama za KD, KČ, KT, MM i MV uzorke (Slika 5.51.). Iako su parametri fizičko-hemijske analize na minimalnim vrednostima, senzorna svojstva ovih uzoraka su na zadovoljavajućem nivou.

Uzorak K1

Boja i bistrina: Intenzivne rubin crvene boje, kristalno bistro.

Miris: Srednje intenzivan, nežan, diskretno prigušen, bez stranih mirisa.

Ukus: Srednje pun, harmoničan, dobro izbalansiran, srednje duge perzistencije.

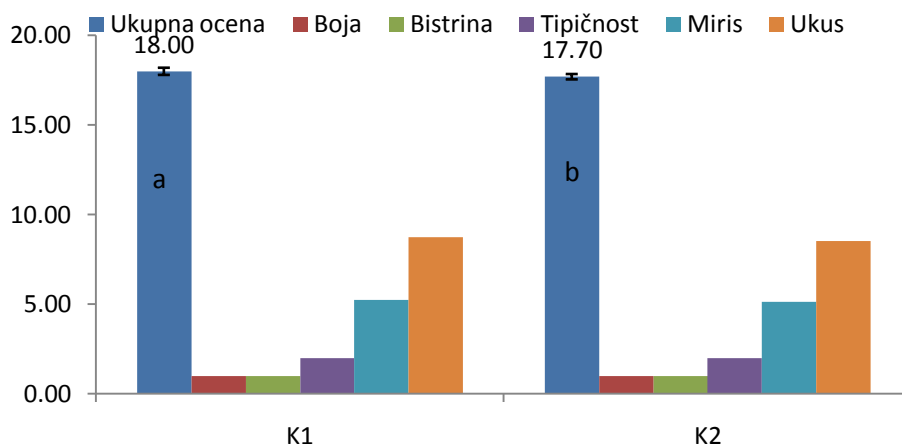
Ocena: 18,00

Uzorak K2

Boja i bistrina: Blede rubin crvene boje, kristalno bistro.

Miris: Srednje intenzivan, veoma diskretan, blago prigušen, bez stranih mirisa.

Ukus: Laganog tela, harmoničan, dobrog balansa, kratke perzistencije. **Ocena: 17,70**



Slika 5.51. Senzorna ocena uzoraka komercijalnih vina

^x za objašnjenje sifri uzoraka pogledati tabelu 4.2.

^{a-b} ocene označene različitim slovima se statistički značajno razlikuju ($p < 0.05$)

U tabeli 5.14. su date vrednosti ukupne senzorne ocene sa pripadajućom medaljom za svaki od uzoraka vina.

Tabela 5.14. Ukupna senzorna ocena uzoraka voćnih vina sa pripadajućom medaljom*

Uzorak	Ukpna ocena	Medalja
KD1	18.30	Zlatna
KD2	17.95	Srebrna
KD3	18.40	Zlatna
KD4	18.10	Zlatna
KD5	18.10	Zlatna
KD6	18.00	Srebrna
KD7	18.40	Zlatna
KD8	18.60	Zlatna
KD9	17.60	Srebrna
KD10	17.80	Srebrna
KČ1	17.70	Srebrna
KČ2	18.05	Zlatna
KČ3	17.90	Srebrna
KČ4	17.95	Srebrna
KČ5	17.85	Srebrna
KČ6	17.95	Srebrna

Nastavak tabele 5.14.

KČ7	17.40	Srebrna
KČ8	17.75	Srebrna
KČ9	17.20	Srebrna
KČ10	17.30	Srebrna
KT1	18.10	Zlatna
KT2	18.05	Zlatna
KT3	18.30	Zlatna
KT4	18.35	Zlatna
KT5	18.15	Zlatna
KT6	17.90	Srebrna
KT7	18.10	Zlatna
KT8	18.35	Zlatna
KT9	17.20	Srebrna
KT10	17.40	Srebrna
MM1	18.10	Zlatna
MM2	18.10	Zlatna
MM3	18.20	Zlatna
MM4	18.40	Zlatna
MM5	18.25	Zlatna
MM6	18.30	Zlatna
MM7	18.05	Zlatna
MM8	18.25	Zlatna
MM9	17.65	Srebrna
MM10	17.90	Srebrna
MV1	17.80	Srebrna
MV2	18.05	Zlatna
MV3	17.95	Srebrna
MV4	17.90	Srebrna
MV5	17.85	Srebrna
MV6	18.05	Zlatna
MV7	18.00	Srebrna
MV8	18.10	Zlatna
MV9	17.50	Srebrna
MV10	17.75	Srebrna
K1	18.00	Srebrna
K2	17.70	Srebrna

*za opis sifri uzoraka pogledati tabelu 5.13.

Od ukupno 52 ocenjenih i opisanih uzoraka vina, za 25 uzoraka je dodeljena zlatna medalja i za 27 uzoraka srebrna medalja. Najviše zlatnih medalja je dodeljeno uzorcima vina od maline sorte Miker, čak 8 od ukupno 10 uzoraka. Samo jedna zlatna medalja je dodeljena uzorcima vina od kupine sorte Čačanska bestrna, i to za uzorak KČ2. Uzorcima KD9, KČ9, KT9, MM9, MV9, KD10, KČ10, KT10, MM10 i MV10 koji su fermentisali kao kljuk odnosno voćni sok na 22 °C u trajanju 360 h, nije dodeljena ni jedna zlatna medalja. Komercijalno dostupnim uzorci vina, K1 i K2 dodeljene su srebrne medalje.

6. ZAKLJUČAK

Ciljevi ovog rada su bili da se utvrdi potencijal određenih sorti maline i kupine kao sirovine za proizvodnju voćnih vina, da se utvrde uslovi fermentacije i definišu tehnološki parametri proizvodnje koji će obezbediti maksimalni sadržaj ukupnih polifenola u vinu, da se izvrši karakterizacija finalnog proizvoda sa aspekta osnovnih parametara kvaliteta, ukupnog sadržaja polifenola i senzornih svojstava i da se napravi poređenje u kvalitetu uzoraka vina dobijenih u ovom radu i komercijalno dostupnih voćnih vina.

Za svrhe ovog istraživanja, korišćeni su plodovi dve sorte gajene maline (vilamet i miker), dve sorte gajene kupine (čačanska bestrna i tornfri) i plodovi divlje kupine. Odabir sorti za svrhe ovog eksperimenta odredila je zastupljenost ovih sorti na prostorima Srbije. Fermentacija uzoraka odigrala se pod strogo definisanim uslovima, i ogledi su postavljeni tako da je mogao da se prati pojedinačni i kombinovani uticaj svakog od uslova fermentacije na sadržaj ukupnih polifenola i antioksidativna svojstva voćnih vina. Ispitivani su uticaji sledećih faktora: temperature fermentacije, sulfitisanje kljuka i soja kvasca. Obavljena je fermentacija sulfitisanog ili nesulfitisanog kljuka svake od izabranih sorti na 15 °C i 22 °C, spontano ili sa selekcionisanim kvascima. Tokom fermentacije pod različitim uslovima, praćena je kinetika ekstrakcije polifenolnih jedinjenja i uticaj uslova fermentacije na tok ekstrakcije, a nakon završene alkoholne fermentacije obavljena je fizičko-hemijska analiza, kvantitativna LC/MS i senzorna analiza dobijenih uzoraka voćnih vina. Takođe, ispitivana su antioksidativna svojstva uzoraka vina i utvrđena je veza koja postoji između sadržaja ukupnih polifenola i antioksidativnog kapaciteta. Na osnovu rezultata fizičko-hemijske i instrumentalne hemijske analize uzoraka, izvedeni su sledeći zaključci i utvrđene razlike koje su nastale usled uticaja različitih uslova fermentacije.

- Apsolutnu superiornost sa aspekta potencijala sorti za proizvodnju voćnih vina, sa aspekta parametara fizičko-hemijske analize i sadržaja ukupnih polifenolnih jedinjenja, pokazala je divlja kupina, zatim sorta kupine čačanska bestrna pa sorta kupine tornfri, a od sorti maline bolje se pokazala sorta vilamet u odnosu na sortu miker. Prosečni sadržaj ukupnih polifenola u uzorcima vina od divlje kupine,

čačanske bestrne kupine, tornfri kupine, miker maline i vilamet maline iznosio je 5.15, 3.29, 2.83, 2.56 i 2,90 g/L GAE, datim redosledom.

- U uzorcima divlje kupine je sadržaj ukupnog ekstrakta najviši, pa zatim slede uzorci od čačanske bestrne kupine i uzorci od tornfri kupine. Sadržaj ekstrakta u uzorcima od miker maline i vilamet maline je ujednačen i ne postoji statistički značajna razlika u sadržaju ekstrakta uslovljena kultivarom. Uzorci koji su fermentisali na 22°C sadrže statistički značajno veću količinu ekstrakta u odnosu na uzorke koji su fermentisali na 15°C. Uzorci KD9, KČ9, KT9, MM9 i MV9, sadrže statistički značajno veću količinu ekstrakta u odnosu na uzorke KD1-KD8, KČ1-KČ8, KT1-KT8, MM1-MM8 i MV1-MV8, što je uslovljeno dužinom kontakta čvrstih i tečnih delova kljuka.
- Temperatura fermentacije ima najveći uticaj na kinetiku ekstrakcije i sadržaj ukupnih polifenola u voćnim vinima. Intenzitet ekstrakcije polifenolnih jedinjenja kod uzoraka koji su fermentisali na 22°C je bio jači, pa je nakon 40 - 72 h postignut maksimum u sadržaju ukupnih polifenola. Kod uzoraka koji su fermentisali na 15°C, intenzitet ekstrakcije je bio slabiji, te je maksimum u sadržaju polifenola postignut nakon 72 - 96 h fermentacije. Uzorci koji su fermentisali na 22°C, imaju statistički značajno viši sadržaj ukupnih polifenola u odnosu na uzorke koji su fermentisali na 15°C.
- Kod uzoraka koji su fermentisali sa dodatkom SO₂ primećen je trenutni početak ekstrakcije polifenolnih jedinjenja: ekstrakcija je počela odmah nakon sulfitisanja kljuka, nezavisno od početka alkoholne fermentacije. Ovaj efekat je bio jači kod uzoraka koji su fermentisali na višim temperaturama uz dodatak SO₂ u odnosu na uzorke koji su fermentisali na nižim temperaturama uz dodatak SO₂. Iako je ekstrakcija polifenola kod ovih uzoraka počela odmah nakon sulfitisanja i bila intenzivnija, nakon završene alkoholne fermentacije nije postojala statistički

značajna razlika u sadržaju polifenola u uzorcima koji su fermentisali sa dodatkom SO₂ u odnosu na uzorke koji su fermentisali bez dodatka SO₂.

Kod uzoraka koji nisu bili sulfitisani, ekstrakcija polifenola je pratila kinetiku alkohone fermentacije. Nije primećeno da postoji veza između sadržaja ukupnih polifenolnih jedinjenja u uzorcima koji su spontano fermentisali i uzoraka koji su fermentisali sa selekcionisanim kvascima *Saccharomyces cerevisiae* EC1118.

- Nakon obavljene fermentacije i praćenja toka kinetike ekstrakcije polifenolnih jedinjenja i utvrđivanje njihovog sadržaja u uzorcima koji su fermentisali pod prethodno definisanim uslovima, obavljena je fermentacija i postfermentativna maceracija kljuka svakog od uzoraka koja je trajala 360 h, pri uslovima koji su se pokazali najoptimalnijim u pogledu kinetike ekstrakcije i sadržaja polifenolnih jedinjenja. Fermentacija je obavljena selekcionisanim kvascima uz dodatak SO₂ u koncentraciji 50 mg/L na 22 °C, i u toku trajanja fermentacije, na svakih 24 h je određivan sadržaj ukupnih polifenola u svakom od uzoraka. Razlozi za fermentaciju pod ovim uslovima su bili praćenje toka ekstrakcije polifenolnih jedinjenja pri dužem kontaktu sa čvrstim delovima kljuka i da se na osnovu dobijenih rezultata utvrdi da li je ceđenje kljuka nakon 120 h od početka fermentacije pravovremeno i da li je koncentracija polifenolnih jedinjenja u uzorcima vina u tom momentu maksimalno moguća.

Ekstrakcija polifenolnih jedinjenja u ovim uzorcima je imala isti tok kao i kod uzoraka koji su fermentisali 120 h. Nakon 72 ili 96 h od početka fermentacije postignut je maksimum u sadržaju polifenolnih jedinjenja. Od 96 h pa do 240 h maceracije, nije bilo bitnih promena u sadržaju ukupnih polifenola u uzorcima. Od 240. h pa do kraja maceracije, beleži se blagi pad u sadržaju ukupnih polifenola u svim uzorcima, u proseku za 0.2 – 0.3 g/L GAE. Sadržaj polifenolnih jedinjenja u uzorcima koji su fermentisali 360 h u odnosu na sadržaj polifenolnih jedinjenja u uzorcima koji su fermentisali 120 h je bio statistički značajno niži. Na osnovu ovih činjenica može se zaključiti da je fermentacija u trajanju od 120 h sa aspekta

sadržaja ukupnih polifenola opravdana i da nema opravdanih razloga za fermentaciju odnosno maceraciju u trajanju od 360 h.

- Da bi se ispitala opravdanost fermentacije kljuka u odnosu na fermentaciju soka, zbog tehničko-tehnoloških zahteva koji moraju biti ispunjeni, obavljena je fermentacija soka maline i kupine. Fermentacija je obavljena selekcionisanim kvascima uz dodatak SO_2 u koncentraciji 50 mg/L na 22 °C u trajanju 360 h. Tokom ovog perioda, praćena je koncentracija polifenolnih jedinjenja na svakih 24 h i dobijena je slika o toku promena u sadržaju polifenolnih jedinjenja tokom fermentacije. Sadržaj polifenola u svim uzorcima do 280 h fermentacije je u blagom i konstantnom padu, i u proseku je sadržaj polifenola u odnosu na sadržaj na početku fermentacije bio niži za 0.2 g/L GAE. Od ovog momenta pa do kraja fermentacije, nije bilo promena u sadržaju polifenola u ovim uzorcima. Sadržaj polifenola u uzorcima vina dobijenih fermentacijom soka se statistički veoma značajno razlikuje od sadržaja polifenola u uzorcima dobijenim fermentacijom kljuka. Na osnovu dobijenih rezultata, jasno je da je sa aspekta sadržaja polifenolnih jedinjenja potpuno opravdano vršiti fermentaciju kljuka a ne voćnog soka.
- Najviše vrednosti za antioksidativni kapacitet u uzorcima vina od kupine su izmerene u uzorcima od divlje kupine pa zatim u uzorcima od sorte kupine čačanska bestrna i na kraju u uzorcima od sorte kupine tornfri. Izmerene FRAP vrednosti za KD1, ČB1 i KT1 uzorke su 70.74, 56.40 i 40.50 mmol TE/L, datim redosledom. Uzorci koji su fermentisali na 22°C poseduju statistički značajno viši antioksidativni kapacitet u odnosu na uzorke koji su fermentisali na 15°C. Iako za pojedine uzorke koji su fermentisali na istoj temperaturi, a pri različitim drugim uslovima (sa ili bez dodatka SO_2 , selekcionisanim kvascima ili spontano) postoji statistički značajna razlika u antioksidativnom kapacitetu, nije utvrđeno da postoji pravilnost od slučaja do slučaja, te se nije mogla naći veza između uslova fermentacije i antioksidativnog kapaciteta ovih uzoraka. Kod uzoraka vina od

maline, FRAP i TEAC vrednosti kod uzoraka od sorte vilamet su bile u proseku 1.5 puta veće u odnosu na FRAP i TEAC vrednosti kod uzoraka od sorte miker.

- Utvrđeno je da postoji visoka pozitivna korelacija između sadržaja ukupnih polifenola i FRAP vrednosti ($r_{\text{tpc-frap}}=0.94$) u svim uzorcima. Nešto slabija, ali još uvek dobra pozitivna korelacija postoji između sadržaja ukupnih polifenola i DPPH i TEAC vrednosti u ispitivanim uzorcima ($r_{\text{tpc-dpph}}=0.81$; $r_{\text{tpc-teac}}=0.68$).
- Sadržaj ukupnih antocijana u svakom od uzoraka je proporcionalan sadržaju ukupnih polifenolnih jedinjenja: što je viši sadržaj ukupnih polifenola viši je i sadržaj ukupnih antocijana. Svi uzorci iste sorte koji su fermentisali na 22°C imaju statistički značajno viši sadržaj ukupnih antocijana u odnosu na uzorke koji su fermentisali na 15°C.
- Na osnovu rezultata fizčko hemijske analize i analize sadržaja ukupnih polifenolnih jedinjenja u uzorcima komercijalnih vina, utvrđeno je da ovi uzorci poseduju znatno manje količine ukupnog ekstrakta, ukupnih kiselina, pepela i ukupnih polifenola. Sadržaj ukupnog ekstrakta u uzorcima K1 i K2 je bio 21.00 i 15.35 g/L, datim redosledom, dok je u uzorcima KD1 i MV1 bio 41.50 i 27.00 g/L.
- Rezultati senzorne analize su pokazali da su najbolji uzorci koji su fermentisali na temperaturi 15 °C, jer su primarne mirisne materije u ovim uzorcima očuvane u najvećoj meri. Uzorci od divlje kupine su pokazali najviši nivo kvaliteta, pa zatim uzorci od sorte maline vilamet, pa slede uzorci od sorte kupine tornfri pa uzorci od sorte kupine čačanska bestrna i na kraju uzorci od sorte maline vilamet. Ono što se jasno vidi na osnovu senzornih ocena koje je dao ocenjivački panel, da su upravo uzorci koji su fermentisali na nižim temperaturama i koje poseduju statistički značajno manje količine ukupnih polifenola i ukupnog ekstrakta senzorno prihvatljiviji. Senzorna svojstva uzoraka KD9, KČ9, KT9, MM9 i MV9 kao i

uzoraka KD10, KČ10, KT10, MM10 i MV10 su dosta slabo ocenjena. Senzorne ocene komercijlno dostupnih uzoraka voćnih vina su bila u opsegu senzornih svojstava uzoraka pripremljenih u ovom eksperimentu, uprkos činjenici da fizičko-hemijski parametri kvaliteta nisu bili zadovoljavajući.

Na osnovu svih gore navedenih činjenica, može se izvesti genaralni zaključak:

Sa aspekta sadržaja ukupnih polifenola i antioksidativnog kapaciteta, najveći potencijal su pokazali uzorci vina od divlje kupine. Najviši nivo ukupnih polifenola, ukupnog ekstrakta, pepela i najveći antioksidativni potencijal je izmeren u uzorcima koji su fermentisali na 22 °C sa ili bez dodatka SO₂ u trajanju 120 h. Sa aspekta senzornih svojstava, najbolje rezultate su pokazali uzorci divlje kupine koji su fermentisali na 15 °C uz dodatak SO₂. Dalja istraživanja upravo treba usmeriti u pravcu optimizacije tehnološkog procesa proizvodnje i definisati parametre proizvodnje koji će obezbediti visok sadržaj bioaktivnih komponenti sa jedne strane i dobra senzorna svojstva gotovog proizvoda sa druge strane.

LITERATURA

- Abramovič, H., Košmerl, T., Ulrih, N. P., Cigić, B. (2015): Contribution of SO₂ to potential of white wine. *Food chemistry*, 174, 147-153.
- Abu-Amsha, R., Croft, K. D., Puddey, I. B., Proudfoot, J. M., Beilin, L. J. (1996): Phenolic content of various beverages determines the extent of inhibition of human serum and low-density lipoprotein oxidation in vitro: identification and mechanism of action of some cinnamic acid derivatives from red wine. *Clinical Science*, 91(Pt 4), 449-458.
- Alexandre, H., Costello, P. J., Remize, F., Guzzo, J., Guilloux-Benatier. M. (2004): *Saccharomyces cerevisiae* – *Oenococcus oeni* interactions in wine: current knowledge and perspectives. *Int. J. Food. Microbiol.* 93:141-154.
- Alpeza, I., Varga, T., Kubanović, V. (2014): Composition and content of selected elements of Croatian blackberry wines. *Journal of Food, Agriculture & Environment*, 12(3&4), 100-103.
- Amidžić, D., Turk, A. M., Klarić, I. (2011): Polyphenol content and antioxidant activity of commercial blackberry wines from Croatia: The application of multivariate analysis for the geographical origin differentiation. *Journal of food and nutrition research*, 50(4), 199-209.
- Andorrà, I., Berradre, M., Rozès, N., Mas, A., Guillamón, J. M., Esteve-Zaroso, B. (2010): Effect of pure and mixed cultures of the main wine yeast species on grape must fermentations. *European Food Research and Technology*, 231(2), 215-224.
- Arts, I. C., van de Putte, B., Hollman, P. C. (2000a): Catechin contents of foods commonly consumed in The Netherlands. 1. Fruits, vegetables, staple foods, and processed foods. *Journal of agricultural and food chemistry*, 48(5), 1746-1751.
- Arts, I. C., van de Putte, B., & Hollman, P. C. (2000b). Catechin contents of foods commonly consumed in The Netherlands. 2. Tea, wine, fruit juices, and chocolate milk. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(5), 1752-1757.
- Atkinson, S., Williams, P. (2009): Quorum sensing and social networking in the microbial world. *Journal of The Royal Society Interface*, rsif20090203.

- Aviram, M., Fuhrman, B. (2002): Wine flavonoids protect against LDL oxidation and atherosclerosis. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 957(1), 146-161.
- Aziz, M. H., Kumar, R., Ahmad, N. (2003): Cancer chemoprevention by resveratrol: in vitro and in vivo studies and the underlying mechanisms (review). *International journal of oncology*, 23(1), 17-28.
- Bauer, R., Dicks, L. M. T. (2004): Control of malolactic fermentation in wine. A review. *S. Afr. J. Enol. Vitic*, 25(2), 74-88.
- Barbe, J. C., de Revel, G., Joyeux, A., Lonvaud-Funel, A., Bertrand, A. (2000): Role of carbonyl compounds in SO₂ binding phenomena in musts and wines from botrytized grapes. *Journal of agricultural and food chemistry*, 48(8), 3413-3419.
- Bavaresco, L. U. I. G. I. (2002): Role of viticultural factors on stilbene concentrations of grapes and wine. *Drugs under experimental and clinical research*, 29(5-6), 181-187.
- Beekwilder, J., Jonker, H., Meesters, P., Hall, R. D., van der Meer, I. M., Ric de Vos, C. H. (2005); Antioxidants in raspberry: on-line analysis links antioxidant activity to a diversity of individual metabolites. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(9), 3313-3320.
- Benzie, F.F.I., Strain, J.J. (1996): The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of "Antioxidant Power": The FRAP Assay. *Analytical Biochemistry* 239: 70-76.
- Bertelli, A., Bertelli, A. A., Gozzini, A., Giovannini, L. (1997): Plasma and tissue resveratrol concentrations and pharmacological activity. *Drugs under experimental and clinical research*, 24(3), 133-138.
- Bhat, K. P., Pezzuto, J. M. (2002): Cancer chemopreventive activity of resveratrol. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 957(1), 210-229.
- Birt, D. F., Hendrich, S., Wang, W. (2001): Dietary agents in cancer prevention: flavonoids and isoflavonoids. *Pharmacology & therapeutics*, 90(2), 157-177.
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., Berset, C. (1995): Use of the radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensmittel- Wissenschaft und Technologie* 28, 25-30.
- Böthig, S. (1988): WHO MONICA Project: objectives and design. *International journal of epidemiology*, 18(3 Suppl 1), S29-37.

- Castillo-Sánchez, J. J., Mejuto, J. C., Garrido, J., García-Falcón, S. (2006): Influence of wine-making protocol and fining agents on the evolution of the anthocyanin content, colour and general organoleptic quality of Vinhão wines. *Food Chemistry*, 97(1), 130-136.
- Charlotte, L., Deuel, P., Anne, P. (2005): Strawberries and Raspberries. In: Barrett, M. D., Somogyi, L., Ramaswamy, H. (Eds.): *Processing Fruits – Science and Technology*, Second Edition. CRC Press LLC, Boca Raton, pp. 531-562.
- Chatonnet, P., Boidron, J. N., Dubourdiou, D. (1993): Influence des conditions d'élevage et de sulfitage des vins rouges en barriques sur leur teneur en acide acétique et en ethylphenols. *Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin*, 27(4), 277-298.
- Chen, H., Fink, G. R. (2006): Feedback control of morphogenesis in fungi by aromatic alcohols. *Genes & development*, 20(9), 1150-1161.
- Cho, M. J., Howard, L. R., Prior, R. L., Clark, J. R. (2004): Flavonoid glycosides and antioxidant capacity of various blackberry, blueberry and red grape genotypes determined by high-performance liquid chromatography/mass spectrometry. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 84(13), 1771-1782.
- Chira, K., Pacella, N., Jourdes, M., Teissedre, P. L. (2011): Chemical and sensory evaluation of Bordeaux wines (Cabernet-Sauvignon and Merlot) and correlation with wine age. *Food chemistry*, 126(4), 1971-1977.
- Cho, M. J., Howard, L. R., Prior, R. L., Clark, J. R. (2005): Flavonol glycosides and antioxidant capacity of various blackberry and blueberry genotypes determined by high-performance liquid chromatography/mass spectrometry. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 85(13), 2149-2158.
- Chung, S. K., Kim, Y. C., Takaya, Y., Terashima, K., Niwa, M. (2004): Novel flavonol glycoside, 7-O-methyl mearnsitrin, from *Sageretia theezans* and its antioxidant effect. *Journal of agricultural and food chemistry*, 52(15), 4664-4668.
- Corder, R., Mullen, W., Khan, N. Q., Marks, S. C., Wood, E. G., Carrier, M. J., Crozier, A. (2006): Oenology: red wine procyanidins and vascular health. *Nature*, 444(7119), 566-566.

- Cortell, J. M., Kennedy, J. A. (2006): Effect of shading on accumulation of flavonoid compounds in (*Vitis vinifera* L.) pinot noir fruit and extraction in a model system. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(22), 8510-8520.
- Covas, M. I., Nyssönen, K., Poulsen, H. E., Kaikkonen, J., Zunft, H. J. F., Kiesewetter, H., Gaddi, A., de la Torre, R., Mursu, J., Baumler, H., Nascetti, S., Salonen, JT., Fito, M., Virtanen, J., Marrugat, J., Group, ES. (2006): The effect of polyphenols in olive oil on heart disease risk factors: a randomized trial. *Annals of Internal Medicine*, 145(5), 333-341.
- Curvelo-Garcia, A.S., Godinho, M.C. (1986): Determinação analítica do dióxido de enxofre em vinagres. *Optimização das condições operatórias, Ciência e Técnica Vitivinícola*, 5(1): 25 - 29.
- Czyzowska, A., 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. *European food research and technology*, 214(2), 148-154.
- Dell'Agli, M., Buscialà, A., Bosisio, E. (2004): Vascular effects of wine polyphenols. *Cardiovascular Research*, 63(4), 593-602.
- Delmas, D., Lançon, A., Colin, D., Jannin, B., Latruffe, N. (2006): Resveratrol as a chemopreventive agent: a promising molecule for fighting cancer. *Current drug targets*, 7(4), 423-442.
- Daničić, M. (1985): *Tehnologija vina – praktikum*. Poljoprivredni fakultet, Beograd – Zemun.
- Djordjević, R., Gibson, B., Sandell, M., Billerbeck, G. M., Bugarski, B., Leskošek-Čukalović, I., Vunduk, J., Nikićević, N., Nedović, V. (2015): Raspberry wine fermentation with suspended and immobilized yeast cells of two strains of *Saccharomyces cerevisiae*. *Yeast*, 32(1), 271-279.
- Duarte, W. F., Dragone, G., Dias, D. R., Oliveira, J. M., Teixeira, J. A., e Silva, J. B. A., Schwan, R. F. (2010): Fermentative behavior of *Saccharomyces* strains during microvinification of raspberry juice (*Rubus idaeus* L.). *International journal of food microbiology*, 143(3), 173-182.

- Ducimetiere, P., Cambien, F., Richard, J., Rakotovo, R., Claude, J. (1980): Coronary heart disease in middle-aged Frenchmen: comparisons between Paris Prospective Study, Seven Countries Study, and Pooling Project. *The Lancet*, 315(8182), 1346-1350.
- Eisen, B., Ungar, Y., Shimoni, E. (2003): Stability of isoflavones in soy milk stored at elevated and ambient temperatures. *Journal of agricultural and food chemistry*, 51(8), 2212-2215.
- Ehala, S., Vaher, M., Kaljurand, M. (2005): Characterization of phenolic profiles of Northern European berries by capillary electrophoresis and determination of their antioxidant activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(16), 6484-6490.
- Elbling, L., Weiss, R. M., Teufelhofer, O., Uhl, M., Knasmueller, S., Schulte-Hermann, R., Berger, W., Micksche, M. (2005). Green tea extract and (–)-epigallocatechin-3-gallate, the major tea catechin, exert oxidant but lack antioxidant activities. *The FASEB journal*, 19(7), 807-809.
- Elisia, I., Hu, C., Popovich, D. G., Kitts, D. D. (2007): Antioxidant assessment of an anthocyanin-enriched blackberry extract. *Food Chemistry*, 101(3), 1052-1058.
- Es-Safi, N. E., Cheynier, V., Moutounet, M. (2002): Interactions between cyanidin 3-O-glucoside and furfural derivatives and their impact on food color changes. *Journal of agricultural and food chemistry*, 50(20), 5586-5595.
- Fan-Chiang, H. J., Wrolstad, R. E. (2005): Anthocyanin pigment composition of blackberries. *Journal of Food Science*, 70(3), C198-C202.
- Ferrières, J. (2004): The French paradox: lessons for other countries. *Heart*, 90(1), 107-111.
- Fischer, P. M., Lane, D. P. (2000): Inhibitors of cyclin-dependent kinases as anti-cancer therapeutics. *Current medicinal chemistry*, 7(12), 1213-1245.
- Gerçekcioglu, R., Esmek, I. (2005): Comparison of different blackberry (*Rubus fruticosus* L.) cultivars in Tokat, Turkey. *Journal of Applied Sciences*, 5(8), 1374-1377.
- Gil-Muñoz, R., Gómez-Plaza, E., Martí, A., López-Roca, J. M. (1999): Evolution of phenolic compounds during wine fermentation and post-fermentation: influence of grape temperature. *Journal of Food Composition and Analysis*, 12(4), 259-272.

- Gimeno, E., Fito, M., Lamuela-Raventos, R. M., Castellote, A. I., Covas, M., Farre, M., de la Torre Boronat, MC., Lopez-Sabater, MC. (2002): Original Communications-Effect of ingestion of virgin olive oil on human low-density lipoprotein composition. *European journal of clinical nutrition*, 56(2), 114-120.
- Giusti, M., Wrolstad, R. E. (2001): Characterization and Measurement of Anthocyanins by UV-Visible Spectroscopy. *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*, F:F1:F1.2.
- Glories, Y. (1984): La Couleur des Vins Rouges. 2a Partie. Me'sure, Origine et Interpretation. *Connaissance de la Vigne et du Vin*, 18, 252-271.
- Goldberg, D. M., Yan, J., Soleas, G. J. (2003): Absorption of three wine-related polyphenols in three different matrices by healthy subjects. *Clinical biochemistry*, 36(1), 79-87.
- Gu, L., Kelm, M. A., Hammerstone, J. F., Beecher, G., Holden, J., Haytowitz, D., Prior, R. L. (2003): Screening of foods containing proanthocyanidins and their structural characterization using LC-MS/MS and thiolytic degradation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(25), 7513-7521.
- Gu, L., Kelm, M. A., Hammerstone, J. F., Beecher, G., Holden, J., Haytowitz, D., Gebhardt, S., Prior, R. L. (2004): Concentrations of proanthocyanidins in common foods and estimations of normal consumption. *The Journal of nutrition*, 134(3), 613-617.
- Häkkinen, S., Heinonen, M., Kärenlampi, S., Mykkänen, H., Ruuskanen, J., Törrönen, R. (1999): Screening of selected flavonoids and phenolic acids in 19 berries. *Food Research International*, 32(5), 345-353.
- Häkkinen, S. H., Kärenlampi, S. O., Mykkänen, H. M., Heinonen, I. M., Törrönen, A. R. (2000): Ellagic acid content in berries: Influence of domestic processing and storage. *European Food Research and Technology*, 212(1), 75-80.
- Hammerstone, J. F., Lazarus, S. A., Schmitz, H. H. (2000): Procyanidin content and variation in some commonly consumed foods. *The Journal of nutrition*, 130(8), 2086S-2092S.
- Heinonen, I. M., Lehtonen, P. J., Hopia, A. I. (1998): Antioxidant activity of berry and fruit wines and liquors. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46(1), 25-31.

- Harborne, J. B., Williams, C. A. (2000): Advances in flavonoid research since 1992. *Phytochemistry*, 55(6), 481-504.
- Henríquez, C., Carrasco-Pozo, C., Gómez, M., Brunser, O., Speisky, H. (2005): Slow and fast-reacting antioxidants from berries: Their evaluation through the FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power) assay. In IX International Rubus and Ribes Symposium 777 (pp. 531-536).
- Hnatyszyn, O., Moscatelli, V., Rondina, R., Costa, M., Arranz, C., Balaszczuk, A., Coussio, J., Ferraro, G. (2004): Flavonoids from *Achyrocline satureioides* with relaxant effects on the smooth muscle of Guinea pig corpus cavernosum. *Phytomedicine*, 11(4), 366-369.
- Hollman, P. C., Hertog, M. G., Katan, M. B. (1996): Role of dietary flavonoids in protection against cancer and coronary heart disease. *Biochemical Society Transactions*, 24(3), 785.
- Howard, R., Hager, J. (2007): Berry fruit phytochemicals. In: Zhao, Y. (Ed.), *Berry Fruits: value-added products for health promotion*. Taylor & Francis Group, Boca Raton, pp. 74-99.
- Hussain, T., Gupta, S., Adhami, V. M., Mukhtar, H. (2005): Green tea constituent epigallocatechin-3-gallate selectively inhibits COX-2 without affecting COX-1 expression in human prostate carcinoma cells. *International Journal of Cancer*, 113(4), 660-669.
- Hwang, J., Wang, J., Morazzoni, P., Hodis, H. N., Sevanian, A. (2003): The phytoestrogen equol increases nitric oxide availability by inhibiting superoxide production: an antioxidant mechanism for cell-mediated LDL modification. *Free Radical Biology and Medicine*, 34(10), 1271-1282.
- Jennings, D. L., Carmichael, E. (1980): Anthocyanin variation in the genus *Rubus*. *New Phytologist*, 84(3), 505-513.
- Kähkönen, M. P., Hopia, A. I., Heinonen, M. (2001): Berry phenolics and their antioxidant activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(8), 4076-4082.
- Kaneda, H., Kobayashi, N., Furusho, S., Sahara, H., Koshino, S. (1995): Reducing activity and flavor stability of beer. *Tech Q Master Brew Assoc Am* 32, 90-94.

- Kovac, V., Alonso, E., Bourzeix, M., Revilla, E. (1992): Effect of several enological practices on the content of catechins and proanthocyanidins of red wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 40(10), 1953-1957.
- Kowalenko, C. G. (1994): Growing season dry matter and macroelement accumulations in Willamette red raspberry and related soil-extractable macroelement measurements. *Canadian journal of plant science*, 74(3), 565-571.
- Koyama, K., Goto-Yamamoto, N., Hashizume, K. (2007): Influence of maceration temperature in red wine vinification on extraction of phenolics from berry skins and seeds of grape (*Vitis vinifera*). *Bioscience, biotechnology, and biochemistry*, 71(4), 958-965.
- Kris-Etherton, P. M., Keen, C. L. (2002): Evidence that the antioxidant flavonoids in tea and cocoa are beneficial for cardiovascular health. *Current Opinion in Lipidology*, 13(1), 41-49.
- Kuo, S. M. (1997): Dietary flavonoid and cancer prevention: evidence and potential mechanism. *Critical Reviews in Oncogenesis*, 8(1).
- Lambri, M., Dordoni, R., Silva, A., De Faveri, D. M. (2012): Comparing the impact of bentonite addition for both must clarification and wine fining on the chemical profile of wine from Chambave Muscat grapes. *International Journal of Food Science & Technology*, 47(1), 1-12.
- Lambert, J. D., Hong, J., Yang, G. Y., Liao, J., Yang, C. S. (2005). Inhibition of carcinogenesis by polyphenols: evidence from laboratory investigations. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 81(1), 284S-291S.
- Larson, R. A. (1988): The antioxidants of higher plants. *Phytochemistry*, 27(4), 969-978.
- Law, M., Wald, N. (1999): Why heart disease mortality is low in France: the time lag explanation. *BMJ: British Medical Journal*, 318(7196), 1471.
- Lee, J., Durst, R. W., Wrolstad, R. E. (2005): Determination of total monomeric anthocyanin pigment content of fruit juices, beverages, natural colorants, and wines by the pH differential method: collaborative study. *Journal of AOAC international*, 88(5), 1269-1278.

- Leuzzi, U., Caristi, C., Panzera, V., Licandro, G. (2000): Flavonoids in pigmented orange juice and second-pressure extracts. *Journal of agricultural and food chemistry*, 48(11), 5501-5506.
- Liu, M., Li, X. Q., Weber, C., Lee, C. Y., Brown, J., Liu, R. H. (2002): Antioxidant and antiproliferative activities of raspberries. *Journal of agricultural and food chemistry*, 50(10), 2926-2930.
- Masella, R., Giovannini, C., Vari, R., Di Benedetto, R., Coni, E., Volpe, R., Fraone, N., Bucci, A. (2001): Effects of dietary virgin olive oil phenols on low density lipoprotein oxidation in hyperlipidemic patients. *Lipids*, 36(11), 1195-1202.
- Määttä-Riihinen, K. R., Kamal-Eldin, A., Törrönen, A. R. (2004): Identification and quantification of phenolic compounds in berries of *Fragaria* and *Rubus* species (family Rosaceae). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(20), 6178-6187.
- Macheix, J. J., Fleuriet, A. (1990): *Fruit phenolics*. CRC press, Boca Raton.
- Mattila, P., Kumpulainen, J. (2002): Determination of free and total phenolic acids in plant-derived foods by LC/MS with diode-array detection. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(13), 3660-3667.
- Marrugat, J., Covas, M. I., Fitó, M., Schröder, H., Miró-Casas, E., Gimeno, E., Lopez-Sabatar, MC., de la Torre, R., Farré, M. (2004): Effects of differing phenolic content in dietary olive oils on lipids and LDL oxidation. *European journal of nutrition*, 43(3), 140-147.
- Mazur, W. M., Uehara, M., Wähälä, K., Adlercreutz, H. (2000): Phyto-oestrogen content of berries, and plasma concentrations and urinary excretion of enterolactone after a single strawberry-meal in human subjects. *British journal of nutrition*, 83(04), 381-387.
- Mazza, G., Miniati, E. (1993): *Anthocyanins in fruits, vegetables, and grains*. CRC press, Boca Raton.
- Mazza, G., Cacace, J. E., Kay, C. D. (2004): Methods of analysis for anthocyanins in plants and biological fluids. *Journal of AOAC international*, 87(1), 129-145.
- McKay, M., Buglass, A. J., Lee, C. G. (2011): *Fermented Beverages: Beers, Ciders, Wines and Related Drinks*. In: Buglass, A. J. (Ed.), *Handbook of alcoholic beverages*:

- technical, analytical and nutritional aspects. John Wiley and Sons, Chichester, pp. 419-434.
- Meagher, L. P., Beecher, G. R. (2000): Assessment of data on the lignan content of foods. *Journal of food composition and analysis*, 13(6), 935-947.
- Mertz, C., Cheynier, V., Günata, Z., Brat, P. (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. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(21), 8616-8624.
- Milić, B. L., Đilas, S. M., Čanadanović-Brunet, J. M., Sakač, M. B. (2000): Biljni polifenoli. Tehnološki fakultet.
- Milivojević, J., Maksimović, V., Nikolić, M., Bogdanović, J., Maletić, R., Milatović, D. (2011): Chemical and antioxidant properties of cultivated and wild *Fragaria* and *Rubus* berries. *Journal of Food Quality*, 34(1), 1-9.
- Minussi, R. C., Rossi, M., Bologna, L., Cordi, L., Rotilio, D., Pastore, G. M., Durán, N. (2003): Phenolic compounds and total antioxidant potential of commercial wines. *Food Chemistry*, 82(3), 409-416.
- Mišić, P.D. (1998): Malina. Zajednica za voće i povrće, Beograd.
- Moyer, R. A., Hummer, K. E., Finn, C. E., Frei, B., Wrolstad, R. E. (2002): Anthocyanins, phenolics, and antioxidant capacity in diverse small fruits: *Vaccinium*, *Rubus*, and *Ribes*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(3), 519-525.
- Mudnic, I., Budimir, D., Modun, D., Gunjaca, G., Generalic, I., Skroza, D., Katalinic, V., Ljubenkovic, I., Boban, M. (2012): Antioxidant and vasodilatory effects of blackberry and grape wines. *Journal of medicinal food*, 15(3), 315-321.
- Mullen, W., Lean, M. E., Crozier, A. (2002). Rapid characterization of anthocyanins in red raspberry fruit by high-performance liquid chromatography coupled to single quadrupole mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 966(1), 63-70.
- Mullen, W., McGinn, J., Lean, M. E., MacLean, M. R., Gardner, P., Duthie, G. G., Yokota, T., Crozier, A. (2002): Ellagitannins, flavonoids, and other phenolics in red raspberries and their contribution to antioxidant capacity and vasorelaxation properties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(18), 5191-5196.

- Mullen, W., Yokota, T., Lean, M. E., Crozier, A. (2003): Analysis of ellagitannins and conjugates of ellagic acid and quercetin in raspberry fruits by LC–MS n. *Phytochemistry*, 64(2), 617-624.
- Naasani, I., Oh-hashii, F., Oh-hara, T., Feng, W. Y., Johnston, J., Chan, K., Tsuruo, T. (2003): Blocking telomerase by dietary polyphenols is a major mechanism for limiting the growth of human cancer cells in vitro and in vivo. *Cancer research*, 63(4), 824-830.
- Nikićević, N., Tešević, V. (2008): Jaka alkoholna pića – analitika i praksa. Poljoprivredna knjiga, Beograd.
- Nikolić, D. M., Milivojević, M. J. (2010): Jagodaste voćke - Tehnologija gajenja. Naučno voćarsko društvo Srbije, Čačak.
- OIV. (2009): Compendium of International Methods of Analysis–Oiv – Ash (OIV-MA-AS2-04). Office Internationale de la Vigne et du Vin, Paris.
- O’Leary, K. A., de Pascual-Tereasa, S., Needs, P. W., Bao, Y. P., O’Brien, N. M., Williamson, G. (2004): Effect of flavonoids and vitamin E on cyclooxygenase-2 (COX-2) transcription. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 551(1), 245-254.
- Paixão, N., Perestrelo, R., Marques, J. C., Câmara, J. S. (2007): Relationship between antioxidant capacity and total phenolic content of red, rosé and white wines. *Food Chemistry*, 105(1), 204-214.
- Pantelidis, G. E., Vasilakakis, M., Manganaris, G. A., Diamantidis, G. (2007): Antioxidant capacity, phenol, anthocyanin and ascorbic acid contents in raspberries, blackberries, red currants, gooseberries and Cornelian cherries. *Food Chemistry*, 102(3), 777-783.
- Papadopoulou, A., Frazier, R. A. (2004): Characterization of protein–polyphenol interactions. *Trends in food science & technology*, 15(3), 186-190.
- Parr, A. J., Bolwell, G. P. (2000): Phenols in the plant and in man. The potential for possible nutritional enhancement of the diet by modifying the phenols content or profile. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80(7), 985-1012.
- Peynaud, E., Blouin, J. (1996). *The taste of wine: The art science of wine appreciation*. John Wiley & Sons, New York.

- Pinhero, R. G., Paliyath, G. (2001): Antioxidant and calmodulin-inhibitory activities of phenolic components in fruit wines and its biotechnological implications. *Food Biotechnology*, 15(3), 179-192.
- Preys, S., Mazerolles, G., Courcoux, P., Samson, A., Fischer, U., Hanafi, M., Bertrand, D., Cheynier, V. (2006): Relationship between polyphenolic composition and some sensory properties in red wines using multiway analyses. *Analytica Chimica Acta*, 563(1), 126-136.
- Radovanović, R., Popov-Raljić, J. (2001): *Senzorna analiza prehrambenih proizvoda*. Poljoprivredni fakultet, Beograd.
- Rajković, M.B. (2007): *Uvod u analitičku hemiju - klasične osnove*. Pergament, Beograd .
- Rasmussen, S. E., Frederiksen, H., Struntze Krogholm, K., Poulsen, L. (2005): Dietary proanthocyanidins: occurrence, dietary intake, bioavailability, and protection against cardiovascular disease. *Molecular nutrition & food research*, 49(2), 159-174.
- Reinli, K., Block, G. (1996): Phytoestrogen content of foods—a compendium of literature values. *Nutrition and cancer*, 26(2), 123-148.
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., Rice-Evans, C. (1999): Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cationde colorization assay. *Free Radic Bio Med* 26, 1231–1237.
- Reyes-Carmona, J., Yousef, G. G., Martínez-Peniche, R. A., Lila, M. A. (2005): Antioxidant capacity of fruit extracts of blackberry (*Rubus* sp.) produced in different climatic regions. *Journal of Food Science*, 70(7), s497-s503.
- Rotundo, A., Bounous, G., Benvenuti, S., Vampa, G., Melegari, M., Soragni, F. (1998): Quality and yield of *Ribes* and *Rubus* cultivars grown in Southern Italy hilly locations. *Phytotherapy Research*, 12(S1), S135-S137.
- Ribéreau-Gayon, P., Dubourdieu, D., Donèche, B., & Lonvaud, A. (2006): *Handbook of Enology, Volume 1, The microbiology of wine and vinifications*, 2nd edition. John Wiley & Sons, Cichester.

- Rimando, A. M., Kalt, W., Magee, J. B., Dewey, J., Ballington, J. R. (2004): Resveratrol, pterostilbene, and piceatannol in vaccinium berries. *Journal of agricultural and food chemistry*, 52(15), 4713-4719.
- Rommel, A., Wrolstad, R. E. (1993): Composition of flavonols in red raspberry juice as influenced by cultivar, processing, and environmental factors. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 41(11), 1941-1950.
- Rommel, A., Wrolstad, R. E. (1993). Ellagic acid content of red raspberry juice as influenced by cultivar, processing, and environmental factors. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 41(11), 1951-1960.
- Rommel, A., Heatherbell, D. A., Wrolstad, R. E. (1990): Red raspberry juice and wine: effect of processing and storage on anthocyanin pigment composition, color and appearance. *Journal of Food Science*, 55(4), 1011-1017.
- Rommel, A., Wrolstad, R. E., Heatherbell, D. A. (1992): Blackberry juice and wine: processing and storage effects on anthocyanin composition, color and appearance. *Journal of Food Science*, 57(2), 385-391.
- Romano, P., Suzzi, G. (1993): Sulfur dioxide and wine microorganisms. In: G. H. Fleet and R. Bonnett (Eds.), *Wine Microbiology and Biotechnology*. CRC Press, Boca Raton, FL, pp. 253-257.
- Robbins, J., Moore, P. P. (1990): Relationship of Fruit Morphology and Weight to Fruit Strength in Meeker Red Raspberry. *HortScience*, 25(6), 679-681.
- Rotter, B. (2008) Sulphur Dioxide. www.brsquared.org/wine; 2001–2011.
- Rupasinghe, H. V., Clegg, S. (2007): Total antioxidant capacity, total phenolic content, mineral elements, and histamine concentrations in wines of different fruit sources. *Journal of Food Composition and analysis*, 20(2), 133-137.
- Sacchi, K. L., Bisson, L. F., Adams, D. O. (2005): A review of the effect of winemaking techniques on phenolic extraction in red wines. *American Journal of Enology and Viticulture*, 56(3), 197-206.
- Salmon, J. M. (2006): Interactions between yeast, oxygen and polyphenols during alcoholic fermentations: Practical implications. *LWT-Food Science and Technology*, 39(9), 959-965.

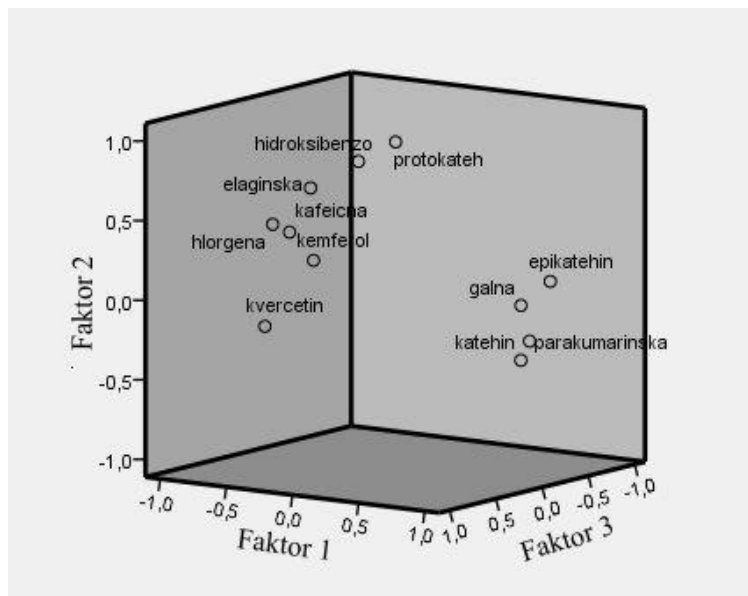
- Sánchez-Moreno, C., Cao, G., Ou, B., Prior, R. L. (2003): Anthocyanin and proanthocyanidin content in selected white and red wines. Oxygen radical absorbance capacity comparison with nontraditional wines obtained from highbush blueberry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(17), 4889-4896.
- Sariburun, E., Şahin, S., Demir, C., Türkben, C., Uylaşer, V. (2010): Phenolic content and antioxidant activity of raspberry and blackberry cultivars. *Journal of food science*, 75(4), C328-C335.
- Scalbert, A., Manach, C., Morand, C., Rémésy, C., & Jiménez, L. (2005): Dietary polyphenols and the prevention of diseases. *Critical reviews in food science and nutrition*, 45(4), 287-306.
- Schuster, B., Herrmann, K. (1985): Hydroxybenzoic and hydroxycinnamic acid derivatives in soft fruits. *Phytochemistry*, 24(11), 2761-2764.
- Seeram, N. P., Lee, R., Scheuller, H. S., Heber, D. (2006): Identification of phenolic compounds in strawberries by liquid chromatography electrospray ionization mass spectroscopy. *Food Chemistry*, 97(1), 1-11.
- Shahidi, F., Naczk, M., Griffiths, W. (1996): Food Phenolics: Sources, Chemistry, Effects, Applications. *Trends in Food Science and Technology*, 7(7), 243.
- Sheridan, J. C. (2013): SPSS verzija 20, Analiza bez muke, Kompjuter biblioteka. John Wiley & Sons, Milton.
- Shiow, W. Y. (2007): Antioxidant capacity and phenolic content of berry fruits as affected by genotype, preharvest conditions, maturity, and postharvest handling. In: Zhao, Y. (Ed.), *Berry Fruits: value-added products for health promotion*. Taylor & Francis Group, Boca Raton, pp. 147-178.
- Siebert, K. J. (1999): Effects of protein-polyphenol interactions on beverage haze, stabilization, and analysis. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47(2), 353-362.
- Siebert, K. J., Troukhanova, N. V., Lynn, P. Y. (1996): Nature of polyphenol-protein interactions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 44(1), 80-85.
- Singleton, V.L., Rossi, J.A. (1965): Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *Am J Enol Vitic* 16: 144–158.

- Singleton, V. L., Orthofer, R., & Lamuela-Raventos, R. M. (1999): Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin–Ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology* 299: 152–178.
- Siriwoharn, T., Wrolstad, R. E. (2004): Polyphenolic composition of Marion and Evergreen blackberries. *Journal of Food Science Chicago*, 69, FCT233-240.
- Siriwoharn, T., Wrolstad, R. E., Finn, C. E., Pereira, C. B. (2004): Influence of cultivar, maturity, and sampling on blackberry (*Rubus L. Hybrids*) anthocyanins, polyphenolics, and antioxidant properties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(26), 8021-8030.
- Siriwoharn, T., Wrolstad, R. E., Durst, R. W. (2005): Identification of ellagic acid in blackberry juice sediment. *J. Food Sci*, 70, 189-197.
- Somers, T. C., Wescombe, L. G. (1982): Red wine quality: the critical role of SO₂ during vinification and conservation. *Aust. Grapegrow. Winemaker* 220: 68, 74.
- Spencer, J. P., Rice-Evans, C., Williams, R. J. (2003): Modulation of pro-survival Akt/protein kinase B and ERK1/2 signaling cascades by quercetin and its in vivo metabolites underlie their action on neuronal viability. *Journal of Biological Chemistry*, 278(37), 34783-34793.
- Sprague, G. F., Winans, S. C. (2006): Eukaryotes learn how to count: quorum sensing by yeast. *Genes & development*, 20(9), 1045-1049.
- Stintzing, F. C., Stintzing, A. S., Carle, R., Wrolstad, R. E. (2002): A novel zwitterionic anthocyanin from evergreen blackberry (*Rubus laciniatus* Willd.). *Journal of agricultural and food chemistry*, 50(2), 396-399.
- Stoyanova, T., Minev, I., Hristov, S. (2009): Raspberry production in Bulgaria. *Vočarstvo*, 43(165/166), 59-64.
- Stratil, P., Kuban, V., Fojtova, J. (2008): Comparison of the phenolic content and total antioxidant activity in wines as determined by spectrophotometric methods. *Czech Journal of Food Sciences*, 26(4), 242-253.
- Strik, B. C., Clark, J. R., Finn, C. E., Bañados, M. P. (2007): Worldwide blackberry production. *Hort Technology*, 17(2), 205-213.

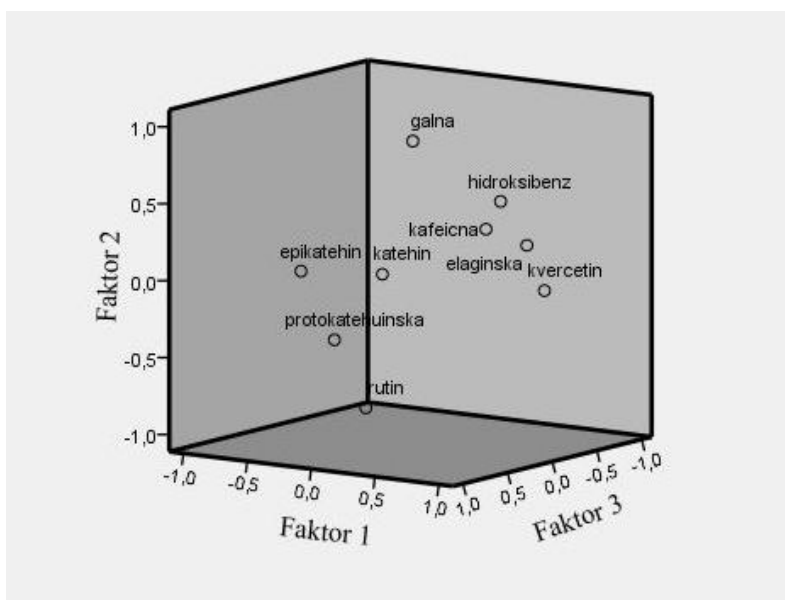
- Strik, B. C., Finn, C. E. (2011): Blackberry production systems-a worldwide perspective. In X International Rubus and Ribes Symposium, Zlatibor, Serbia, pp. 341-347.
- Suzzi, G., Romano, P., Zambonelli, C. (1985): Saccharomyces strain selection in minimizing SO₂ requirement during vinification. American journal of enology and viticulture, 36(3), 199-202.
- Talcott, S. T. (2007): Chemical components of berry fruits. In: Zhao, Y. (Ed.), Berry Fruits: value-added products for health promotion. Taylor & Francis Group, Boca Raton, pp. 51-73.
- Tian, Q., Giusti, M. M., Stoner, G. D., Schwartz, S. J. (2006): Characterization of a new anthocyanin in black raspberries (*Rubus occidentalis*) by liquid chromatography electrospray ionization tandem mass spectrometry. Food Chemistry, 94(3), 465-468.
- Tomas-Barberan, F. A., Clifford, M. N. (2000): Dietary hydroxybenzoic acid derivatives and their possible role in health protection. J Sci Food Agric, 80, 1024-1032.
- Tunstall-Pedoe H, for the MONICA Project Principal Investigators. (1988): The World Health Organization MONICA Project (monitoring trends and determinants in cardiovascular disease): a major international collaboration. Journal of clinical epidemiology, 41(2), 105-114.
- Vannozzi, A., Dry, I. B., Fasoli, M., Zenoni, S., Lucchin, M. (2012): Genome-wide analysis of the grapevine stilbene synthase multigenic family: genomic organization and expression profiles upon biotic and abiotic stresses. BMC plant biology, 12(1), 1.
- Wada, L., Ou, B. (2002): Antioxidant activity and phenolic content of Oregon caneberries. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 50(12), 3495-3500.
- Wang, S. Y., Maas, J. L., Payne, J. A., Galletta, G. J. (1995): Ellagic acid content in small fruits, mayhaws, and other plants. Journal of Small Fruit & Viticulture, 2(4), 39-49.
- Williner, M. R., Pirovani, M. E., Güemes, D. R. (2003): Ellagic acid content in strawberries of different cultivars and ripening stages. Journal of the Science of Food and Agriculture, 83(8), 842-845.
- Wiseman, S., Mulder, T., Rietveld, A. (2001): Tea flavonoids: bioavailability in vivo and effects on cell signaling pathways in vitro. Antioxidants and Redox Signaling, 3(6), 1009-1021.

- Wrolstad, R. E., Durst, R. W., Lee, J. (2005): Tracking color and pigment changes in anthocyanin products. *Trends in Food Science & Technology*,16(9), 423-428.
- Wu, X., Beecher, G. R., Holden, J. M., Haytowitz, D. B., Gebhardt, S. E., Prior, R. L. (2006): Concentrations of anthocyanins in common foods in the United States and estimation of normal consumption. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(11), 4069-4075.
- Wu, X., Prior, R. L. (2005): Systematic identification and characterization of anthocyanins by LC/MS-ESI-MS/MS in common foods in the United States: fruits and berries. *Journal of agricultural and food chemistry*, 53(7), 2589-2599.
- Yang, C. S., Landau, J. M., Huang, M. T., Newmark, H. L. (2001): Inhibition of carcinogenesis by dietary polyphenolic compounds. *Annual review of nutrition*, 21(1), 381-406.
- Zadernowski, R., Naczk, M., Nesterowicz, J. (2005): Phenolic acid profiles in some small berries. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(6), 2118-2124.
- Zafrilla, P., Ferreres, F., Tomás-Barberán, F. A. (2001): Effect of processing and storage on the antioxidant ellagic acid derivatives and flavonoids of red raspberry (*Rubus idaeus*) jams. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*,49(8), 3651-3655.
- <http://faostat3.fao.org/browse/Q/QC/E>

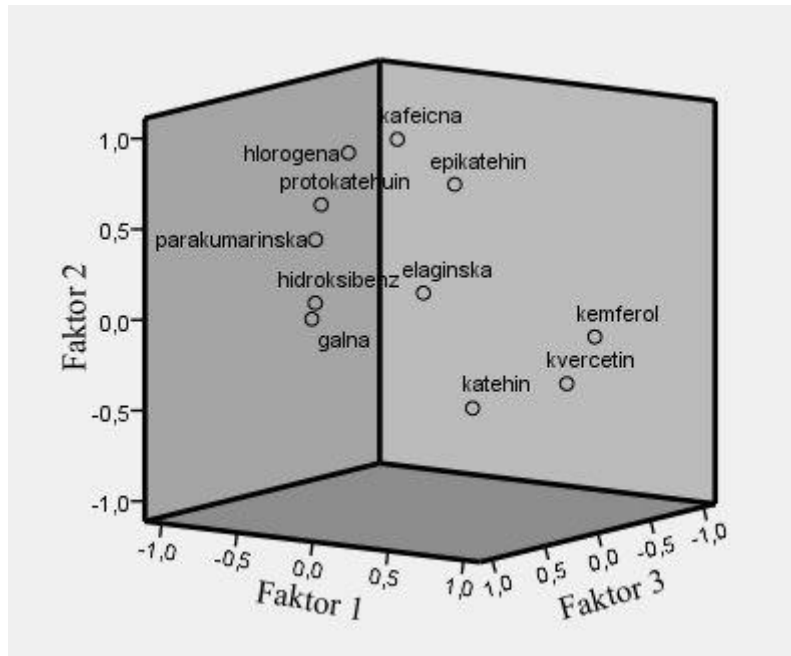
PRILOZI



Prilog 1. Grafikon PCA analize za vino od divlje kupine



Prilog 2. Grafikon PCA analize za vino od sorte kupine Čačanska bestrna



Prilog 3. Grafikon PCA analize za vino od sorte maline Miker

BIOGRAFIJA AUTORA

Radovan M. Đorđević je rođen 20.02.1982. godine u Aleksandrovcu, Republika Srbija. Diplomirao je na Poljoprivrednom fakultetu Univerziteta u Beogradu 2008. godine sa prosečnom ocenom u toku studija 8.11 (osam jedanaest) i ocenom 10 (deset) na diplomskom ispitu.

Doktorske akademske studije na istom fakultetu upisao je školske 2008/09. godine na smeru Prehrambena tehnologija. Učesnik je na jednom domaćem projektu: “Razvoj novih enzimskih tehnologija za proizvodnju biokatalizatora i biološki aktivnih komponenata hrane u cilju povećanja njene konkurentnosti kvaliteta i bezbednosti”.

U toku doktorskih studija je bio na dva studijska boravka u inostranstvu u trajanju od po 5 (pet) nedelja, na Biotehničkom fakultetu u Ljubljani i VTT biotehničkom istraživačkom centru Finske u Helsinkiju, u okviru “Food and Agriculture COST action” programa (COST action FA0907, Yeast flavour production – New biocatalysts and novel molecular mechanisms - BIOFLAOUR).

Autor je i koautor 3 naučna rada objavljena u uglednim inostranim časopisima i preko 10 naučnih radova u međunarodnim i domaćim časopisima sa recenzijom i u zbornicima radova sa međunarodnih i domaćih skupova.

Прилог 1.

Изјава о ауторству

Потписани-а Радован Ђорђевић

Број индекса или пријаве докторске дисертације 08/48

Изјављујем

да је докторска дисертација под насловом:

“Утицај начина винификације на антиоксидативни капацитет воћних вина”

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

Потпис докторанда

У Београду, 12.02.2016. godine

Прилог 2.

Изјава о истоветности штампане и електронске верзије докторске дисертације

Име и презиме аутора _____ Радован Ђорђевић _____
Број индекса или пријаве докторске дисертације _____ 08/48 _____
Студијски програм _____ Прехрамбена технологија _____
Наслов докторске дисертације _____ “Утицај начина винификације на антиоксидативни капацитет воћних вина” _____
Ментор _____ Проф. др Нинослав Никићевић _____

Потписани/а _____ Радован Ђорђевић _____

Изјављујем да је штампана верзија моје докторске дисертације истоветна електронској верзији коју сам предао/ла за објављивање на порталу **Дигиталног репозиторијума Универзитета у Београду**.

Дозвољавам да се објаве моји лични подаци везани за добијање академског звања 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 докторанда

У Београду, _____ 12.02.2016. године _____

Прилог 3.

Изјава о коришћењу

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

“Утицај начина винификације на антиоксидативни капацитет воћних вина”

која је моје ауторско дело.

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

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

1. Ауторство
2. Ауторство - некомерцијално
3. **Ауторство – некомерцијално – без прераде**
4. Ауторство – некомерцијално – делити под истим условима
5. Ауторство – без прераде
6. Ауторство – делити под истим условима

(Молимо да заокружите само једну од шест понуђених лиценци, кратак опис лиценци дат је на крају).

Потпис докторанда

У Београду, 12.02.2016. године