



UNIVERZITET U NIŠU
MEDICINSKI FAKULTET



Bojana M. Miladinović

**POTENCIJALNA UPOTREBA SOKOVA I
EKSTRAKTA BILJNIH SORTI CRNE RIBIZLE
(*Ribes nigrum* L.) KAO FUNKCIONALNE HRANE**

doktorska disertacija

Niš, 2015.



UNIVERSITY OF NIŠ
FACULTY OF MEDICINE



Bojana M. Miladinović

**POTENTIAL USE OF BLACK CURRANTS
(*Ribes nigrum* L.) JUICES AND EXTRACTS AS
FUNCTIONAL FOOD**

doctoral thesis

Niš, 2015.

Mentor: **Prof. dr Dušanka Kitić**, redovni profesor na Medicinskom fakultetu
Univerziteta u Nišu

Članovi Komisije za ocenu i odbranu doktorske disertacije:

Prof. dr Dušica Stojanović, predsednik

Medicinski fakultet Univerzitet u Nišu

Prof. dr Dušanka Kitić, mentor i član

Medicinski fakultet Univerzitet u Nišu

Prof. dr Suzana Branković, član

Medicinski fakultet Univerzitet u Nišu

Prof. dr Tatjana Mihajlov-Krstev, član

Prirodno-matematički fakultet Univerzitet u Nišu

Naučni savetnik dr Katarina Šavikin, počasni član

Institut za proučavanje lekovitog bilja „Dr Josif Pančić“ Beograd

Datum odbrane: _____

Zahvalnost

Izrada ove doktorske disertacije ne bi bila moguća bez pomoći i saradnje grupe ljudi koji su mi, svako na svoj način i u okvirima svojih znanja i umeća, pomogli da ovaj rad dosegne dubinu i opseg naučnog rada i formu koja ga čini preglednim i korisnim za dalje istraživače.

Ne mogu dovoljno rečima da iskažem zahvalnost ljudima koji su mi pomogli u izradi ovog rada:

***Prof. dr Dušanki Kitić**, za svakovrsnu i nesebičnu pomoć, pokretačku snagu, upornost, strpljivost, znanje, profesionalizam, ljudskost i prijateljstvo.*

***Prof. dr Suzani Branković**, čije su znanje i stručno usmeravanje postojali od samog početka izrade ovog rada.*

***Prof. dr Dušici Stojanović** na proceni i oceni ove doktorske disertacije.*

***Prof. dr Tatjani Mihailov-Krstev** za nesebičnu pomoć i strpljenje pri izradi disertacije.*

*Posebnu zahvalnost dugujem naučnim savetnicima **dr Nebojši Menkoviću**, kao i **dr Katarini Šavikin**, rukovodiocu projekta III 46013, na prilici da budem deo jednog velikog i interesantnog projekta, a bez čije finansijske podrške ovo istraživanje bi bilo teško izvodljivo.*

***Docentu Bobanu Đorđeviću** za odgajanje i prikupljanje uzoraka koji su korišćeni za analizu u izradi ove doktorske disertacije.*

***Dipl. hemičaru Slavoljubu Živanoviću**, što je pomogao da se analizira veliki broj uzoraka u kratkom vremenu.*

***Docentu Bojanu Zlatkoviću**, za pomoć pri klasifikaciji biljne vrste.*

*Dragoj kolegini **Milici Kostić** za drugarstvo, pomoć i korisne savete koje je uvek imala za mene.*

***Dragani Janković i Milici Milutinović** za nesebičnu pomoć i podršku.*

*Mojoj najboljoj, **Nini Randelović** za moralnu podršku.*

*Koristim priliku da zahvalim i kolegama sa **Katedre za Farmaciju i Katedre za Hemiju** koji su mi pružali podršku u toku izrade rada.*

***Mama, tata, Višnja**, hvala vam na podršci svake vrste i ljubavi.*

*Posebno zahvaljujem **suprug Dejanu i mojim dečacima, Dušanu i Nikoli**, na strpljenju i ljubavi kojom su me podržali u toku izrade ove teze.*

Ovo istraživanje je realizovano u okviru projekata Ministarstva za prosvetu, nauku i tehnološki razvoj Republike Srbije broj III 46013 i III 41018, i delom iz projekta Nacionalnog zdravstvenog instituta Amerike TREHB (2 D43 TW00-641).

Autor

I Autor

<i>Ime i prezime</i>	Bojana M. Miladinović
<i>Datum rođenja</i>	26.06.1978. godine, Niš, Srbija
<i>Sadašnje zaposlenje</i>	Asistent na UNO Farmacija - Bromatologija

II Doktorska disertacija

<i>Naslov</i>	Potencijalna upotreba sokova i ekstrakta biljnih sorti crne ribizle (<i>Ribes nigrum</i> L.) kao funkcionalne hrane
<i>Broj stranica</i>	207
<i>Broj slika</i>	67
<i>Broj slika u prilogu</i>	320
<i>Broj tabela</i>	30
<i>Broj bibliografskih podataka</i>	247
<i>Ustanova i mesto gde je rad izrađen</i>	Laboratorije Katedri za farmaciju, hemiju i fiziologiju Medicinskog fakulteta i Katedre za mikrobiologiju Prirodno-matematičkog fakulteta i u Laboratoriji za hromatografiju Naučno – istraživačkog centra za biomedicinu, Univerziteta u Nišu
<i>Naučna oblast</i>	Farmacija, Toksikologija, Bromatologija
<i>Mentor</i>	Prof. dr Dušanka Kitić

III Ocena i odbrana

<i>Datum prijave teme</i>	29.05.2014.
<i>Datum odbrane teme</i>	
<i>Komisija za ocenu podobnosti teme i kandidata</i>	Prof. dr Dušica Stojanović, predsednik Prof. dr Dušanka Kitić, mentor i član Prof. dr Suzana Branković, član
<i>Komisija za ocenu i odbranu doktorske disertacije</i>	Prof. dr Dušica Stojanović, predsednik Prof. dr Dušanka Kitić, mentor i član Prof. dr Suzana Branković, član Prof. dr Tatjana Mihajilov-Krstev, član Dr Katarina Šavikin, počasni član
<i>Datum odbrane doktorske disertacije</i>	

IV Naučni doprinos doktorske disertacije

Miladinovic Bojana, Kostic Milica, Savikin Katarina, Djordjevic Boban, Mihajilov-Krstev Tatjana, Zivanovic Slavoljub, Kitic Dusanka. Chemical Profile and Antioxidative and Antimicrobial Activity of Juices and Extracts of 4 Black Currants Varieties (*Ribes nigrum* L.) JOURNAL OF FOOD SCIENCE, (2014). vol. 79 (3): 301-9.

Potencijalna upotreba sokova i ekstrakta biljnih sorti crne ribizle (*Ribes nigrum* L.) kao funkcionalne hrane

Rezime

Uvod. Crne ribizle (*Ribes nigrum* L.) pripadaju grupi jagodastog voća, i u Srbiji su introdukovane početkom XX veka. U našoj zemlji postoje dobri agroklimatski uslovi za uspešno gajenje ribizle. Prema podacima Organizacije za hranu i poljoprivredu Ujedinjenih nacija (FAO - Food and Agriculture Organization) i Republičkog zavoda za statistiku Srbije od 2007. godine uzgoj ribizli je u porastu. Crna ribizla se ističe svojim polifenolnim sastavom i sadržajem vitamina C. Poznato je da ova jedinjenja sprečavaju i pomažu u lečenju mnogih bolesti kao što su kardiovaskularne bolesti, dijabetes i maligniteti - hronične nezarazne bolesti (HNB). Antocijani, jedna od najzastupljenijih klasa polifenola, pored antioksidativne i protektivne uloge, odgovorna je za boju ribizli zbog čega se u industriji hrane koriste kao prirodne boje. Upotreba crnih ribizli proširila se poslednjih decenija sa boja i aroma u hrani i pićima, na funkcionalnu hranu, aditive u formi antioksidanasa u mesu i konzervanase u mesnim proizvodima. Činjenica da hemijski sastav crnih ribizli zavisi i od genotipa biljne vrste navela je istraživače da dizajniraju i ispituju nove sorte crnih ribizli. Zato je sprovedeno istraživanje imalo je za cilj da ispita biološki, biohemijski i mikrobiološki profil, kao i mogućnost upotrebe sokova četiri sorte crne ribizle *Ribes nigrum* L. – Triton, Tenah, Ben Sarek i Ometa, kao funkcionalne hrane i njihovih ekstrakta, kao dijetetskih suplemenata. Tačnije, određena je antioksidativna i antimikrobna aktivnost, ukupni i dominantni antocijani, ukupni polifenoli i tanini, flavonoidi i vitamin C. Ispitivanje je obuhvatilo i određivanje biološke aktivnosti u vidu ispitivanja dejstva sokova i ekstrakta na glatku muskulaturu tankog creva pacova, kao i sposobnost da redukuju krvni pritisak i kontrakciju pretkomora srca kunića. Istraživanje je obuhvatilo i uticaj agroekoloških faktora na hemijski sastav svake sorte i da li postoji statistički značajna razlika u promeni sastava i fiziološke aktivnosti usled godišnjih promena temperature vazduha i količine padavina u periodima cvetanja, rasta i razvoja ploda ribizli.

Metode. Sva 4 ispitivana varijeteta uzgajana su na teritoriji Srbije, gajena u sistemu integrativne zaštite, i sakupljana u toku tri uzastopne godine (2008-2010). Sokovi su pravljani od svežih, neoštećenih plodova, a ekstrakti rastvaranjem soka u vodi, etanolu (96, 80 i 70%) i metanolu (100, 80 i 70%) i uparavanjem do suva. Sadržaj vitamin C, antocijana i flavonoida u

sokovima i ekstraktima plodova crnih ribizli, određivan je tečnom hromatografijom pod visokim pritiskom (HPLC). Ukupni polifenoli i tanini određivani su Folin-Ciocalteu metodom. Sadržaj ukupnih antocijana u sokovima i ekstraktima crne ribizle urađen je po propisu Evropske Farmakopeje 6.0. Antioksidativna aktivnost je određivana kao sposobnost sokova i ekstrakta da vežu slobodni radikal (pomoću DPPH-metode) i kao sposobnost da spreče lipidnu peroksidaciju β -karotena u emulziji β -karoten/linolna kiselina. Ispitivanje *in vitro* antimikrobne aktivnosti sokova i ekstrakta crnih ribizli vršeno je mikrodilucionom metodom, pomoću tipskih laboratorijskih sojeva bakterija i gljiva nabavljenih od American Type Culture Collection (ATCC). Gram (+) bakterije upotrebljavane za ispitivanje sokova i ekstrakta su *Bacillus cereus* ATCC 10876, *Lysteria monocytogenes* ATCC 15313 i *Staphylococcus aureus* ATCC 6538. Gram (-) bakterije su bile *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 i *Salmonella enteridis* ATCC 13076. *Candida albicans* ATCC 10231 i *Aspergillus niger* ATCC 16404 upotrebljavani su za procenu antifungalne aktivnosti. Spazmolitička aktivnost sokova i ekstrakata crne ribizle ispitivana je na izolovanom ileumu pacova, pri čemu je praćen uticaj na spontane kontrakcije, i na kalijum-hloridom (KCl) i acetilholinom (Ach) indukovane kontrakcije. Ispitivano je i dejstva sokova i ekstrakta crne ribizle na srednji arterijski krvni pritisak i frekvencu srčanog rada, na kunićima. Sve eksperimentalne procedure su vršene u skladu sa Evropskom Direktivom 2010/63/EU za eksperimente na životinjama, uz odobrenje Etičkog komiteta (rešenje broj 01-206-7).

Rezultati. Dobijeni rezultati su pokazali da postoji statistički značajna razlika u skoro svim ispitivanim parametrima istih sorti između godina. Najveći sadržaj ukupnog vitamina C imao je sok sorte Tenah iz 2010. godine (211.64 ± 17.7 mg/100 g). Od ekstrakta je najveći sadržaj pokazao etanolni ekstrakt sorte Tenah iz 2010. godine (771.48 ± 29.36 mg/100 g). Sok Omete iz 2010. godine je najbogatiji u sadržaju polifenola. Najveći sadržaj ukupnih antocijana nalazi se u soku sorte Tenah iz 2008. godine (0.11%). Delfinidin-3-O-rutenozid (D3R) je dominantan antocijan u sortama Triton, Tenah i Ben Sarek u sve tri godine, i Omete u 2010. Cijanidin-3-O-rutinozid (C3R) je drugi antocijan po količini zastupljen kod sorti Triton, Tenah i Ben Sarek. Cijanidin-3-O-glukozid (C3G) je detektovan u najmanjoj količini u uzorcima sve 4 sorte. Tenah, Ben Sarek i Ometa imale najveći sadržaj antocijana u 2009. godini, karakterističnoj po velikoj količini padavina, dok je Triton bio najbogatiji u njihovom sadržaju u 2008, koju je karakterisala prosečna temperatura i količina padavina. Tenah i Ben Sarek su imali najmanji sadržaj antocijana u 2008, a

Triton i Ometa u 2010. godini. Najbolji sadržaj D3G ekstrahovan je koncentrovanim metanolom i 70% metanolom iz sorte Tritona 2008. i iznosio je 97.71 ± 5.1 i 109.54 ± 3.7 mg/100 g, respektivno. Etanolom je najveći sadržaj ekstrahovan kod sorte Ometa iz 2008. i iznosio je 67.71 ± 2.14 mg/100 g za D3G i 59.44 ± 2.16 mg/100 g za C3G. Najzastupljeniji flavonoid u svim uzorcima je miricetin, a 2008. je godina u kojoj je određen njihov najveći sadržaj. Čist etanol se pokazao kao najbolje ekstrakciono sredstvo flavonoida. Ne postoji značajna razlika u sadržaju flavonoida ekstrahovanih etanolom, 80% i 70% etanolom. Najveći sadržaj miricetina sadrži sok sorte Triton iz 2008 (191.51 ± 8.30 µg/100 mg soka), etanolni ekstrakt (55.81 ± 3.25 µg/100 mg ekstrakta) kao i 80% etanolni ekstrakt (56.92 ± 2.20 µg/100 mg). Najbolju antioksidativnu (AO) aktivnost, određenu uz DPPH-radikal i izraženu preko IC_{50} vrednosti, pokazali su sokovi sorte Ometa iz 2008. i 2009. godine (0.09 ± 0.01 mg/ml), kao i sok sorte Tenah iz 2009. godine (0.09 ± 0.01 mg/ml). Sokovi sorte Ometa pokazali su visoku negativnu korelaciju IC_{50} sa ukupnim polifenolima ($r = -0.911$), kao i visoku negativnu korelaciju sa D3R ($r = -0.984$), D3G ($r = -0.941$) i C3R ($r = -0.924$). Ekstrakti sorte Tenah iz 2008. i 2010, imaju jedne od najboljih vrednosti IC_{50} među sortama. Najbolju inhibiciju lipidne peroksidacije u emulziji β -karoten/linolna kiselina pokazao je ponovo sok Ometa iz 2009. godine (0.08 ± 0.01 mg/ml). Ekstrakti su delovali u koncentracijama koje su niže u poređenju sa koncentracijama sokova. Ispitivani sokovi i ekstrakti pokazali su antimikrobnu aktivnost ka različitim alimentarnim i patogenim mikroorganizmima. Minimalne inhibitorne (MIC) i baktericidne koncentracije (MBC) bile su u rasponu od 0.4 do 500 mg/mL za sokove i 0.4 do 500 mg/mL za ekstrakte. Nije bilo značajne razlike u dejstvu prema Gram (+) i Gram (-) bakterijama. Fungalni soj *A. niger* je pokazao najveću rezistentnost i prema sokovima i prema ekstraktima, gde su MIC i MBC bile od 125 do 500 mg/mL. *C. albicans* je bila osetljivija na dejstvo sokova ispitivanih sorti. Najosetljiviji sojevi su bili *L. monocytogenes* i *P. aeruginosa*. Rezultati *in vitro* ispitivanja pokazali su da sokovi i ekstrakti crne ribizle ispoljavaju relaksantno dejstvo na spontane kontrakcije tankog creva pacova, kontrakcije indukovane KCl i acetilholinom, što ukazuje da su ekstrakti i sokovi biološki aktivni. Od ekstrakta je najbolje dejstvo pokazao vodeni ekstrakt sorte Ometa iz 2010. godine, koji je u koncentraciji od 1mg/ml inhibirao spontane kontrakcije ileuma za $52.08 \pm 4.71\%$, a u koncentraciji od 3 mg/ml $57.94 \pm 3.44\%$ ($p < 0.05$). Od sokova je najbolje delovao Ben Sarek iz 2010. godine koji je u koncentraciji od 1 mg/ml relaksirao spontane kontrakcije tankog creva za $57.81 \pm 6.49\%$, a sa 3 mg/ml $63.39 \pm 4.85\%$. Vodeni ekstrakt Tritona

iz 2008. godine (3 mg/ml), pokazao je najbolji efekat na crevu prekontrahovanom 80 mM KCl, i relaksirao kontrakcije ileuma za $47.27 \pm 9.95\%$ ($p < 0.05$). Kod sokova je najbolji efekat pokazao sok sorte Tenah iz 2010 (1 mg/ml) koji je relaksirao ileum za $53.82 \pm 4.38\%$ ($p < 0.01$). Vodeni ekstrakti crne ribizle izazivaju statistički značajnu depresiju kumulativne koncentracione krive izazvane acetilholinom ($p < 0.01$). Najbolje efekte su pokazali vodeni ekstrakti Tenaha iz 2009. godine koji je u koncentraciji od 3 mg/ml doveo je do inhibicije kontrakcija indukovanih Ach za $74.21 \pm 3.28\%$ i Ben Sareka iz 2008. godine, koji je u istoj koncentraciji smanjio kontrakcije za $66.16 \pm 5.28\%$ ($p < 0.01$). Od sokova su najbolju aktivnost ispoljili sok sorte Ben Sarek iz 2010. koji je u količini od 3 mg/ml relaksirao tanko crevo za $80.62 \pm 4.44\%$ ($p < 0.01$). Intravenska primena sokova crnih ribizli Tenah, Ben Sarek, Ometa i Triton, dovela je do sniženja srednjeg arterijskog krvnog pritiska kod anesteziranih kunića. Najbolje se pokazao sok Ben Sareka iz 2010. godine, koji je u dozi od 166.5 mg/ml doveo do smanjenja krvnog pritiska od $40.52 \pm 2.95\%$ i frekvencija srčanog rada za $34.01 \pm 2.35\%$. Dobar efekat je pokazao i sok iste sorte iz 2009. godine, koji je snizio pritisak za $36.99 \pm 4.52\%$ i frekvencu za 32.24 ± 1.85 .

Zaključak. Ispitivanja na sokovima i ekstraktima plodova sorti crnih ribizli (*Ribes nigrum* L.) Ben Sarek, Ometa, Triton i Tenah pokazala su da se svaka sorta razlikuje od ostalih po hemijskom sastavu i biološkim aktivnostima koje pokazuje. Sorte Ben Sarek i Ometa preporučuju se kao sorte sa najboljim biološkim dejstvom na kardiovaskularni i gastrointestinalni sistem. Sorta Ometa se ističe najboljim karakteristikama među svim testiranim sokovima i ekstraktima. Pored toga, na osnovu ove studije, mogu se izvući značajne smernice za selekciju sirovina i mesta za sadnju (proizvodnju, uzgoj) crnih ribizli za dalju komercijalnu upotrebu.

Ključne reči: crna ribizla, polifenoli, antocijani, flavonoidi, antioksidativna aktivnost, antimikrobna aktivnost, spazmolitičko dejstvo, hipotenzivno delovanje, sok, ekstrakt.

Naučna oblast: Farmacija

Uža naučna oblast: Bromatologija, Toksikologija

UDK: 615:613.262

Potential use of black currants (*Ribes nigrum* L.) juices and extracts as functional food

Summary

Introduction. Black currants (*Ribes nigrum* L.) are berries, introduced in Serbia in the early XX century. There are good agro-climatic conditions for successful cultivation of berries in our country. According to Food and Agriculture Organization (FAO) and Statistical office of the Republic of Serbia production of black currants is on the rise since 2007. Black currants are widely appreciated for their polyphenol composition and vitamin C content. It is known that these compounds prevent and aid the treatment of many diseases such as cardiovascular disease, diabetes and malignancies - chronic non-communicable diseases (CNB). Anthocyanins, the most abundant class of polyphenols, among antioxidant and protective roles, are responsible for the color of black currants and are used in food industry as natural colorants. In the past decade, the use of black currants has spread from the use of their color and flavors in foods and beverages, to their use as functional foods, and additives in the form of antioxidants in meat and preservatives in meat products. The fact that the chemical composition of black currant depends on the plant genotype, led researchers to design and test new varieties of black currants. The aim of this research was to investigate the biological, biochemical and microbiological profile, as well as the possibility of using the juices of four black currant varieties *Ribes nigrum* L. - Triton, Tenah, Ben Sarek and Ometa as functional food and their extracts, as dietary supplements. Antioxidant and antimicrobial activity were determined, as well as total and dominant anthocyanins, total polyphenols and tannins, flavonoids and vitamin C. The study included the effects of juices and extracts on the smooth muscles of rat small intestine, as well as the ability to reduce blood pressure and contraction of the rabbit atria. The research also included the impact of agro-ecological factors on the chemical composition of each variety and statistically significant difference in changes in the composition and physiological activity due to annual changes in air temperature and precipitation in periods of flowering, growth and development of black currants.

Methods. All four tested varieties were grown on the territory of Serbia, cultivated in integrative protection practice and collected during three consecutive years (2008-2010). Juices were made from fresh, undamaged berries, and the extracts were made by the juices dissolved in water, ethanol (96, 80 and 70%) and methanol (100, 80, and 70%) and being evaporated to

dryness. The vitamin C content, anthocyanins and flavonoids in black currant juices and extracts were determined by high performance liquid chromatography (HPLC). Total polyphenols and tannins were determined by Folin-Ciocalteu method. The total anthocyanins content in black currant juices and extracts was determined according to the European Pharmacopoeia 6.0. The antioxidant activity was measured as the ability of juices and extracts to bind free radicals (by DPPH-method) and as the ability to prevent lipid peroxidation of β -carotene in β -carotene/linoleic acid emulsion. *In vitro* antimicrobial activity of black currant juices and extracts was performed with microdilution method, using standard laboratory strains of bacteria and fungi, obtained from the American Type Culture Collection (ATCC). The gram (+) bacteria used for testing of juices and extract were *Bacillus cereus* ATCC 10876, *Lysteria monocytogenes* ATCC 15313 and *Staphylococcus aureus* ATCC 6538. The gram (-) bacteria used were *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 and *Salmonella enteridis* ATCC 13076. *Candida albicans* ATCC 10231 and *Aspergillus niger* ATCC 16404 were used for evaluation of antifungal activity. The spasmolytic activity of black currant juices and extracts was tested on the isolated rat ileum monitoring its influence on the spontaneous contractions, as well as on potassium chloride (KCl) and acetylcholine (Ach) induced contractions. The effects of black currant juices and extracts were examined on the mean arterial blood pressure and heart rate frequency, in rabbits. All experimental procedures were performed in accordance with the European Directive 2010/63/EU for animal experiments, with the approval of the Ethics Committee (Decision No. 01-206-7).

Results. The results showed a statistically significant difference in almost all the tested parameters of the same varieties between years. The highest content of total vitamin C was found in 2010 Tenah variety juice (211.64 ± 17.7 mg/100 g). 2010 Tenah variety ethanol extract showed the highest content among extracts (771.48 ± 29.36 mg/100 g). 2010 Ometa juice was the richest in the polyphenol content. The highest total anthocyanin content was found in 2008 Tenah variety juice (0.11%). Delphinidin-3-O-ruthenoside (D3R) was the dominant anthocyanin among Triton, Tenah and Ben Sarek varieties in all three years, and in 2010 Ometa. The amount of cyanidin-3-O-ruthenoside (C3R) was the second highest among anthocyanins present in the Triton, Tenah and Ben Sarek cultivars. Cyanidin-3-O-glucoside (C3G) was detected in the smallest amounts in samples of all 4 varieties. Tenah, Ben Sarek and Ometa had the highest content of anthocyanins in 2009, the year characterized by a large amount of rainfall, while

Triton was the richest in 2008, the year characterized by average temperatures and precipitation. Tenah and Ben Sarek exhibited the lowest content of anthocyanins in 2008, and Triton and Ometa in 2010. The highest D3G content was extracted with both, concentrated and 70% methanol from 2008 Triton variety and was 97.71 ± 5.1 and 109.54 ± 3.7 mg/100 g, respectively. Ethanol extracted the highest content of anthocyanins in 2008 Ometa variety and it was 67.71 ± 2.14 mg/100 g for D3G and 59.44 ± 2.16 mg/100 g of C3G. The most common flavonoid in all samples was myricetin, and the year with highest content determined was 2008. The best flavonoids extracting reagent proved to be pure ethanol. There was no significant difference in the content of flavonoids extracted with pure ethanol, 80% and 70% ethanol. 2008 Triton variety juice contained the highest content of myricetin (191.51 ± 8.30 mg/100 mg juice), ethanol extract (55.81 ± 3.25 mg/100 mg of extract) and 80% ethanol extract (56.92 ± 2.20 mg / 100 mg). 2008 and 2009 Ometa variety juices showed the best antioxidant (AO) activity, determined by the DPPH method and expressed as IC_{50} values (0.09 ± 0.01 mg / ml), as well as 2009 Tenah variety juice (0.09 ± 0.01 mg/ml). IC_{50} values of Ometa juices showed a high negative correlation with a total polyphenol content ($r = -0.911$) as well as with D3R ($r = -0.984$), D3G ($r = -0.941$) and C3R ($r = -0.924$). The extracts of 2008 and 2010 Tenah variety had one of the best IC_{50} values among varieties. 2009 Ometa juice showed the best inhibition of lipid peroxidation in the emulsion β -carotene/linoleic acid (0.08 ± 0.01 mg/ml). The extracts were active at concentrations that were lower comparing to juices. The tested juices and extracts showed antimicrobial activity to various foodborne pathogens and microorganisms. The minimal inhibitory concentrations (MIC) and bactericidal concentrations (MBC) ranged from 0.4 to 500 mg/ml for the juices and 0.4 to 500 mg/ml for the extracts. There was no significant difference in the effect of Gram (+) and Gram (-) bacteria. The fungal strain of *A. niger* showed the greatest resistance to the juices as well as the extracts, where the MIC and MBC were from 125 to 500 mg/ml. *C. albicans* was more sensitive to the juices of the tested varieties. The most sensitive strains were *L. monocytogenes* and *P. aeruginosa*. The results of in vitro studies showed that juices and extracts of black currants exhibit relaxant effect on the spontaneous contractions of the rats small intestine, KCl and acetylcholine induced contraction, which indicated that extracts and juices are biologically active. The aqueous extract of 2010 Ometa variety exhibited the best effect which, at concentration of 1mg/ml, inhibited the spontaneous contractions of the ileum by $52.08 \pm 4.71\%$, and at concentration of 3 mg/ml $57.94 \pm 3.44\%$ ($p < 0.05$). 2010 Ben Sarek juice showed the best result which, at concentration of 1 mg/ml, inhibited spontaneous contractions of the small

intestine by $57.81\% \pm 6.49$ and at 3 mg/ml $63.39 \pm 4.85\%$. The aqueous extract 2008 Triton (3 mg/ml), showed the best effect on the intestine precontracted with 80 mM KCl, and relaxed ileum contraction by $47.27 \pm 9.95\%$ ($p < 0.05$). 2010 Tenah juice had the best effect (1 mg/ml), relaxing the ileum by $53.82 \pm 4.38\%$ ($p < 0.01$). The water extracts of black currant caused statistically significant depression of cumulative concentration curves induced by acetylcholine. The aqueous extracts of 2009 Tenah had top effect leading, at concentration of 3 mg/ml, to the inhibition of contractions induced by Ach by $74.21 \pm 3.28\%$ and in 2008 Ben Sarek which, in the same concentration, decreased the contraction by $66.16 \pm 2.85\%$ ($p < 0.01$). 2010 Ben Sarek juice expressed the best activity among juices which, in amount of 3 mg/ml, relaxed the small intestine contractions by $80.62 \pm 4.44\%$ ($p < 0.01$). The intravenous application of black currant Tenah, Ben Sarek, Ometa and Triton juices, led to a decrease in mean arterial blood pressure in anesthetized rabbits. 2010 Ben Sarek juice had the best result, which in the dose of 166.5 mg/ml reduced blood pressure by $40.52 \pm 2.95\%$ and heart rate frequency by $34.01 \pm 2.35\%$. The juice of the same variety from 2009 also had good effect, reducing the pressure for $36.99 \pm 4.52\%$ and frequency by 32.24 ± 1.85 .

Conclusion. The evaluation of black currants (*Ribes nigrum* L.) Ben Sarek, Ometa, Triton and Tenah juices and extracts showed that each variety differs from another in chemical composition and biological activities. Ben Sarek and Ometa varieties are recommended as the one with the best biological effect on the cardiovascular and gastrointestinal systems. Ometa variety stands out with the best features among all the tested juices and extracts. In addition, this study provides meaningful guidelines for the selection of raw materials and places for planting (production, breeding) black currants for further commercial use.

Keyword: black currant, polyphenols, anthocyanins, flavonoids, antioxidative activity, antimicrobial activity, relaxant effect, hypotensive effect, juices, extracts.

Scientific field: Pharmacy

Narrow scientific field: Bromatology, Toxicology

UDC: 615:613.262

Lista skraćenica

Ach	acetilholin
AIM	akutni infarkt miokarda
AO	antioksidativna aktivnost
ASK	askorbinska kiselina
ATCC	American Type Culture Collection
BHA	butilhidroksi anizol
BHT	butilhidroksi toluen
C3G	cijanidin-3- <i>O</i> -glukozid
C3R	cijanidin-3- <i>O</i> -rutenozid
CLSI	Clinical & Laboratory Standards Institute
CFU	colony forming units
D3G	delfinidin-3- <i>O</i> -glukozid
D3R	delfinidin-3- <i>O</i> -rutenozid
DASK	dehidroaskorbinska kiselina
EC ₅₀	efektivna koncentracija koja inhibira 50% kontrakcija glatke muskulature ileuma pacova
FGIP	funkcionalni gastrointestinalni poremećaj
FW (fresh weight)	masa svežeg voća
GI	gastrointestinalni
HA	hranljivi agar
HNB	hronične nezarazne bolesti
IC ₅₀	koncentracija uzorka koja je potrebna da inhibira 50% slobodnih DPPH radikala ili da spreči obezbojavanje 50% β -karotena
K	kemferol
KVS	kardiovaskularni sistem
KVB	kardiovaskularne bolesti
M	miricetin
MAO	monoamino oksidaza
MBC	minimalna baktericidna koncentracija
MFC	minimalna fungicidna koncentracija
MHA	Mueller–Hinton agar
MHB	Mueller–Hinton bujon
MIC	minimalna inhibitorna koncentracija
MMP-9	matriksna metaloproteinaza-9
PVPP	polivinil polipirrolidon
Q	kvercetin
ROS	reactive oxygen species (reaktivne kiseonične vrste)
PWV	pulse wave velocity (brzina pulsa na femoralnoj ili karotidnoj arteriji)
RNS	reactive nitrogen species (reaktivne azotove vrste)
SDA	saburo–dekstrozni agar
SDB	saburo–dekstrozni bujon
SZO	Svetska Zdravstvena Organizacija
TASK	Total ascorbic acid (ukupna askorbinska kiselina)
Trolox	6-hidroksi-2,5,7,8-tetrametilhroman-2-karboksilna kiselina
TTC	2,3,5-trifenil tetrazolijum hlorid
USDA NND	US Department of Agriculture National Nutrient Database

LISTA SLIKA

Slika 2.1. Staništa crne ribizle u Evropi (Atlas Florae Europaeae, 1999)	5
Slika 2.2. <i>Ribes nigrum</i> cv. Ben Sarek	7
Slika 2.3. <i>Ribes nigrum</i> cv. Ometa	7
Slika 2.4. <i>Ribes nigrum</i> cv. Tenah	8
Slika 2.5. <i>Ribes nigrum</i> cv. Triton	8
Slika 2.6. Putevi biosinteze vitamina C u biljkama	11
Slika 2.7. Opšta struktura flavonoida	16
Slika 2.8. Miricetin	20
Slika 2.9. Kvercetin	21
Slika 2.10. Kempferol	21
Slika 2.11. Delfinidin-3-O-rutinozid	24
Slika 2.12. Delfinidin-3-O-glukozid	24
Slika 2.13. Cijanidin-3-O-rutinozid	24
Slika 2.14. Cijanidin-3-O-glukozid	24
Slika 3.1. Prosečne temperature (levo) i prosečne količine padavina (desno) u periodu 2008-2010. u Misločinu	41
Slika 5.1. Relaksantni efekat vodenog ekstrakta <i>R. nigrum</i> sorte Tenah na izolovanom ileumu pacova (*p<0.05 i **p<0.01).	74
Slika 5.2. Relaksantni efekat soka <i>R. nigrum</i> sorte Tenah na izolovanom ileumu pacova (*p<0.05 i **p<0.01).	74
Slika 5.3. Relaksantni efekat vodenog ekstrakta <i>R. nigrum</i> sorte Ben Sarek na izolovanom ileumu pacova (*p<0.05 i **p<0.01).	74
Slika 5.4. Relaksantni efekat soka <i>R. nigrum</i> sorte Ben Sarek na izolovanom ileumu pacova (*p<0.05 i **p<0.01).	74
Slika 5.5. Relaksantni efekat vodenog ekstrakta <i>R. nigrum</i> sorte Triton na izolovanom ileumu pacova (*p<0.05).	74
Slika 5.6. Relaksantni efekat soka <i>R. nigrum</i> sorte Triton na izolovanom ileumu pacova (*p<0.05 i **p<0.01).	74
Slika 5.7. Relaksantni efekat vodenog ekstrakta <i>R. nigrum</i> sorte Ometa na izolovanom ileumu pacova (*p<0.05).	75
Slika 5.8. Relaksantni efekat soka <i>R. nigrum</i> sorte Ometa na izolovanom ileumu pacova (*p<0.05 i **p<0.01).	75
Slika 5.9. Inhibitorni efekat vodenog ekstrakta <i>R. nigrum</i> sorte Tenah na kontrakcije izolovanog ileuma pacova stimulisane 80 mM KCl (*p<0.05).	76
Slika 5.10. Inhibitorni efekat soka <i>R. nigrum</i> sorte Tenah na kontrakcije izolovanog ileuma pacova stimulisane 80 mM KCl (**p<0.01).	76
Slika 5.11. Inhibitorni efekat vodenog ekstrakta <i>R. nigrum</i> sorte Ben Sarek na kontrakcije izolovanog ileuma pacova stimulisane 80 mM KCl (*p<0.05).	76
Slika 5.12. Inhibitorni efekat soka <i>R. nigrum</i> sorte Ben Sarek na kontrakcije izolovanog ileuma pacova stimulisane 80 mM KCl (**p<0.01).	76
Slika 5.13. Inhibitorni efekat vodenog ekstrakta <i>R. nigrum</i> sorte Triton na kontrakcije izolovanog ileuma pacova stimulisane 80 mM KCl (*p<0.05).	77

Slika 5.14. Inhibitorni efekat soka <i>R. nigrum</i> sorte Triton na kontrakcije izolovanog ileuma pacova stimulisane 80 mM KCl (**p<0.01).	77
Slika 5.15. Inhibitorni efekat vodenog ekstrakta <i>R. nigrum</i> sorte Ometa na kontrakcije izolovanog ileuma pacova stimulisane 80 mM KCl (*p<0.05).	77
Slika 5.16. Inhibitorni efekat soka <i>R. nigrum</i> sorte Ometa na kontrakcije izolovanog ileuma pacova stimulisane 80 mM KCl (**p<0.01).	77
Slika 5.17. Inhibitorni uticaj vodenog ekstrakta <i>R. nigrum</i> sorte Tenah iz 2008. na acetilholinom indukovane kontrakcije ileuma pacova (*p<0.05 i ** p<0.01).	79
Slika 5.18. Inhibitorni uticaj vodenog ekstrakta <i>R. nigrum</i> sorte Tenah iz 2009. na acetilholinom indukovane kontrakcije ileuma pacova (*p<0.05 i ** p<0.01).	79
Slika 5.19. Inhibitorni uticaj vodenog ekstrakta <i>R. nigrum</i> sorte Tenah iz 2010. na acetilholinom indukovane kontrakcije ileuma pacova (*p<0.05).	79
Slika 5.20. Inhibitorni uticaj soka <i>R. nigrum</i> sorte Tenah iz 2008. na acetilholinom indukovane kontrakcije ileuma pacova (* p<0.05 i ** p<0.01).	79
Slika 5.21. Inhibitorni uticaj soka <i>R. nigrum</i> sorte Tenah iz 2009. na acetilholinom indukovane kontrakcije ileuma pacova (* p<0.05 i ** p<0.01).	79
Slika 5.22. Inhibitorni uticaj soka <i>R. nigrum</i> sorte Tenah iz 2010. na acetilholinom indukovane kontrakcije ileuma pacova (* p<0.05 i ** p<0.01).	79
Slika 5.23. Inhibitorni uticaj vodenog ekstrakta <i>R. nigrum</i> sorte Ben Sarek iz 2008. na acetilholinom indukovane kontrakcije ileuma pacova (* p<0.05 i ** p<0.01).	80
Slika 5.24. Inhibitorni uticaj vodenog ekstrakta <i>R. nigrum</i> sorte Ben Sarek iz 2009. na acetilholinom indukovane kontrakcije ileuma pacova (* p<0.05).	80
Slika 5.25. Inhibitorni uticaj vodenog ekstrakta <i>R. nigrum</i> sorte Ben Sarek iz 2010. na acetilholinom indukovane kontrakcije ileuma pacova (* p<0.05 i ** p<0.01).	80
Slika 5.26. Inhibitorni uticaj soka <i>R. nigrum</i> sorte Ben Sarek iz 2008. na acetilholinom indukovane kontrakcije ileuma pacova (* p<0.05 i ** p<0.01).	80
Slika 5.27. Inhibitorni uticaj soka <i>R. nigrum</i> sorte Ben Sarek iz 2009. na acetilholinom indukovane kontrakcije ileuma pacova (** p<0.01).	80
Slika 5.28. Inhibitorni uticaj soka <i>R. nigrum</i> sorte Ben Sarek iz 2010. na acetilholinom indukovane kontrakcije ileuma pacova (** p<0.01).	80
Slika 5.29. Inhibitorni uticaj vodenog ekstrakta <i>R. nigrum</i> sorte Triton iz 2008. na acetilholinom indukovane kontrakcije ileuma pacova (* p<0.05).	81
Slika 5.30. Inhibitorni uticaj vodenog ekstrakta <i>R. nigrum</i> sorte Triton iz 2009. na acetilholinom indukovane kontrakcije ileuma pacova (* p<0.05).	81

Slika 5.31. Inhibitorni uticaj vodenog ekstrakta <i>R. nigrum</i> sorte Triton iz 2010. na acetilholinom indukovane kontrakcije ileuma pacova (* $p<0.05$ i ** $p<0.01$).	81
Slika 5.32. Inhibitorni uticaj soka <i>R. nigrum</i> sorte Triton iz 2008. na acetilholinom indukovane kontrakcije ileuma pacova (** $p<0.01$).	81
Slika 5.33. Inhibitorni uticaj soka <i>R. nigrum</i> sorte Triton iz 2009. na acetilholinom indukovane kontrakcije ileuma pacova (* $p<0.05$).	81
Slika 5.34. Inhibitorni uticaj soka <i>R. nigrum</i> sorte Triton iz 2010. na acetilholinom indukovane kontrakcije ileuma pacova (** $p<0.01$).	81
Slika 5.35. Inhibitorni uticaj vodenog ekstrakta <i>R. nigrum</i> sorte Ometa iz 2008. na acetilholinom indukovane kontrakcije ileuma pacova (* $p<0.05$ i ** $p<0.01$).	82
Slika 5.36. Inhibitorni uticaj vodenog ekstrakta <i>R. nigrum</i> sorte Ometa iz 2009. na acetilholinom indukovane kontrakcije ileuma pacova (* $p<0.05$ i ** $p<0.01$).	82
Slika 5.37. Inhibitorni uticaj vodenog ekstrakta <i>R. nigrum</i> sorte Ometa iz 2010. na acetilholinom indukovane kontrakcije ileuma pacova (* $p<0.05$ i ** $p<0.01$).	82
Slika 5.38. Inhibitorni uticaj soka <i>R. nigrum</i> sorte Ometa iz 2008. na acetilholinom indukovane kontrakcije ileuma pacova (* $p<0.05$).	82
Slika 5.39. Inhibitorni uticaj soka <i>R. nigrum</i> sorte Ometa iz 2009. na acetilholinom indukovane kontrakcije ileuma pacova (* $p<0.05$ i ** $p<0.01$).	82
Slika 5.40. Inhibitorni uticaj soka <i>R. nigrum</i> sorte Ometa iz 2010. na acetilholinom indukovane kontrakcije ileuma pacova (* $p<0.05$ i ** $p<0.01$).	82
Slika 5.41. Inhibitorni uticaj soka <i>R. nigrum</i> sorte Tenah 2008 na arterijski krvni pritisak i frekvenciju srčanog rada.	84
Slika 5.42. Inhibitorni uticaj soka <i>R. nigrum</i> sorte Tenah 2009 na arterijski krvni pritisak i frekvenciju srčanog rada.	84
Slika 5.43. Inhibitorni uticaj soka <i>R. nigrum</i> sorte Tenah 2010 na arterijski krvni pritisak i frekvenciju srčanog rada.	84
Slika 5.44. Inhibitorni uticaj soka <i>R. nigrum</i> sorte Ben Sarek 2008 na arterijski krvni pritisak i frekvenciju srčanog rada.	84
Slika 5.45. Inhibitorni uticaj soka <i>R. nigrum</i> sorte Ben Sarek 2009 na arterijski krvni pritisak i frekvenciju srčanog rada.	84
Slika 5.46. Inhibitorni uticaj soka <i>R. nigrum</i> sorte Ben Sarek 2010 na arterijski krvni pritisak i frekvenciju srčanog rada.	84
Slika 5.47. Inhibitorni uticaj soka <i>R. nigrum</i> sorte Triton 2008 na arterijski krvni pritisak i frekvenciju srčanog rada.	85
Slika 5.48. Inhibitorni uticaj soka <i>R. nigrum</i> sorte Triton 2009 na arterijski krvni pritisak i frekvenciju srčanog rada.	85
Slika 5.49. Inhibitorni uticaj soka <i>R. nigrum</i> sorte Triton 2010 na arterijski krvni pritisak i frekvenciju srčanog rada.	85
Slika 5.50. Inhibitorni uticaj soka <i>R. nigrum</i> sorte Ometa 2008 na arterijski krvni pritisak i frekvenciju srčanog rada.	85
Slika 5.51. Inhibitorni uticaj soka <i>R. nigrum</i> sorte Ometa 2009 na arterijski krvni pritisak i frekvenciju srčanog rada.	85
Slika 5.52. Inhibitorni uticaj soka <i>R. nigrum</i> sorte Ometa 2010 na arterijski krvni pritisak i frekvenciju srčanog rada.	85

LISTA TABELA

Tabela 2.1. Količina vitamina C (mg/100 g) u voću, povrću i proizvodima po podacima baze nutrijenata US Department of Agriculture (USDA)	9
Tabela 3.1. Priprema standarda za izradu kalibracione krive	44
Tabela 5.1. Sadržaj ukupnog vitamina C (askorbinska+dehidroaskorbinska kiselina) i vitamina C u sokovima i ekstraktima sorte Tenah u periodu 2008-2010. godine	53
Tabela 5.2. Sadržaj ukupnog vitamina C (askorbinska+dehidroaskorbinska kiselina) i vitamina C u sokovima i ekstraktima sorte Ometa u periodu 2008-2010. godine	54
Tabela 5.3. Sadržaj ukupnog vitamina C (askorbinska+dehidroaskorbinska kiselina) i vitamina C u sokovima i ekstraktima sorte Triton u periodu 2008-2010. godine	54
Tabela 5.4. Sadržaj ukupnog vitamina C (askorbinska+dehidroaskorbinska kiselina) i vitamina C u sokovima i ekstraktima sorte Ben Sarek u periodu 2008-2010. godine	55
Tabela 5.5. Sadržaj ukupnih i dominantnih antocijana, ukupnih polifenola i tanina u sokovima i ekstraktima sorte Tenah u periodu 2008-2010. godine	57
Tabela 5.6. Sadržaj ukupnih i dominantnih antocijana, ukupnih polifenola i tanina u sokovima i ekstraktima sorte Triton u periodu 2008-2010. godine	58
Tabela 5.7. Sadržaj ukupnih i dominantnih antocijana, ukupnih polifenola i tanina u sokovima i ekstraktima sorte Ometa u periodu 2008-2010. godine	59
Tabela 5.8. Sadržaj ukupnih i dominantnih antocijana, ukupnih polifenola i tanina u sokovima i ekstraktima sorte Ben Sarek u periodu 2008-2010. godine	60
Tabela 5.9. Sadržaj flavonoida u sokovima i ekstraktima sorte Tenah u periodu 2008-2010. godine	62
Tabela 5.10. Sadržaj flavonoida u sokovima i ekstraktima sorte Ben Sarek u periodu 2008-2010. godine	62
Tabela 5.11. Sadržaj flavonoida u sokovima i ekstraktima sorte Ometa u periodu 2008-2010. godine	63
Tabela 5.12. Sadržaj flavonoida u sokovima i ekstraktima sorte Triton u periodu 2008-2010. godine	63
Tabela 5.13. Antioksidativna aktivnost sokova i ekstrakta sorte Tenah u periodu 2008-2010. godine	65
Tabela 5.14. Antioksidativna aktivnost sokova i ekstrakta sorte Ben Sarek u periodu 2008-2010. godine	66
Tabela 5.15. Antioksidativna aktivnost sokova i ekstrakta sorte Ometa u periodu 2008-2010. godine	67
Tabela 5.16. Antioksidativna aktivnost sokova i ekstrakta sorte Triton u periodu 2008-2010. godine	67
Tabela 5.17. Minimalna inhibitorna (MIC), minimalna bactericidna (MBC) i minimalna fungicidna (MFC) koncentracija u ml sokova i mg/ml ekstrakta sorte Tenah i antibiotika na testirane Gram (+) i Gram (-) bakterijske i fungalne sojeve u periodu 2008-2010. godine	69
Tabela 5.18. Minimalna inhibitorna (MIC), minimalna bactericidna (MBC) i minimalna fungicidna (MFC) koncentracija u ml sokova i mg/ml ekstrakta sorte Ben Sarek i antibiotika na testirane Gram (+) i Gram (-) bakterijske i fungalne sojeve u periodu 2008-2010. godine	70
Tabela 5.19. Minimalna inhibitorna (MIC), minimalna bactericidna (MBC) i minimalna fungicidna (MFC) koncentracija u ml sokova i mg/ml ekstrakta sorte Ometa i antibiotika na testirane Gram (+) i Gram (-) bakterijske i fungalne sojeve u periodu 2008-2010. godine	71

Tabela 5.20. Minimalna inhibitorna (MIC), minimalna bactericidna (MBC) i minimalna fungicidna (MFC) koncentracija u ml sokova i mg/ml ekstrakta sorte Triton i antibiotika na testirane Gram (+) i Gram (-) bakterijske i fungalne sojeve u periodu 2008-2010. godine	72
Tabela 5.21. Vrednosti EC ₅₀ inhibicije vodenih ekstrakta <i>R. nigrum</i> sorti Tenah, Triton, Ometa i Ben Sarek po godinama, na spontane kontrakcije ileuma	73
Tabela 5.22. Vrednosti EC ₅₀ inhibicije sokova <i>R. nigrum</i> sorti Tenah, Triton, Ometa i Ben Sarek po godinama, na spontane kontrakcije ileuma	73
Tabela 5.23. Vrednosti EC ₅₀ inhibicije vodenih ekstrakta <i>R. nigrum</i> sorti Tenah, Triton, Ometa i Ben Sarek po godinama, na kontrakcije indukovane 80 mM KCl	76
Tabela 5.24. Vrednosti EC ₅₀ inhibicije sokova <i>R. nigrum</i> sorti Tenah, Triton, Ometa i Ben Sarek po godinama, na kontrakcije indukovane 80 mM KCl	76
Tabela 5.25. Vrednosti EC ₅₀ inhibicije vodenih ekstrakta <i>R. nigrum</i> sorti Tenah, Triton, Ben Sarek i Ometa po godinama, na kontrakcije indukovane Ach	78
Tabela 5.26. Vrednosti EC ₅₀ inhibicije sokova <i>R. nigrum</i> sorti Tenah, Triton, Ben Sarek i Ometa po godinama, na kontrakcije indukovane Ach	78
Tabela 5.27. Vrednosti EC ₅₀ sokova <i>R. nigrum</i> sorti Tenah, Triton, Ometa i Ben Sarek koje izazivaju smanjenje krvnog pritiska (KP) i frekvencije (F) srčanog rada anestaziranih kunića, po godinama	83
Tabela 5.28. Procenat smanjenja krvnog pritiska (KP) i frekvencije (F) srčanog rada koju izazivaju sokovi <i>R. nigrum</i> sorti Tenah, Triton, Ometa i Ben Sarek kod anesteziranih kunića, po godinama	83

SADRŽAJ

1.	UVOD	1
1.2.	CILJ ISTRAŽIVANJA	3
2.	OPŠTI DEO	5
2.1.	FAMILIJA GROSSULARIACEAE	5
2.1.1.	Morfološke osobine roda <i>Ribes</i>	6
2.1.2.	Proučavane sorte biljne vrste <i>Ribes nigrum</i> L.	7
2.2.	VITAMIN C	8
2.3.	SEKUNDARNI METABOLITI CRNE RIBIZLE	13
2.3.1.	Polifenoli i tanini	14
2.3.2.	Flavonoidi	15
2.3.3.	Antocijani	22
2.4.	ANTIOKSIDATIVNA AKTIVNOST	25
2.5.	ANTIMIKROBNA AKTIVNOST	26
2.5.1.	Gram (-) bakterije	28
2.5.2.	Gram (+) bakterije	31
2.5.3.	Sojevi gljiva	35
2.6.	SPAZMOLITIČKA AKTIVNOST	36
2.7.	DEJSTVO NA KARDIOVASKULARNI SISTEM	38
3.	MATERIJAL I METODE	41
3.1.	BILJNI MATERIJAL	41
3.2.	ODREĐIVANJE SADRŽAJA VITAMINA C U SOKOVIMA I EKSTRAKTIMA PLODOVA <i>Ribes nigrum</i> L.	42
3.3.	ODREĐIVANJE SADRŽAJA UKUPNIH POLIFENOLA I UKUPNIH TANINA U SOKOVIMA I EKSTRAKTIMA PLODOVA <i>Ribes nigrum</i> L.	43
3.4.	ODREĐIVANJE SADRŽAJA UKUPNIH ANTOCIJANA U SOKOVIMA I EKSTRAKTIMA PLODOVA <i>Ribes nigrum</i> L.	44
3.5.	ODREĐIVANJE SADRŽAJA ANTOCIJANA U SOKOVIMA I EKSTRAKTIMA PLODOVA <i>Ribes nigrum</i> L.	45
3.6.	ODREĐIVANJE SADRŽAJA FLAVONOIDA U SOKOVIMA I EKSTRAKTIMA PLODOVA <i>Ribes nigrum</i> L.	45
3.7.	ODREĐIVANJE ANTIOKSIDATIVNE AKTIVNOSTI SOKOVA I EKSTRAKTA PLODOVA <i>Ribes nigrum</i> L.	46
3.7.1.	Određivanje sposobnosti vezivanja slobodnih radikala (DPPH metoda)	46
3.7.2.	Inhibicija obezbojavanja β -karotena	47
3.8.	ODREĐIVANJE ANTIMIKROBNE AKTIVNOSTI SOKOVA I EKSTRAKTA PLODOVA <i>Ribes nigrum</i> L.	48
3.8.1.	Mikrobiološki sojevi	48
3.8.2.	Mikrodilucionna metoda	48
3.9.	ODREĐIVANJE SPAZMOLITIČKE AKTIVNOSTI SOKOVA I EKSTRAKTA PLODOVA <i>Ribes nigrum</i> L.	49
3.10.	AKUTNO HIPOTENZIVNO DEJSTVO SOKOVA I EKSTRAKTA PLODOVA <i>Ribes nigrum</i> L.	50
4.	STATISTIČKA ANALIZA	52

5.	REZULTATI	53
5.1.	SADRŽAJ VITAMINA C U SOKOVIMA I EKSTRAKTIMA PLODOVA <i>Ribes nigrum</i> L.	53
5.2.	SADRŽAJ UKUPNIH POLIFENOLA I TANINA U SOKOVIMA I EKSTRAKTIMA PLODOVA <i>Ribes nigrum</i> L.	55
5.3.	KVALITATIVNA I KVANTITATIVNA ANALIZA ANTOCIJANA U SOKOVIMA I EKSTRAKTIMA PLODOVA <i>Ribes nigrum</i> L.	56
5.4.	SADRŽAJ FLAVONOIDA U SOKOVIMA I EKSTRAKTIMA PLODOVA <i>Ribes nigrum</i> L.	61
5.5.	ANTIOKSIDATIVNA AKTIVNOST SOKOVA I EKSTRAKTA PLODOVA <i>Ribes nigrum</i> L.	64
5.6.	ANTIMIKROBNA AKTIVNOST SOKOVA I EKSTRAKTA PLODOVA <i>Ribes nigrum</i> L.	68
5.7.	SPAZMOLITIČKA AKTIVNOST SOKOVA I EKSTRAKTA PLODOVA <i>Ribes nigrum</i> L.	73
5.7.1.	Uticaj sokova i ekstrakta plodova <i>Ribes nigrum</i> L. na spontane kontrakcije ileuma pacova	73
5.7.2.	Uticaj sokova i ekstrakta plodova <i>Ribes nigrum</i> L. na KCl indukovane kontrakcije ileuma pacova	75
5.7.3.	Uticaj sokova i ekstrakta plodova crnih ribizli (<i>Ribes nigrum</i> L.) na Ach indukovane kontrakcije izolovanog ileuma pacova	77
5.8.	HIPOTENZIVNO DEJSTVO SOKOVA I EKSTRAKTA PLODOVA <i>Ribes nigrum</i> L. I REDUKCIJA FREKVENCije SRČANOG RADA KOD KUNIĆA	83
6.	DISKUSIJA	86
6.1.	VITAMIN C U SOKOVIMA I EKSTRAKTIMA PLODOVA <i>Ribes nigrum</i> L.	86
6.2.	ANTOCIJANI U SOKOVIMA I EKSTRAKTIMA PLODOVA <i>Ribes nigrum</i> L.	88
6.3.	FLAVONOIDI U SOKOVIMA I EKSTRAKTIMA PLODOVA <i>Ribes nigrum</i> L.	89
6.4.	ANTIOKSIDATIVNA AKTIVNOST SOKOVA I EKSTRAKTA PLODOVA <i>Ribes nigrum</i> L.	91
6.5.	ANTIMIKROBNA AKTIVNOST SOKOVA I EKSTRAKTA PLODOVA <i>Ribes nigrum</i> L.	93
6.6.	SPAZMOLITIČKA AKTIVNOST SOKOVA I EKSTRAKTA PLODOVA <i>Ribes nigrum</i> L.	93
6.7.	HIPOTENZIVNO DELOVANJE I REDUKCIJA FREKVENCije SRČANOG RADA SOKOVA I EKSTRAKTA PLODOVA <i>Ribes nigrum</i> L.	95
7.	ZAKLJUČAK	97
8.	LITERATURA	100

9.	PRILOG I		
	HPLC hromatogrami ukupnog vitamina C (askorbinska i dehidroaskorbinska kiselina) i askorbinske kiseline u sokovima i ekstraktima plodova crnih ribizli (<i>Ribes nigrum</i> L.)		119
10.	PRILOG II		
	HPLC hromatogrami antocijana u sokovima i ekstraktima plodova crnih ribizli (<i>Ribes nigrum</i> L.)		153
11.	PRILOG III		
	HPLC hromatogrami flavonoida u sokovima i ekstraktima plodova crnih ribizli (<i>Ribes nigrum</i> L.)		184
12.	BIOGRAFIJA AUTORA		208

1. UVOD

Ubrzano tempo života, koji je uslovio manjak fizičke aktivnosti i konzumiranje hrane visoke energetske vrednosti (takozvane brze hrane), kao i faktori životne sredine, doveli su do značajnog porasta gojaznih osoba u svetu. Prema zvaničnim podacima, u 27 evropskih zemalja 59% odraslih muškaraca i 48% odraslih žena su gojazni, ili na pragu gojaznosti. Prema poslednjim podacima Svetske Zdravstvene Organizacije (SZO), 36 000 000 (od ukupnih 57 000 000) smrtnih slučajeva pripisuje se hroničnim nezaraznim bolestima (HNB), a od toga, 14 000 000 nepravilnoj ishrani. Povećana prevalenca HNB dovela je do smanjenja kvaliteta života i eskalacije troškova zdravstvene zaštite. Zbog toga je danas jedan od bitnih ciljeva SZO i nadležnih nacionalnih zdravstvenih institucija, smanjenje faktora rizika za nastanak ovih bolesti i prevenciju istih. Prestanak pušenja, smanjen unos alkohola, optimalna fizička aktivnost i adekvatna ishrana predstavljaju četiri ključna faktora u prevenciji HNB (Functional foods, European Commission).

Zbog toga je značaj ishrane u savremenom društvu bitno promenjen. Svrha pravilne ishrane danas je da obezbedi odgovarajući unos energetskih i gradivnih materija, da se postigne i održi optimalna telesna težina i da spreči nastanak hroničnih nezaraznih bolesti. Prema Evropskoj Komisiji Evropske unije (EU), pod funkcionalnom hranom podrazumevaju se namirnice koje blagotvorno utiču na jednu ili više fizioloških funkcija u telu, pored odgovarajuće nutritivne uloge. Funkcionalna hrana poboljšava zdravstveni status i opšte stanje organizma ili smanjuje rizik od nastanka bolesti i produžava životni vek čoveka delovanjem biološki aktivnim jedinjenjima. Stoga je važno identifikovati koja hrana i koji specifični sastojci hrane, nutritivni ili nenutritivni, mogu pozitivno uticati na zdravlje. Važno je utvrditi i na koje zdravstvene promene najveći uticaj pokazuje ova vrsta hrane, kao i stanja u kojima ispoljavaju svoje dejstvo (Functional foods, European commission).

Funkcionalni sastojci hrane važni su u promociji zdravlja i smanjenja rizika od nastajanja bolesti. Od funkcionalne hrane se očekuje da, pored hranljive vrednosti, ispolji i fiziološku funkciju. Fiziološka funkcija je posledica prisustva bioaktivnih jedinjenja. Iako je prisustvo ovih jedinjenja u hrani važno, njihova apsorpcija, bioraspoloživost i metabolizam ključni su faktori koji utiču na blagotvorne efekte. Sa druge strane, prerada svežih namirnica može da utiče na

njihovu aktivnost te se zato promene u funkcionalnim sastojcima hrane, indukovane preradom, moraju pažljivo ispitati. Pored toga, mehanizmi delovanja ovih supstanci u hrani su brojni, i uključuju i antioksidantnu aktivnost.

Pojam "funkcionalne hrane" prvi put je uveden u analizu hrane, pored analize hranljivih materija (kao što su proteini, lipidi, i ugljeni hidrati, kao i arome, kiseline, i isparljiva jedinjenja), pre više od tri decenije. Istraživanja vezana za ovu oblast su multidisciplinarna. Multidisciplinarnosti je doprinela i obaveštenost potrošača o korisnim efektima sastojaka hrane u smislu promocije zdravlja i smanjenja rizika od nastanka bolesti.

Hronične nezarazne bolesti, kao što su kardiovaskularne bolesti, maligniteti i dijabetes mogu biti indukovani dejstvom slobodnih radikala. Stoga se danas intenzivno radi na pronalaženju novih antioksidanasa među fitohemijskim jedinjenjima.

Širok spektar nutritivnih molekula, kao i nenutritivnih jedinjenja, čini jagodasto voće jednom od najproučavanijih grupa u carstvu voća. Bogatstvo u sadržaju šećera, vitamina, minerala, organskih kiselina i polifenola učinile su da pored prijatnog ukusa, ovo voće pokaže protektivno, pa čak i lekovito dejstvo. Najzastupljenije i proučavanije iz ove grupe su jagoda, borovnica, malina i crna ribizla.

Crna ribizla (*Ribes nigrum* L.) se ističe svojim polifenolnim sastavom i sadržajem vitamina C. Poznato je da ova jedinjenja sprečavaju i pomažu u lečenju mnogih bolesti kao što su HNB. Antocijani, jedna od najzastupljenijih klasa polifenola, pored antioksidativne i protektivne uloge, odgovorni su i za boju ribizli i koriste se u industriji hrane kao prirodne boje. Upotreba crnih ribizli proširila se sa boja i aroma u hrani i pićima, na funkcionalnu hranu i dalje, na aditive u formi antioksidanasa u mesu i konzervanasa u mesnim proizvodima (Jia i sar, 2012). U skorašnje vreme, počelo je i ispitivanje potencijalne upotrebe pupoljaka, cvetova i listova crne ribizle kao bogatih izvora prirodnih antioksidanasa (Tabart i sar, 2011), dok se seme ribizle, koje je bogato esencijalnim masnim kiselinama i vitaminom E, upotrebljava u raznim kozmetičkim proizvodima (Đorđević, 2012).

Prvi zapisi o uzgoju crne ribizle na tlu Evrope datiraju iz XI veka i potiču iz okoline Moskve, odakle se ova biljna vrsta širi po Centralnoj i Istočnoj Evropi. Početkom XVIII veka pominju se prve plantaže crnih ribizli, kao i trgovanje njenim plodovima. Saznanjem o nutritivnim karakteristikama crne ribizle, kao i lekovita svojstva njenih plodova, semena i lista,

učinila su da u XIX veku počne masovnija sadnja ovog bobičastog voća, naročito u zemljama severne Evrope.

Najveći proizvođač ribizle je zemlja iz koje i potiče, Ruska Federacija, i to sa polovinom svetske godišnje proizvodnje (373000 t). Izuzetan porast proizvodnje ribizle u svetu zapažen je početkom XXI veka usled velike potražnje ribizle na svetskom tržištu, a zbog dobrih (povoljnih, pozitivnih) hranljivih i proizvodnih karakteristika.

U Srbiju je ribizla introdukovana početkom XX veka sa najnovijim sortama tadašnjeg vremena. Sedamdesetih godina istog veka postojali su komercijalni zasadi na području zapadne Srbije i u manjem obimu na području Valjeva, Čačka i na Vlasini (Stanisavljević i sar, 1999). Međutim, zasađene sorte bile su slabog kvaliteta, nisu prošle provere zdravstvene ispravnosti i nutritivnih karakteristika, te se nisu pokazale kao uspešne. Ove sadnice su bile zaražene i virusom atavizma - *Black Currant reversion virus* (Šutić, 1970).

U Srbiji postoje dobri agroklimatski uslovi za uspešno gajenje ribizle. Uzgoj ribizli u Srbiji je u porastu od 2007. godine, prema podacima Organizacije za hranu i poljoprivredu Ujedinjenih nacija FAO (Food and Agriculture Organization) i Republičkog zavoda za statistiku Srbije. Polja sa zasadima crnih i crvenih ribizli nalaze se u zapadnim i južnim delovima zemlje na površini od 70 do 80 ha. U 2012. godini prinos ribizla bio je 40% veći u odnosu na prinos u 2011. godini (250 i 180 tona, respektivno). S druge strane, prinosi ribizli bili su mnogo niži u poređenju sa prinosom malina (50000 i 89602 tona respektivno), jagoda (20000 i 21161 tona) i kupina (15000 i 17000 tona) u istim godinama (Nikolić i sar, 2012). Povoljne proizvodne osobine crne ribizle, kao i sve veće saznanje o njenim hranljivim i lekovitim karakteristikama nameće neophodnost povećanja njenog uzgoja.

1.2. CILJ ISTRAŽIVANJA

Činjenica da hemijski sastav crnih ribizli zavisi od genotipa biljke navela je istraživače da dizajniraju i ispituju nove i novointroductory sorte crnih ribizli. Takođe, od suštinskog je značaja za prerađivačku industriju i sektor funkcionalne hrane da na kvalitet plodova crne ribizle u najmanjoj mogućoj meri utiču faktori životne sredine. Cilj doktorske disertacije bio je da se ispita biološki, biohemijski i mikrobiološki profil, kao i mogućnost upotrebe sokova četiri sorte

crne ribizle *Ribes nigrum* L. – Triton, Tenah, Ben Sarek i Ometa, kao funkcionalne hrane i njihovih ekstrakta, kao dijetetskih suplemenata.

Konkretni ciljevi podrazumevali su određivanje antioksidativne i antimikrobne aktivnosti, određivanje ukupnih i dominantnih antocijana, ukupnih polifenola i tanina, flavonoida i vitamina C. Ispitivanje je obuhvatilo i određivanje biološke aktivnosti u vidu ispitivanja dejstva sokova i ekstrakta na glatku muskulaturu tankog creva pacova, kao i sposobnost da redukuju krvni pritisak i kontrakciju pretkomora srca kunića. Sva četiri ispitivana varijeteta uzgajana su na teritoriji Srbije i sakupljani u toku tri uzastopne godine (2008-2010), pa je istraživanje obuhvatilo i uticaj agroekoloških faktora na hemijski sastav svake sorte. Ispitano je da li postoji statistički značajna razlika u promeni sastava i fiziološke aktivnosti usled godišnjih promena temperature vazduha, vlažnosti i količine padavina u periodima cvetanja, rasta i razvoja ploda ribizli.

Posebna pažnja tokom rada posvećena je biološkom dejstvu sokova i ekstrakta na gastrointestinalni trakt i kardiovaskularni sistem, usled podizanja svesti kod ljudi i okretanja zdravijoj i pravilnijoj ishrani, koja vodi ka prevenciji bolesti.

Dobijeni rezultati bi poslužili za izbor varijeteta sa najboljim karakteristikama i najmanjim varijacijama u sastavu u odnosu na klimatske uslove. Ovi varijeteti bi bili preporučeni za intezivnu sadnju na velikim proizvodnim površinama.

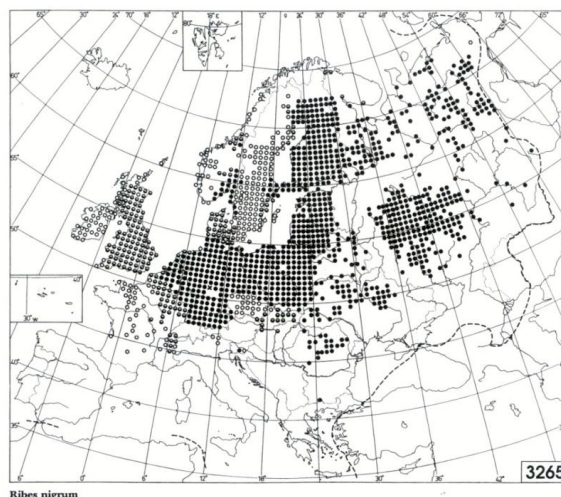
2. OPŠTI DEO

2.1. FAMILIJA GROSSULARIACEAE

Familija Grossulariaceae obuhvata listopadne žbunaste vrste sa spiralno raspoređenim listovima koji su bez zalistaka ili su oni veoma sitni. Cvetovi su potpuni, pentamerni, organizovani u grozdaste ili male, bočne klasolike cvasti. Krunični listići slobodni. Prašnika ima pet. Plodnik je podcvetan, vratova ima dva, u donjem delu srasli. Plod je bobica.

Rod *Ribes* L. pripada klasi Magnoliopsida, koja zajedno sa klasom Liliopsida čini razdeo Magnoliophyta. Ovaj rod čini oko 150 vrsta. Magnoliophyta su biljke koje su se najbolje od svih biljaka adaptirale na uslove života na zemlji jer su dostigle najviši nivo organizacije. Rod *Ribes* je ranije pripadao familiji Saxifragaceae, a temeljnim taksonomskim proučavanjem morfoloških karakteristika biljnih vrsta (mesnatijeg ploda, inferiornijih plodnika (Brennan, 1996)) rod je svrstan u familiju Grossulariaceae.

Stanište: Biljnim vrstama ovog roda odgovara umerena i kontinentalna klima. Rastu na području severne i istočne Evrope, Severne Amerike, Sibira, Arktika i Severne Azije (Slika 2.1) (Atlas Florae Europaeae, 1999; Kuzmanov, 2012). Pojedini predstavnici se mogu naći i u Severozapadnoj Africi, Južnoj Americi, Novom Zelandu i drugim delovima Azije (Đorđević, 2012). Ove biljne vrste rastu na peščanim mestima, kraj planinskih potoka i reka, na visini od 1600 do 1800 m nadmorske visine (Kuzmanov, 2012).



Slika 2.1. Staništa crne ribizle u Evropi (Atlas Florae Europaeae, 1999)

Vrste ribizli koje odlikuju crni plodovi grupisane su u okviru subgenusa *Coreosma* Berger roda *Ribes*, od kojih se po upotrebi i kvalitetu izdvaja vrsta *Ribes nigrum* L. sa svoja dva varijeteta – *Ribes nigrum* var. *scandinavicum* i *Ribes nigrum* var. *sibiricum* (Nikolić i Milivojević, 2010).

2.1.1. Morfološke osobine roda *Ribes* L.

Carstvo – Plantae
Razdeo – Magnoliophyta
Klasa – Magnoliopsida
Potklasa – Rosidae
Nadred – Rosanae
Red – Saxifragales
Familija – Grossulariaceae
Rod – *Ribes* L.
Pod-rod – *Coreosma*
Vrsta – *Ribes nigrum* L.

Stabla biljnih vrsta roda *Ribes* L. su 1-1.5 (2) m visoka, bez bodlji. Mladi izdanci su svetlozeleni i kratkodlakavi. Vegetativni pupoljci su 7-8 mm dugi, jajasti, tupi i svetlosmeđi. Ljuspe vegetativnih pupoljaka su po leđnoj strani prekrivene gustim trepljama. Listovi su 3-10 cm dugački, 5-10 (12) cm široki, dlanoliki, pri osnovi klinasti ili srcasti, duboko 3- do 5-delni, krupno nazubljeni, odozgo potpuno goli, odozdo raštrkano, kratko dlakavi, sa mnogobrojnim žlezdama koje sadrže etarsko ulje. Lisne drške su 3-5 cm duge i gusto kratkodlakave. Cvasti su 3-8 cm dugačke, viseće, osa cvasti je kratko dlakava. Cvetovi su dvopolni. Cvetne drške su (3) 5-15 mm duge, gusto i kratko dlakave. Brakteje su duge 2-2.5 mm, kraće od cvetnih dršaka, ovalne, trouglaste do linerano lancetaste, listolike, bledozelene, pričvrćene u osnovi cvetne drške i pokrivene su gustim trepljama. Cvetna loža je zvonasta. Čašični listići 5-8 mm dugački, eliptični, gusto kratko dlakavi, sa raštrkanim žlezdama, povijeni unatrag, zelenkasti, crvenkasti do smeđe-zeleni. Krunični listići su eliptični, dopiru do ½ dužine čašičnih listića, potpuno beli. Prašnici su sa kratkim drškama i eliptičnim žutim anterama. Plod je bobica, do 12 mm u dijametru, sferična, crna, gola. Semenke jajaste, 2-3 mm dugačke i smeđe (Kuzmanov, 2012).

2.1.2. Proučavane sorte biljne vrste *Ribes nigrum* L.

Sve ispitivane sorte su stranog porekla, a u našu zemlju su introdukovane u poslednjih 10 godina, tako da je njihovo proučavanje i dalje aktuelno.

Ben Sarek

Ben Sarek je škotska sorta nastala planskom hibridizacijom sorti Golijat i Ojebin i pogodna je za sve vidove upotreba. Obrazuje žbun slabe bujnosti. Pojava prvih listova je u proseku oko 05. marta, dok se prve cvasti javljaju oko 22. marta. Srednje je ranog sazrevanja cvetova, a puno cvetanje ove sorte je oko 10. aprila. Ranog je sazrevanja plodova koji dostižu punu zrelost oko 17. juna. Formira kratak i zbijen grozd, krupnih do vrlo krupnih bobica, koje sazrevaju istovremeno (slika 2.2). Potrebno je u proseku 65 dana od formiranja bobice do postizanja pune zrelosti (Đorđević, 2012).

Ometa

Sorta Ometa je švajcarskog porekla, pogodna za sve vidove upotreba. Obrazuje žbun umerene bujnosti. Srednje je ranog vremena cvetanja i veoma kasnog vremena zrenja. Prvi listovi se javljaju u proseku oko 06. marta, a cvasti oko 24. marta. Puno cvetanje dostiže oko 13. aprila. Grozd je srednje dužine, sitnih, okruglastih bobica koje istovremeno sazrevaju (slika 2.3). Plodovi dostižu punu zrelost oko 03. jula. Karakteriše je izuzetna aroma plodova. Potrebno je prosečno 77 dana od formiranja ploda do potpune zrelosti (Đorđević, 2012).



Slika 2.2. *Ribes nigrum* cv. Ben Sarek



Slika 2.3. *Ribes nigrum* cv. Ometa

Tenah

Tenah je sorta holandskog porekla, nastala višekratnom hibridizacijom. Obrazuje žbun umerene bujnosti. Prvi listovi se javljaju oko 07. marta, a cvasti oko 24. marta. Puno cvetanje u

proseku dostiže oko 12. aprila. Formira grozd srednje dužine, krupnih do vrlo krupnih bobica koje ujednačeno sazrevaju (slika 2.4) i punu zrelost dostižu u proseku oko 21. juna. Plodovi su kiselog ukusa. Potrebno je prosečno 69 dana od formiranja ploda do potpune zrelosti (Đorđević, 2012).

Triton

Triton je sorta švedskog porekla. Srednje je ranog vremena cvetanja i ranog zrenja plodova. Prvi listovi se javljaju između kraja februara i sredine marta, a prve cvasti u proseku oko 24. marta. Puno cvetanje dostiže sredinom aprila. Obrazuje žbun umerene bujnosti. Formira dugačak grozd, sitnih do srednje krupnih bobica, koje ne sazrevaju ujednačeno (slika 2.5). U proseku, bobice dostižu punu zrelost oko 18. juna. Potrebno je prosečno 65 dana od formiranja ploda do potpune zrelosti (Đorđević, 2012).



Slika 2.4. *Ribes nigrum* cv. Tenah



Slika 2.5. *Ribes nigrum* cv. Triton

2.2. VITAMIN C

Vitamin C ili askorbinska kiselina je hidrosolubilna vitamin koji je u najvećoj količini zastupljen u voću i povrću (Tabela 2.1). Nalazi se uglavnom u svom redukovanom obliku – askorbinskoj kiselini (ASK), a u manjoj količini (5-10%) u oksidovanoj formi – dehidroaskorbinskoj kiselini (DASK). Oksidacija vitamina C lako se odvija u vodenim rastvorima, (a samim tim se povećava i udeo DASK), i podstiču je prisustvo kiseonika, jona teških metala, naročito Cu^{2+} , Ag^+ i Fe^{3+} , visoka temperatura i alkalni pH (Lee i Kader, 2000). Oksidovana forma vitamina C može se lako redukovati u ASK pod uticajem različitih redukujućih agenasa, ali se može i ireverzibilno hidrolizovati u diketogulonsku kiselinu, koja nema vitaminsko dejstvo.

Tabela 2.1. Količina vitamina C (mg/100 g) u voću, povrću i proizvodima po podacima baze nutrijenata US Department of Agriculture (USDA)

Broj u nutritivnoj bazi podataka USDA	Namirnica	Ukupan vit C (mg/100 g)
09002	Acerola, sok, svež	1600
11951	Paprika slatka, žuta, sirova	183.5
11339	Paprika slatka, zelena, sirova	177.04
09083	Ribizla, evropska crna, sirova	181
09445	Kivi, zlatni, sveži	105.38
11921	Paprika slatka, crvena, sirova	127.72
09148	Kivi, zeleni, sveži	92.72
09206	Sok od narandže, svež	50
09152	Sok od limuna, svež	38.69
09404	Sok od grejpfruta, crveni, svež	38.02
09128	Sok od grejpfruta, beli, svež	38.02
09316	Jagode, sveže	58.82
11297	Peršun, svež	133
09266	Ananas, svež	47.82
09088	Zova, plod	36
09190	Dud, plod	36.43
09084	Ribizle, crvene i bele, sveže	40.98
11215	Beli luk, svež	31.18
09107	Ogrozd, svež	27.73
09302	Maline, sveže	26.26
09042	Kupina, sveža	20.97
09021	Kajsije, sveže	10
09063	Višnje, sveže	10
09050	Borovnica, sveža	9.73
09326	Lubenica, sveža	8.11
11282	Crni luk, svež	7.38

Askorbat oksidaza je enzim odgovoran za enzimsku degradaciju ASK. Navedeni enzim sadrži bakar i u prisustvu molekularnog kiseonika vrši oksidaciju ASK u DASK (Saari i sar, 1995).

Askorbat oksidaza se javlja u delovima biljke koji se razvijaju. Nivo askorbat oksidaze je povećan u uslovima stresa, napada patogena ili izlaganja hemijskim jedinjenjima.

Koncentracija, tačnije, odnos ASK/DASK, može biti pokazatelj redoks stanja ljudskog organizma. Zato se ponekad ASK zajedno sa DASK, određuje u različitim biološkim materijalima odgovarajućim analitičkim metodama (Novakova, 2008).

Vitamin C se lako razlaže kada je plod nepravilno uskladišten. Gubitke ovog vitamina povećava i produženo skladištenje, povišena temperatura, niska vlažnost, fizičko oštećenje, kao i oštećenja izazvana hlađenjem (Lee i Kader, 2000).

Ljudski organizam ne može sintetisati vitamin C, zbog nedostatka enzima L-glukonolakton oksidaze, ali ga organizam lako apsorbira iz namirnica bogatih ovim vitaminom – voća i povrća. Nephodan je za odvijanje normalnog metabolizma kod ljudi. Učestvuje u brojnim enzimskim i neenzimskim reakcijama (Davey i sar, 2000), kao jak antioksidans (Ishikawa i sar, 2006), kao i u obnavljanju drugih jedinjenja sa antioksidativnim delovanjem (vitamin E). Antioksidativni potencijal vitamina C preporučuje se u prevenciji nastanka i razvoja hroničnih nezaraznih bolesti, kao što su kardiovaskularne bolesti, *diabetes mellitus*, kancer.

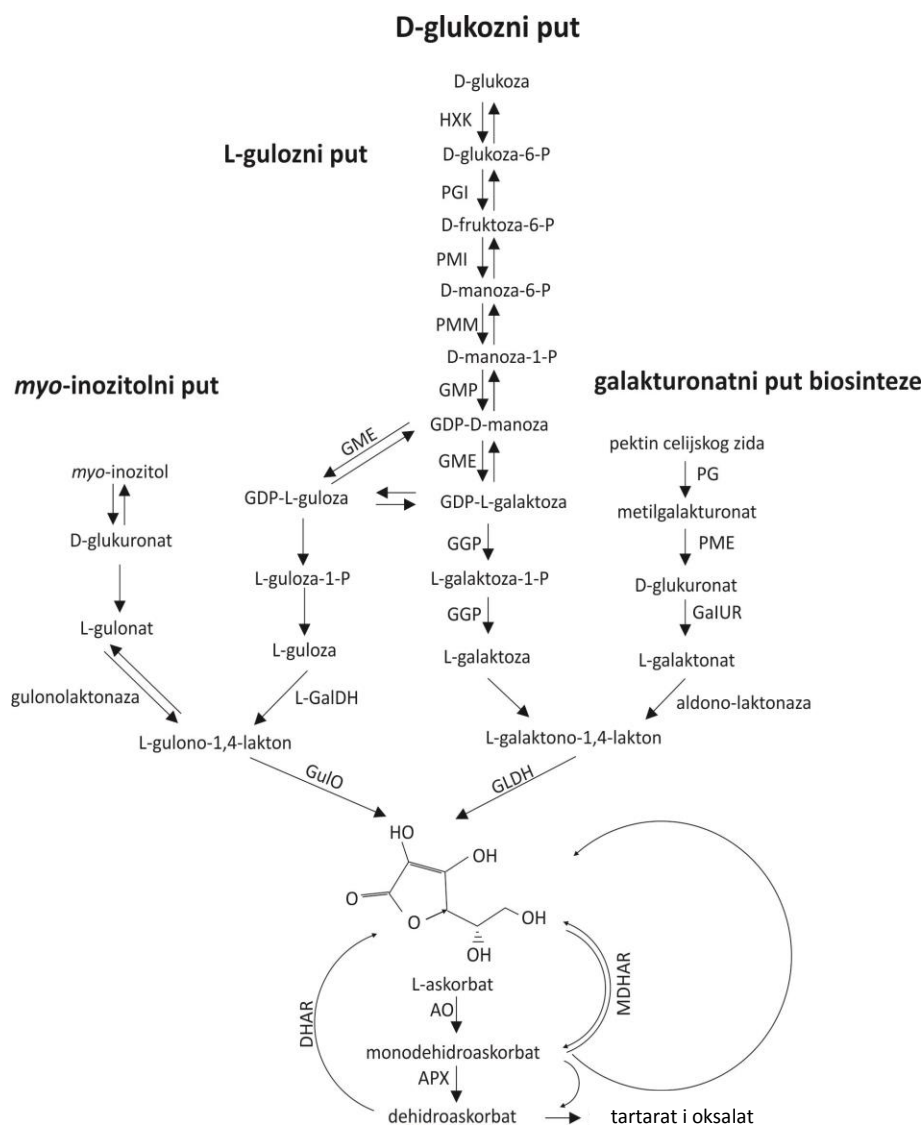
Biosinteza vitamina C se u biljkama primarno odvija iz L-galaktoze (Wheeler i sar, 1998). Postoje i alternativni putevi biosinteze vitamina C kao što su sinteze preko D-glukuronske kiseline (Agius i sar, 2003), ili preko mioinozitola (Lorence 2004) ili deo puta L-galaktoze, koji koristi L-gulonske intermedijere (sinteza preko L-guloze (Wolucka, 2003))(Slika 2.2)

Sam vitamin C ima nekoliko važnih uloga i u fiziologiji biljaka. Prvenstveno, učestvuje kao kofaktor enzima uključenih u rast i deobu biljnih ćelija i kao kosupstrat u sintezi biljnih hormona etilena i giberelinske kiseline (Davey i sar, 2000). Deluje i kao antioksidans, jer hvata slobodne radikale koji nastaju u procesima lignifikacije ćelijskog zida, fotosinteze i u odgovorima biljke na stres (Davey i sar, 2000; Foyer i Noctor, 2003).

Nivo vitamina C se u biljnom tkivu održava mehanizmom ravnoteže u reakcijama oksidacije i sinteze. Askorbat peroksidaza katalizuje oksidaciju askorbinske kiseline do monodehidroaskorbata, koji se spontano konvertuje do ASK i DASK (Slika 2.2).

Enzimsku regeneraciju ASK iz monodehidroaskorbata i DASK katalizuju monodehidroaskorbat reduktaza i glutathion reduktaza. Ovaj ciklus askorbat-glutathion, pored regenerisanja ASK predstavlja i efikasan način oslobađanja od H_2O_2 (Foyer i Noctor, 2003).

Sinteza i akumulacija vitamina C odvija se u ranim fazama razvoja ploda crne ribizle, ubrzo nakon cvjetanja, biosintezom preko L-galaktoze (Hancock i sar, 2007). Sadržaj vitamina C koji se tada sintetiše, ostaje konstantan nakon ovog perioda (Viola, 2000; Hancock, 2007). Nivo vitamina C primarno je određen genotipom biljke, ali na njega utiču i uslovi životne sredine u kojoj se razvija, kao što su svetlost (Badejo i sar, 2009; Li i sar, 2009), vreme berbe (Felicetti i



Slika 2.6. Putevi biosinteze vitamina C u biljkama (Zheng, 2014)

GDP-guanozin difosfat; HXK-heksokinaza; PGI-fosfoglukozo izomeraza; PMI-fosfomanozo izomeraza; PMM- fosfomano mutaza; GMP-GMP-D-manozo-pirofosforilaza; GME- GMP-D-manozo-3',5'-epimeraza; GGP-GDP-L-galaktoza fosforilaza (GDP-L-galaktoza-heksoza-1-fosfat guaniltransferaza); GPP-L-galaktoza-1-P fosfataza; L-GalDH-L-galaktoza dehidrogenaza; GLDH-L-galaktono-1,4-lakton dehidrogenaza; MIOX-*myo* inositol oksigenaza; PG-poligalakturonaza; PME-pektin metilesteraza; GalUR-D-galakturonat reduktaza; GulO-L-gulono- 1,4- lakton oksidaza; AO-askorbat oksidaza; APX-askorbat peroksidaza; MDHAR-monodehidroaskorbat reduktaza; DHAR- dehidroaskorbat reduktaza

Mattheis, 2010), biotski (Davey i sar, 2007) i abiotski stresovi (Gautier i sar, 2010), mesto i agrohemijske mere koje se sprovode nad biljkom (Caris-Veyrat i sar, 2004).

Iako svetlost nije esencijalna za sintezu vitamina C u biljkama, količina i intenzitet svetlosti tokom vegetativnog perioda definitivno imaju uticaja na količinu nastalog vitamina C. Ovaj vitamin se sintetise iz šećera koji nastaju tokom fotosinteze u biljkama. Voće koje se nalazi izloženo sunčevoj svetlosti sadrži veću količinu vitamina C nego ono u unutrašnjosti žbuna ili krošnje i na tamnom mestu na istoj biljci (Lee i Kader, 2000). Povećana je i ekspresija gena koji regulišu D-galakturonat reduktazu, kao odgovor na veću količinu svetlosti, pa je samim tim bila dva puta povećana i količina sintetisanog vitamina C, u odnosu na plodove grožđa koji su rasli sa manje svetla (Cruz-Rus i sar, 2010).

Povećana upotreba azotnih đubriva smanjuje nivo vitamina C, dok upotreba đubriva sa kalijumom povećava nivo ovog vitamina. Azotna đubriva poboljšavaju rast biljaka. Poznato je da ova đubriva povećavaju lisnu masu, površinu listova i listanje biljke i tako mogu umanjiti intenzitet svetlosti i akumulaciju vitamina C u delovima koji se nalaze u hladovini. Kako povećana upotreba azotnih đubriva povećava koncentraciju nitrata i istovremeno smanjuje količinu vitamina C, ova primena može imati dvostruko negativan efekat na kvalitet biljne hrane (Mozafar, 1993).

Sadržaj vitamina C je obrnuto proporcionalan količini padavina, tačnije, pogoduje mu manja količina navodnjavanja. Smatra se da se vitamin C i sintetise kao odbrana od dehidracije, stoga, ukoliko se želi rod sa većom količinom vitamina C, preporučeno je umereno navodnjavanje.

Zrelost ploda u trenutku branja predstavlja jedan od glavnih faktora koji određuje sadržaj vitamina C, a samim tim i kvalitet voća. Zeleni plodovi sadrže 30% manje vitamina C u odnosu na zrele (Lee i Kader, 2000).

Način branja može odrediti različita zrelost ploda i fizička oštećenja i posledično uticati na nutritivni sastav voća. Mehanička oštećenja, kao što su nagnječenja, površinska oštećenja i posekotine mogu dovesti do ubrzanog gubitka vitamin C. Na učestalost i ozbiljnost ovih oštećenja utiče metod branja i postupanje sa ubranim plodovima. Primarni cilj je da oštećenje bude na minimalnom broju plodova, bilo da se branje vrši ručno ili mehanički.

Nakon branja, tkivo voća prolazi kroz neprekidne promene. One se ne mogu zaustaviti, ali se mogu usporiti korišćenjem različitih procedura i tehnika. Generalno, sveže voće će uvek

imati veći sadržaj vitamina C u odnosu na ono koje se čuva skladišteno. Održavanje temperature je jedan od glavnih načina produženja roka upotrebe i kvaliteta ubranog voća. Odlaganje hlađenja i obrade uzoraka nakon branja može dovesti do direktnih gubitaka kao što su gubitak vode i početak kvarenja ili do indirektnih gubitaka, kao što je gubitak arome i nutritivnog sastava. Gubitak vitamina C, kao odgovor na povišene temperature, biće veći kod povrća, nego kod kiselog voća, kao što su citrusi i bobičasto voće, jer je vitamin C stabilniji u kiseloj sredini (Nagy, 1980).

Nagnječenje značajno utiče na hemijski sastav perikarpa i lokalnog tkiva voća. Sadržaj vitamina C manji je za 15% u nagnječenom tkivu u odnosu na zdravo (Moretti i sar, 1998).

Prema podacima Nacionalnog instituta za hranu Danske (National Food Institute – Technical University of Denmark), sveže crne ribizle sadrže prosečno 181 mg vitamina C u 100 g ploda, a sadržaj se kreće od 113 do 255 mg/100 g. Isti podatak prikazuje i USDA u svojoj nacionalnoj bazi nutrijenata, s tim da se kod njih ne prikazuje raspon u sadržaju ovog vitamina (Nutrient data for 09083, Currants, european black, raw).

Određivanje vitamina C u voću (kao zbir sadržaja ASK i DASK) bitno je jer je sadržaj vitamina C jedan od parametara kvaliteta voća i konzumiranje voća bogatog ovim vitaminom utiče na kvalitet života.

U Srbiji se vitamin C koristi u nekoliko oblika kao prirodni antioksidans, čija je osnovna funkcija da preveniraju i odlože oksidativna oštećenja proteina, lipida i nukleinskih kiselina slobodnim radikalima. Vitamin C se nalaze na Pozitivnoj listi aditiva (A1 grupa) i to u sledećim oblicima: E300 – askorbinska kiselina, E301 – natrijum-askorbat, E302 – kalcijum-askorbat, E304 - estri masnih kiselina i askorbinske kiseline: (I) askorbil-palmitat (II) askorbil-stearat, E315 – eritorbinska kiselina (izoaskorbinska kiselina) i E316 – natrijum-eritorbat (natrijum-izoaskorbat). Propisima Evropske unije predviđena je upotreba svih nabrojenih aditiva i to u *quantum satis* količinama, ukoliko nije drugačije naglašeno (Mirić i Šobajić, 2002).

2.3. SEKUNDARNI METABOLITI CRNE RIBIZLE

Primarni metaboliti biljaka nastaju u svim biljnim ćelijama na isti način. Primarni metabolizam biljaka obuhvata procese fotosinteze (u kojima se sintetiše glukoza) i transformacije dobijene glukoze do složenih šećera. Primarni metabolizam čini i glukoliza do

nastanka masnih kiselina i aminokiselina i dalje do sinteze lipida i proteina. Na ovaj način, nastaju, menjaju se i katabolišu osnovni gradivni elementi živog sveta – ugljeni hidrati, proteini i lipidi. Oni, pored gradivne, imaju i energetske uloge, kojom se obezbeđuje rast, razviće, reprodukcija i normalno funkcionisanje organizma (Golubović, 2010).

Sekundarni metabolizam se nadovezuje na primarni i predstavlja transformaciju i katabolizam nastalih finalnih proizvoda primarnog metabolizma. Ova jedinjenja su veoma različita po svojoj hemijskoj prirodi, a nastaju pod dejstvom različitih enzima kao bioloških katalizatora i nazivaju se sekundarni metaboliti. Ovu grupu obuhvataju terpeni, polifenoli, alkaloidi i druga jedinjenja (Kovačević, 2004). Ona imaju različite i veoma značajne uloge. Neki sekundarni metaboliti predstavljaju koenzime u enzimskim sistemima koji učestvuju u ćelijskom disanju ili regulišu rast i razvoj biljke (Jančić, 2002). Neki su odgovorni za adaptaciju biljne vrste na različite ekološke uslove. Takođe, u velikoj meri su odgovorni za odbranu biljke od predatora i patogena, kao i od faktora spoljašnje sredine, kao što su slobodni radikali, ultraljubičasto zračenje i drugi nepovoljni uslovi (Savić, 1993).

2.3.1. Polifenoli i tanini

Polifenoli su sekundarni metaboliti biljaka, čija je biološka aktivnost dokazana brojnim eksperimentima. Najčešće se unose u organizam čoveka hranom biljnog porekla i suplementima (Han i sar, 2007; Karjalainen i sar, 2009; Scalbert i sar, 2005). Polifenoli se dele na: fenolne kiseline, flavonoide, stilbene, lignane i tanine (Habauzit, 2014), mada su tri najzastupljenije klase polifenola - flavonoidi, fenolne kiseline i tanini, jaki *in vitro* antioksidansi (Matilla i sar, 2011). Flavonoidi su podeljeni u 10 potklasa (flavoni, flavanoni, flavonoli, flavanonoli, katehini, antocijani, leukoantocijanidini, halkoni, dihidrohalkoni i auron) (Grujić-Injac i Lajšić, 1983) i čine glavnu grupu bioaktivnih jedinjenja voća. Fenolne kiseline čine drugu grupu polifenola prisutnih u voću (Haminiuk i sar, 2012), koju čine dve potklase jedinjenja. Prva su jedinjenja hidroksi cimetne kiseline, od kojih je najzastupljenija hlorogenska kiselina u velikom broju voća, posebno u jabukama, kruškama i jagodastom voću (Manach i sar, 2004). Drugu potklasu čine jedinjenja hidroksi benzojeve kiseline (vanilna, galna, elaginska i siringinska), kojima su, u formi estara sa šećerima (hidrolizujući tanini), bogate različite vrste voća (Del Rio i sar, 2013).

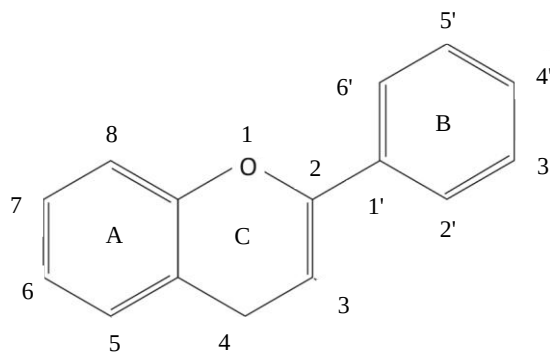
Tanini predstavljaju grupu polifenola koja određuje senzorne karakteristike svežeg voća i njihovih proizvoda. Oni su odgovorni za kiseo, adstringentni ukus, kao i promenu boje voća i sokova (Jimenez-Garcia i sar, 2013). U tanine se ubrajaju kondenzovani tanini (proantocijanidini)(Bautista-Ortín i sar, 2012) i estri galne i elaginske kiseline (hidrolizujući tanini)(Jimenez-Garcia i sar, 2013). Pored ovih, neki autori spominju mešovite i pseudotanine (Kovačević, 2004). U voću bogatom antocijanima, tanini ih vezuju i formiraju kopolimere, a najveća količina ovakvih tanina je pronađena u aroniji (Hanlin i sar, 2010). Hidrolizirajući tanini su manje zastupljeni, a mogu se naći u jagodama, malinama i borovnicama (Holt i sar, 2008). Unos veće količina tanina, međutim, može uticati inhibitorno na dostupnost gvožđa (House, 1999) i tiamina (Tamir i Alumot, 2006).

Polifenoli su poslednjih decenija u žiži interesovanja naučnog sveta, ali i javnosti, zbog pozitivnog dejstva koje imaju na zdravlje čoveka. Njihovo delovanje počinje sa antioksidativnom, preko antiinflamatorne aktivnosti (Sakurai i sar, 2010; Chang i sar, 2013), do neuro- (Pandareesh i sar, 2015) i kardio-protektivnog dejstva (Iriti i Varoni, 2014). Poznato je da polifenoli inhibiraju bakterijske, gljivične i virusne infekcije (Lišková i sar, 2015; Shahzad i sar, 2014; Chatel-Ferreira i sar, 2015), sprečavaju razvoj tumora (Valavanidis i Vlachogianni, 2013). Polifenolna jedinjenja reaguju sa tkivnim proteinima, membranskim receptorima i enzimima, menjajući njihovu aktivnost (Gamet-Payraastre i sar, 1999; Richard i sar, 2006). Zbog ovih osobina se sve više koriste u prehrambenoj i farmaceutskoj industriji (Parisi i sar, 2014). Međutim, polifenoli su veoma osetljivi na toplotu i svetlost, veoma se brzo metabolišu i eliminišu iz ljudskog organizma. U vodenoj sredini se mogu degradirati ili oksidovati, što može umanjiti njihovu aktivnost, a apsorpcija je otežana, jer su uglavnom velike molekulske mase (Xia i sar, 2010).

2.3.2. Flavonoidi

Flavonoidi predstavljaju dobro poznatu grupu sekundarnih proizvoda metabolizma sa značajnim uticajem na ljudsko zdravlje. Njihov skelet se sastoji iz C6-C3-C6 jedinice (Slika 2.3), u kojima su dva benzenova prstena (prsten A i B) povezana preko C-3 jedinice (Janićijević i sar, 2008). Na osnovi stepena oksidacije C3 jedinice (centralnog piranovog prstena), mogu biti podeljeni u deset klasa: flavoni, flavanoni, flavonoli, flavanonoli, katehini, antocijani,

leukoantocijanidini, halkoni, dihidrohalkoni i auroni. Različitim vezivanjem prstena B za prstenasti skelet heterociklusa, dobijaju se i druge klase jedinjenja, kao što su izoflavoni, neoflavoni, biflavoni i druga (Grujić-Injac i Lajšić, 1983).



Slika 2.7. Opšta struktura flavonoida

Flavonoidi danas broje preko 8000 različitih jedinjenja koji ljudi koriste u svakodnevnoj ishrani (Bigović, 2013), a najbolji izvori istih su crveno voće, borovnice, citrusi, jabuke, čokolada, orašasto voće, crni luk, kao i čajevi, pivo i vino. Sintetišu se u listovima, pupoljcima i plodovima biljaka iz šikimske kiseline i imaju brojne uloge u razvoju i reprodukciji biljaka, ali su uključeni i u različite odgovore na stres kod biljaka (Liu i sar, 2013). Na njihovu produkciju utiču faktori životne sredine, kao što su: temperaturni ekstremi, jaka svetlost, UV-B zračenje, niski nivoi ugljen dioksida, dostupnost vode, kao i nedostatak mineralnih materija. Na sintezu flavonoida, takođe, utiče i lokalitet staništa, kao i genetika same biljke.

Sinteza flavonoida se odvija preko tri aktivirana acetil-CoA (prsten A) i jedinjenja cimetne kiseline – 4-kumaroil-CoA (prsten B) koji daju 4, 2', 4', 6'- tetrahidroksihalkon (osnovni C6-C3-C6 skelet). Ovako nastala struktura se zatim ciklizuje formirajući molekul halkona i iz njega flavanona. Iz flavanona transformacijama nastaje veliki broj izoflavonoida, flavona, flavonola i antocijanina, sa različitim fiziološkim funkcijama (Golubović, 2010; Buchanan i sar, 2000; Horton i Cornish, 1995).

Apsorpcija skoro svih flavonoida, (koji se u biljkama nalaze uglavnom u formi glikozida), odvija se u tankom crevu (Donovan i sar, 2006). Naime, u četkastom pokrovu epitelijalnih ćelija tankog creva dolazi do hidrolize flavonoida, pri čemu se oslobađa aglikon, pod dejstvom enzima laktaza florizin hidrolaza. Ovaj enzim pokazuje različite specifičnosti za flavonoidne-O-β-D-glukozide kao supstrate, i nakon njegovog delovanja, oslobođeni aglikon

pasivnom difuzijom ulazi u epitelne ćelije usled povećane lipofilnosti (Day i sar, 2000). U epitelnim ćelijama takođe može doći do hidrolize pod dejstvom enzima citozolne β -glukozidaze. Ona deluje ukoliko se polarni glukozidi transportuju u epitelne ćelije pod dejstvom Na-zavisne GLUT-1 (glukoza-transportni sistem, tip 1)(Gee i sar, 2000), mada su neka istraživanja ustanovila da glikozilirani flavonoidi i neki aglikoni, imaju sposobnost da blokiraju ovaj transportni put (Kottra i Daniel, 2007). Aglikoni se dalje metabolišu pod dejstvom različitih enzima (sulfotransferaze, UDP-glukuronoziltransferaze i katehol-O-metiltransferaze) formirajući odgovarajuće sulfate, glukuronide i metilovane metabolite i kao takvi prelaze u cirkulaciju. Mali deo ovih metabolita se vrati u lumen tankog creva. Kada dospeju u cirkulaciju, metaboliti podležu drugoj fazi metabolizma u jetri. Jedan mali deo metabolita se opet dejstvom enterohepatične cirkulacije vraća u tanko crevo (Donovan i sar, 2006). Flavonoidni heterozidi i njihovi metaboliti koji se ne apsorbuju u tankom crevu, dospevaju u debelo crevo, gde se pod dejstvom crevne mikroflore heterozidi hidrolizuju i prevode u fenolne kiseline i hidroksicinamate. Oni opet mogu biti apsorbovani i metabolisani u jetri, pre nego se izluče urinom (Roowi i sar, 2006; Williamson i Clifford, 2010).

Flavonoidi su poznati po svojoj antioksidativnoj aktivnosti, koja se ogleda u vezivanju slobodnih radikala (reaktivnih oksigen/nitrogen vrsta – ROS/RNS) koji nastaju u ljudskom organizmu pod dejstvom enzima ksantin-oksidge, NADPH-oksidge i lipooksigenaza. ROS/RNS su odgovorne za oksidativni stress - glavni uzrok nastanka kardiovaskularnih bolesti (KVB), kao što su ateroskleroza, srčana insuficijencija, arterijska hipertenzija i koronarna srčana bolest. Ovako nastali slobodni radikali mogu se umnožiti pod katalitičkim dejstvom metalnih jona, naročito gvožđa i bakra. Modifikacija LDL-čestica slobodnim radikalima, pojava inflamacije, povećana adherencija leukocita i slabljenje zaštitne funkcije endotela krvnih sudova čine osnovu patogeneze ateroskleroze. Endotelna disfunkcija u kombinaciji sa pojačanom agregacijom trombocita, utiče na koagulaciju, može uzrokovati trombozu i dovesti do akutnog infarkta miokarda (AIM) (Mladěnka i sar, 2010). U ishemijskoj fazi AIM glavnu ulogu igra agregacija trombocita. Aktivacija neutrofila, povećanje celularnog slobodnog redukovanog oblika gvožđa i transformacija ksantin dehidrogenaze u ksantin oksidazu su faktori koji doprinose daljem razvoju bolesti. Hirurške i farmakološke metode koje se sprovode radi uspostavljanja koronarnog krvotoka, imaju efekta, ali su praćene daljim oštećenjem tkiva i

posledičnom pojavom novih slobodnih radikala i metalnih jona. Česte posledice AIM su aritmije i srčana insuficijencija.

Efekti flavonoida na kardiovaskularnom sistemu (KVS) mogući su zbog odgovarajuće strukture flavonoida, i utiču na KVS na nekoliko načina.

1. Kateholna struktura B-prstena je neophodna za antioksidativnu aktivnost.
2. Hidroksilne grupe u *orto* položaju, 5-hidroksi-4-keto i 3-hidroksi-4-keto grupa su neophodne za heliranje jona metala.
3. Specifičan hidroksi-metoksi-*orto* položaj u prstenu B je bitan za inhibiciju NADPH-oksidade.
4. Za inhibiranje adhezije leukocita i agregacije trombocita neophodan je planaran položaj sa keto grupom u položaju 4 i dvostrukom vezom u položaju 2.
5. Keto grupa u položaju 4 je važna i za vazodilatatornu funkciju.

Prva tri načina smanjuju oksidativni stres (Mladěnka i sar, 2010). Veliki broj hidroksilnih grupa odgovara i boljem hvatanju slobodnih radikala, ali je i jako bitno mesto koje grupe zauzimaju na prstenu. Dokazano je da najbolji efekat imaju dve hidroksilne grupe u *orto* položaju na prstenu B, jer interakcija 3'4'-dihidrofenoalne strukture prstena B sa slobodnim radikalima daje vrlo stabilan proizvod. Susedne hidroksilne grupe u položajima 5, 6 i 7 na prstenu A, pokazuju dobru antioksidativnu aktivnost. Takođe, uklanjanje ili derivatizacija jedne od hidroksilnih grupa odgovornih za antioksidativnu aktivnost na prstenu B, značajno smanjuje njeno dejstvo, dok prisustvo treće hidroksilne grupe u prstenu B ne utiče značajno na aktivnost (Okawa i sar, 2001; Firuzi i sar, 2004; Shiba i sar, 2008). Kod antocijana je primećeno da samo metilacija položaja 4' dovodi do značajnog smanjenja aktivnosti (Rahman i sar, 2006).

Istraživanja su pokazala da flavonoidi, pored antioksidativne funkcije, mogu poboljšati funkciju endotela krvnih sudova, inhibirati oksidaciju LDL-čestica, smanjiti krvni pritisak i poboljšati stanje dislipidemije (Mulvihill i Huff, 2010). Dokazano je da veći unos flavonoida poboljšava arterijsku neelastičnost, koja nastaje kao posledica vaskularnog starenja. Arterijsko starenje se javlja kao posledica dugotrajnog delovanja kardiovaskularnih faktora rizika na zidove arterija. Kako arterije postaju manje elastične, povećava se pritisak, što na kraju može dovesti do porasta pulsa. Ove hemodinamske promene mogu dovesti do oštećenja mikrocirkulacije i poremećaja funkcije organa. Zbog ovoga je arterijska neelastičnost označena kao marker vaskularne disfunkcije i jedan od glavnih pokazatelja cerebralnih i kardiovaskularnih ishoda

(Lilamand i sar, 2014). “Zlatni standard” za procenu arterijske elastičnosti je merenje (brzine) pulsa (pulse wave velocity-PVW) na karotidnoj ili femoralnoj arteriji. Studija preseka vođena u Engleskoj na ženama između 18 i 75 godina starosti pokazala je da je veći unos antocijana doveo do manjeg PVW i sistolnog pritiska (Jennings i sar, 2012).

Flavonoidi su pokazali mogućnost da snize krvni pritisak kod hipertenzivnih životinja i kao svakodnevni deo ljudske ishrane imaju preventivnu ulogu u mnogim bolestima savremenog doba. Oni su se dokazali i kao dobri vazodilatatori, anti-inflamatorni i imunomodulatorni agensi (González-Gallego i sar, 2014), imaju sposobnost da modifikuju nivo postprandijalne glukoze (Törrönen i sar, 2010), i ublažavaju efekte hemoterapije kao dobri antioksidansi (Kang i sar, 2011). Dokazano je da hrana bogata flavonoidima poboljšava učenje i memoriju koje se smanjuju starenjem (Rendeiro i sar, 2012).

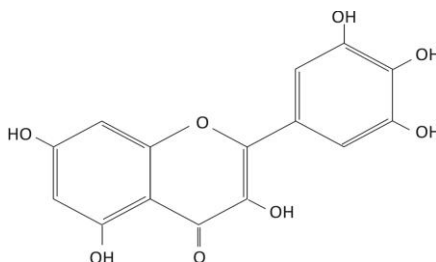
Crna ribizla predstavlja značajan izvor flavonoida (antocijana, flavonola, flavanola i fenolnih kiselina). Flavonoli čine više od 30% sadržaja ukupnih fenola crne ribizle, s tim da se svaka sorta razlikuje po njihovom kvalitativnom i kvantitativnom sastavu (Häkkinen i sar, 1999).

Od flavanola su najčešće prisutni glikozidi miricetina, kvercetina, kemferola i izoramnetina, od antocijana glikozidi delfinidina i cijanidina (Vagiri i sar, 2012; Miladinović i sar, 2014). Sva ova jedinjenja pokazuju veliku biološku aktivnost. Njihov ukupan unos se procenjuje na više od 1 g na dan (Geleijnse i Hollman, 2008) a kod Francuza čak i preko 1.2 g/dan (Habauzit, 2014).

Antioksidativna uloga miricetina (slika 2.8) je dobro poznata, kao i pozitivno dejstvo na kardiovaskularni sistem. Ovaj flavonoid i fitoestrogen značajno povećava pokretljivost, vitalnost i sve ostale biohemijske promene ljudske sperme čak i u malim dozama (do 100 nM) aktivacijom α - i β -estrogenskih receptora. Ove doze se postižu samo umerenim kozumiranjem crvenog vina, jer veće količine već nemaju ovaj efekat zbog prekomerne stimulacije receptora (Aquila i sar, 2013). Ying (2014) je dokazao da miricetin pojačava diferencijaciju ćelija strome koštane srži *in vitro*. Produkciju osteoblasta prati povećana aktivnost alkalne fosfataze u ćelijama tretiranim 10 i 20 μ M rastvorom miricetina. Alkalna fosfataza je enzim ćelijske membrane koji se koristi kao marker osteoblastne diferencijacije. Ustanovljeno je da ove ćelije imaju značajno povećanu ekspresiju ranog markera osteoblastne diferencijacije – kolagena tipa I (protein koji čini 90% kostne srži) kao i osteokalcina. Važno je i to da miricetin nije imao citotoksično dejstvo na vijabilnost ćelija strome kostne srži u koncentracijama od 1, 10 i 20 μ M. Miricetin bi mogao da

se koristi kao potencijalni lek za poboljšanje bolesti koštanog sistema, kao i za prevenciju koštanih oboljenja.

Diabetes mellitus (DM) je hronična nezarazna bolest, a broj obolelih je u neprekidnom porastu kod nas i u svetu. Karakteriše je visoka koncentracija glukoze u krvi, koja je uzrokovana



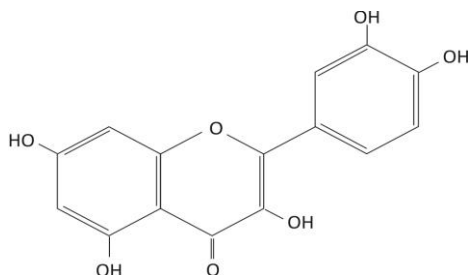
Slika 2.8. Miricetin

rezistencijom na insulin i koja vremenom vodi ka dijabetesnim komplikacijama (retinopatija, nefropatija, neuropatija). Danas se intenzivno radi na pronalaženju jedinjenja koji će poboljšati osetljivost na insulin i imati dugotrajni efekat na nivo šećera u krvi. Pronađeno je da je miricetin hipoglikemijska supstanca koja pokazuje insulinomimetički efekat (Li i Ding, 2012).

Miricetin, takođe, usporava starenje kože. On zaustavlja nastajanje bora na koži koje se javljaju pod dejstvom UV-B zračenja *in vitro*, tako što inhibira ekspresiju proteina UVB indukovane matriksne metaloproteinaze-9 (MMP-9) kao i samu enzimsku aktivnost. MMP su cink-zavisne endopeptidaze koje učestvuju u morfogenezi, angiogenezi, ulceracijama kože i foto-starenju i preporučene su kao UV-B indukovani faktori starenja (Jung i sar, 2010).

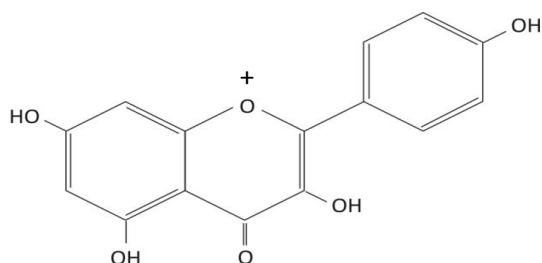
Pregled literature pokazao je da i kvercetin (slika 2.9) pokazuje brojne farmakološke efekte. Kvercetin snižava krvni pritisak i kod eksperimentalnih životinja i kod ljudi (Larson, 2012). Deluje vazodilatorno na humane arterije *in vitro* i *in vivo*, dat u akutnoj dozi ljudima sa normalnim krvnim pritiskom i normalnim lipidnim statusom (Perez i sar, 2014). El-Nekeety (2014) je dokazala da vodeni ekstrakti kvercetina deluju hepatoprotektivno i inhibiraju oštećenje DNK kod pacova kojima je davana hrana kontaminirana aflatoksinima. Takođe je smanjio nagomilavanje masnog tkiva i poboljšao ekspresiju gena koji regulišu metabolizam masti i šećera, i mitohondrijalni transport kod miševa hranjenih zapadnim načinom ishrane (Western diet), koji karakteriše velika količina masti, holesterola i saharoze (Kobori, 2014). Jung (2013) je pokazao da uzimanje 0.025% rastvora kvercetina kod miševa smanjuje dobijanje na telesnoj masi, na težini jetre i belog adipoznog tkiva, nakon 9 nedelja. Kvercetin, sa dodatkom askorbinske kiseline, održava normalne nivoe monoamino oksidaza (MAO), za koje se zna da su povećane i jednim

delom odgovorne u patologiji depresivnih oboljenja (Bandaruk, 2014). Kvercetin je pokazao i hepatoprotektivnu, antifibrotsku i antiinflamatornu aktivnost kod holestaze (Lin i sar, 2014). Benkovic (2008) je pokazao da kombinacija kvercetina i propolisa sprečava oštećenje leukocita izloženim γ -zračenju sa visokom efikasnošću i smanjuje oštećenje DNK kod miša.



Slika 2.9. Kvercetin

Kemferol (slika 2.10) pokazuje antioksidativnu, antiinflamatornu i imunomodulatornu aktivnost (Lee i sar, 2010; Crespo i sar, 2008), kao i miricetin i kvercetin. Sva tri flavonola inhibiraju oslobađanje histamina iz mastocita (Middleton, 1986). Kvercetin i kemferol inhibiraju oslobađanje medijatora inflamacije $\text{TNF-}\alpha$, $\text{IL-1}\beta$ i IL-6 , dok miricetin deluje inhibitorno samo na $\text{TNF-}\alpha$ i IL-6 u RBL-2H3 kulturi mastocita (Park i sar, 2008). Kemferol poboljšava sekretornu ulogu insulina, kao i njegovu sintezu u beta-ćelijama pankreasa. Ovo ukazuje da se kemferol može upotrebiti u tretmanu dijabetesa i očuvanju funkcije pankreasa (Zhang i Liu, 2011). Pored svega navedenog, kemferol ispoljava i antihipertenzivno i lipolitičko dejstvo (Loizzo i sar, 2007; Olszanecki i sar, 2008; da-Silva i sar, 2007; Yu i sar, 2006). Ovaj flavonoid deluje citotoksično u visokim dozama ($\geq 30 \mu\text{M}$), uzrokujući apoptozu ćelija osteosarkoma i kancera pluća (Huang i sar, 2010; Nguyen i sar, 2003), pri čemu ne ispoljava citostatsko dejstvo na ostale ćelije u istim koncentracijama (Ruiz i sar, 2006; Sharma i sar, 2007). Ovaj podatak ukazuje da dijetetski unos kemferola neće ispoljiti značajna neželjena dejstva, jer su fiziološki nivoi flavonoida u cirkulaciji do $10 \mu\text{M}$ nakon *per os* unosa.



Slika 2.10. Kemferol

2.3.2. Antocijani

Antocijani su heterozidi antocijanidina i predstavljaju dominantnu grupu polifenola u jagodastom voću. Sadržaj antocijana je najveći u jagodi (do 180 µg/g) i crnoj ribizli (do 400 µg/g) (Terry i sar, 2007; Giné Bordonaba i sar, 2008; Borges i sar, 2010). To su pigmenti voća, odgovorni za širok spektar boja (od tamno crvene do plave) vidljiv i ljudskom oku. Kod ploda crne ribizle su odgovorni za tamno ljubičastu boju zrelog ploda (Andersen, 2002). Boja crne ribizle je, pored ostalog, odgovorna i za kvalitet ovog voća (Giné Bordonaba i sar, 2011).

Do danas je poznato preko 500 antocijana, u čiji sastav ulazi oko 23 različitih antocijanidina. Oni se uglavnom razlikuju po broju hidroksilnih i metoksi grupa, kao i prirodi, broju i mestu vezanih šećera. Od ovog broja, šest antocijanidina su najčešće prisutni u voću, povrću i cvetovima: cijanidin, delfinidin, malvidin, peonidin, petunidin i pelargonidin. Najčešći šećeri koji se vezuju za aglikone antocijana su glukoza, rutinoza, ramnoza, galaktoza, arabinoza i ksiloza.

Antocijani su najzastupljeniji u epidermalnom sloju omotača i od njih potiče tamna boja ploda crnih ribizli (Krisch i sar, 2009; Oszmianski i Wojdyło, 2009), nalaze se i u pulpi bobičastog voća, kao i u tkivima koja okružuju seme (nar i breskva) (Steyn, 2009). Na njihovu produkciju utiču i različiti faktori životne sredine, kao što su svetlost, temperatura, prisustvo minerala, podneblje i mnogi drugi faktori.

Sorte voća se različito ponašaju kada se radi o sintezi antocijana kao odgovor na svetlost. Naime, svetlocrveno voće je osetljivije na promene u svetlosti u odnosu na tamnocrvene, ljubičaste i crne plodove (Kliwer, 1970; Steyn i sar, 2004b). Ovo je objašnjeno time da su mnogo veće promene u koncentraciji antocijana potrebne da se indukuje vidna promena u boji kod voća sa jako obojenim omotačem u odnosu na onaj koji sadrži malo antocijana (Steyn i sar, 2004b). Boja voća je tamnija ukoliko ima više pigmenta jer se smanjuje odbijanje svetlosti. Kada količina antocijana dostigne nivo gde se skoro sva svetlost apsorbuje, dodatak pigmenta ne dovodi do dalje promene boje i voće se čini crno. Činjenica je da sunčevo zračenje stimuliše fenilalanin amonijum liazu (PAL) i halkon sintetazu kao i enzime drugih grana fenilpropanoidnog puta sinteze. PAL katalizuje nastanak *trans*-cimetne kiseline iz L-fenilalanina, i dalju sintezu kompleksnih fenolnih jedinjenja kao što su flavonoidi i tanini (Dixon i Paiva, 1995). Uticaj svetlosti na sintezu antocijana proučavao se primenom mreža koje su pravile senku

i upoređivao sa istom sortom koja je rasla na otvorenom, na istoj lokaciji. Utvrđeno je da senka smanjuje sintezu ukupnih polifenola, ali da se sinteza antocijana ne odvija kod svih sorti po istom pravilu i da zavisi od genotipa, kao i drugih mikrouslova sredine. Sorta Ben Sarek sintetisala je više antocijana u senci, dok je sorta Ometa sintetisala velike količine antocijana i u senci i izložena svetlosti (Šavikin i sar, 2013).

Temperatura je, pored svetlosti, jedan od najvažnijih faktora životne sredine koji utiču na sintezu antocijana. Niske temperature pre sakupljanja i/ili tokom skladištenja favorizuju sintezu antocijana, što je dokazano kod jabuka, kruški, grožđa, brusnice i aronije (Curry, 1997; Hall i Stark, 1972; Kliewer, 1970; Naumann i Wittenburg, 1980; Steyn i sar, 2004a). Visoke temperature dovode do degradacije antocijana i gubitka crvene boje pre branja kod krušaka (Steyn i sar, 2004b). Pored niskih noćnih temperatura, kod zrelih jabuka sintezu antocijana pospešuju umerene dnevne temperature između 20°C i 25°C (Curry, 1997). Kod nedozrelih jabuka, za sintezu antocijana su ipak potrebne niže temperature (Faragher, 1983).

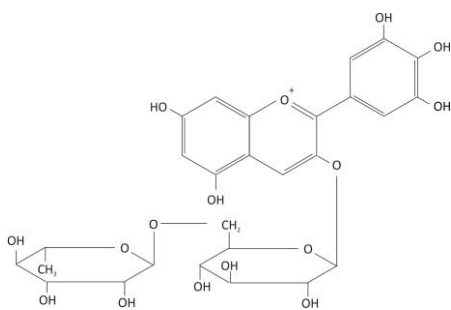
Prema podacima iz literature, nedostatak azota generalno pospešuje produkciju antocijana u vegetativnim organima i plodovima biljaka (Steyn i sar, 2002).

Intezivna analiza sadržaja antocijana u voću počelo je kada se utvrdio njihov lekoviti potencijal. Dokazano je da povećani unos voća i povrća smanjuje incidence nastanka KVB i drugih degenerativnih oboljenja, pa je tako u Finskoj urađena klinička studija po kojoj je ustanovljeno da povećan unos jagodastog voća dovodi do smanjenja srčanih bolesti i udara, za 60% (Puska i sar, 1995; Knekt i sar, 1996).

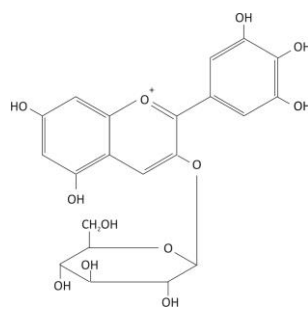
Poznato je da povećana upotreba antioksidanasa iz voća i povrća štiti od oštećenja proteine i DNK, kao i membranu ćelije, hvatajući slobodne radikale (Halliwell, 1996). Dosadašnja ispitivanja antocijana su pored antioksidativnog delovanja, pokazala i druga njihova lekovita svojstva, često povezana sa antioksidativnom ulogom – antiinflamatorna (Tabart i sar, 2012), neuroprotektivna i antikonvulzivna (Rodrigues i sar, 2012), hemoprotektivna (Bishayee i sar, 2011), antimikrobna, antifungalna, kao i sposobnost da smanje rizik od nastanka HNB (Ostertag i sar, 2010; Hakimuddin i Paliyath, 2011) i poboljšaju kognitivno ponašanje (Ebrahimi i Schluesener, 2012).

Za sok i plod crne ribizle dokazano je da su dominantna četiri antocijana i to: delfinidin-3-O-rutinozid (D3R), delfinidin-3-O-glukozid (D3G), cijanidin-3-O-rutinozid (C3R) i cijanidin-3-O-glukozid (C3G) (Slike 2.10-2.14). Oni čine do 97% od ukupnih antocijana (Määttä i sar,

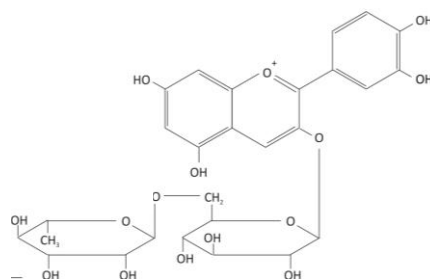
2003; Giné Bordonaba i sar, 2008; Miladinović i sar, 2014). Relativni odnosi dominantnih antocijana se razlikuju između sorti (Rumpunen i sar, 2011; Anttonen i Karjalainen, 2006; Nielsen i sar, 2003; Slimestad i Solheim, 2002). Rezultati istraživanja su pokazali da i među ovim antocijanima preovlađuju rutinozidi delfinidina i cijanidina (Nour i sar, 2013; Miladinović i sar, 2014). Antocijani se, pre svega, vezuju za antioksidativnu aktivnost, pa je Nielsen (2003) zaključio da kod soka crne ribizle oko 70% antioksidativne aktivnosti potiče od antocijana i vitamina C, dok ostatak pripisuje drugim potentnim antioksidansima prisutnim u soku crne ribizle. Borges (2010) je ustanovila da čak trećina antioksidativnog kapaciteta ploda crne ribizle (32.9%) potiče od D3R, a 18.9% od C3R. S druge strane, glikozidi miricetina i kvercetina su učestvovali sa 3.8%, odnosno 1.2% u antioksidativnoj aktivnosti. Kemferol nije detektovan u ovim uzorcima.



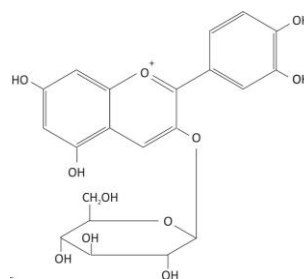
Slika 2.11. Delfinidin-3-O-rutinozid



Slika 2.12. Delfinidin-3-O-glukozid



Slika 2.13. Cijanidin-3-O-rutinozid



Slika 2.14. Cijanidin-3-O-glukozid

Smatra se da je ključna antioksidativna uloga antocijana u prevenciji kardiovaskularnih i neuoloških oboljenja, kancera i dijabetesa - HNB.

2.4. ANTIOKSIDATIVNA AKTIVNOST

Živi organizmi poseduju redoks-sisteme, koji održavaju funkcije organizma u stanju ravnoteže. Međutim, u pojedinim stanjima, ovi sistemi mogu biti prevaziđeni velikom količinom slobodnih radikala, kao što su NO (azot-monoksid), ROS ili RNS, i koji u normalnom funkcionisanju organizma učestvuju u ćelijskoj signalizaciji (Droge, 2002; Jing, 2006). Pored slobodnih radikala, koje karakteriše prisustvo nesparenog elektrona u spoljašnjoj orbiti, na organizam deluje i klasa neradikalnih jedinjenja, kao što su vodonik-peroksid (H_2O_2) i peroksinitrit-jon ($ONOO^-$), koji deluju sličnim mehanizmom kao slobodni radikali, iako nemaju nespareni elektron (Đukić i sar, 2008). Sva ova jedinjenja svakodnevno nastaju u aerobnim organizmima kao odgovor na uticaje iz spoljašnje sredine, ali i unutrašnje stimuluse (pušenje, jonizacija, UV-zračenje, uzimanje antibiotika i ksenobiotika, i izlaganje pesticidima i teškim metalima, zagađivačima životne sredine). Tada dolazi do oksidacija proteina, enzima i DNK i nastupa oksidativni stres, koji je jedan od faktora razvoja hroničnih degenerativnih bolesti, u koje se ubrajaju koronarna bolest srca, kancer i starenje (Dai i Mumper, 2010). Slobodni radikali deluju i na nezasićene masne kiseline ćelijske membrane što pokreće kaskadni niz reakcija lipidne peroksidacije, i remeti integritet i strukturu ćelije, smanjuje kapacitet transporta i produkcije energije u ćeliji. Na lipidnu peroksidaciju su osetljivi i lipoproteini kao i molekuli koji sadrže lipide (Lobo i sar, 2010).

U skorije vreme je utvrđeno da fenolna jedinjenja iz biljaka imaju sposobnost inhibisanja oksidacije lipida (Xu, 2012). Fenolna jedinjenja mogu biti hidrofilnog karaktera (kvercetin, miricetin), koja se nalaze u različitom voću, povrću i začinskom bilju. Mogu biti i lipofilnog karaktera (vitamin E), koji su zastupljeni u žitaricama, orašastim plodovima, soji (Xu, 2012). Svi ovi fenolni antioksidansi se smatraju efikasnim modulatorima koji smanjuju intracelularni oksidativni stres organizma i preveniraju bolesti koje nastaju usled delovanja proizvoda lipidne oksidacije (Robards i sar, 1999).

Crne ribizle pokazuju pozitivne povoljne (blagotvorne) efekte na zdravlje ljudi, pored svoje hranljive vrednosti. Antioksidativno delovanje, jedno od funkcija kojom crne ribizle ostvaruju svoju biološku aktivnost, može se objasniti prisustvom i dejstvom polifenola uopšte, a posebno delovanjem antocijana. Antioksidativna aktivnost uzoraka veoma zavisi od hemijske strukture antocijana, pa neće svi pokazati istu ili sličnu sposobnost hvatanja različitih ROS ili

RNS. Antioksidativna sposobnost antocijana zavisi od osnovne strukturne orijentacije jedinjenja, jer orijentacija prstena određuje lakoću kojom će se vodonikov atom iz OH-grupe donirati (vezati) za slobodan radikal, kao i kapacitet antocijana da veže neupareni elektron (Kay, 2004). Naime, antioksidativna (AO) aktivnost antocijana najviše zavisi od broja hidroksilnih grupa oko pironovog prstena, te što je veći broj hidroksilnih grupa, bolja je i AO aktivnost. Pa je tako delfinidin najefikasniji prema superoksidnom anjonu, a pelargonidin pokazuje najbolju aktivnost u hvatanju OH-radikala (Tsuda, 1996; Antal i sar, 2003).

Pored OH-grupa, i različit broj vezanih šećera i njihovo mesto u antocijanidinu, mogu različito uticati na AO aktivnost antocijana (Wang i sar, 1997; Antal i sar, 2003; Kähkönen i Heinonen, 2003). Broj šećera vezanih za C3 veoma je značajan za AO aktivnost, pa su isti autori ustanovili da, ukoliko je manji broj šećera vezan, veća je aktivnost antocijana. Naime, D3R i C3R su pokazali slabiju efikasnost u hvatanju 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) - slobodnog radikala u poređenju sa istim monoglukozidima. Naravno, naglašeno je da ovaj efekat veoma zavisi i od primenjene metode.

Postoji veliki broj metoda koje procenjuju AO aktivnost hrane, dijetetskih suplemenata, nutraceutika i bioloških tečnosti (Prior i Cao, 1999; Huang i sar, 2005; Besco i sar, 2007). Određivanje AO aktivnosti je prilično kompleksan proces jer zavisi od raznih faktora koji se mogu menjati, kao što su vrsta radikala koja se koristi, različite metode, supstrat koji se oksiduje, prisutvo metala, uzročnici (inicijatori) reakcija i mnogi drugi (Frankel i Mayer, 2000). Metode koje mere antioksidativni potencijal hrane i bioloških sistema mogu se podeliti u dve grupe: prvu koja meri sposobnost hvatanja slobodnih radikala i drugu, koja procenjuje lipidnu peroksidaciju (Miguel, 2010).

2.5. ANTIMIKROBNA AKTIVNOST

Mikroorganizmi predstavljaju opasnost po ljudsko zdravlje jer kontaminiraju hranu koju čovek koristi u svojoj ishrani. Dodavanje različitih konzervanasa u toku procesa proizvodnje konvencionalan je način povećanja bezbednosti hrane. Danas se zna o štetnosti sintetskih konzervanasa, te potrošači sve češće kupuju proizvode u kojima ih nema, tj. kupuju proizvode koji su prirodni, zdravi i bezbedni (Wu i sar, 2008). Ekstrakti biljnih vrsta i etarska ulja koja ispoljavaju antimikrobnu aktivnost, kao i jedinjenja izolovana iz istih (kao što su fenolna

jedinjenja), dobra su zamena za sintetske konzervanse. Ovi prirodni konzervansi, pored produžetka roka trajanja namirnica, uglavnom smanjuju opasnost po zdravlje ljudi i životinja, kao i ekonomske gubitke prouzrokovane mikrobiološkom kontaminacijom hrane (Conner, 1993; Dorman i Deans, 2000).

Od jagodastog voća, dosta je proučavana brusnica (*Vaccinium macrocarpon*) i njen sok (Hong i Wrolstadt, 1986; Lee i sar, 2008), čije se bogatstvo u sadržaju polifenolnih jedinjenja (antocijana, proantocijanidina i fenolnih jedinjenja), povezuju sa značajnom antimikrobnom aktivnošću koju ova vrsta ispoljava (Lin i sar, 2005; Guo i sar, 2007; Apostolidis i sar, 2008; Wu i sar, 2009). Poznato je i da je dejstvo brusnice na mikroorganizme povezano sa niskom pH vrednošću ploda, ali je pretpostavljeno da prisutna bioaktivna jedinjenja ispoljavaju antimikrobnu aktivnost (Wu i sar, 2008). Na primeru brusnice, dokazano je da kondenzovani tanini, proantocijanidini, antocijani i flavonoli zaista imaju antibiotski efekat (Häkkinen i sar, 1999b; Leitao i sar, 2005; Puupponen-Pimiä i sar, 2005). Ova jedinjenja deluju na mnoge patogene bakterije, među kojima su vrste *Helicobacter*, *Salmonella*, *Staphylococcus*, *Escherichia* i *Campylobacter*, te se mogu koristiti u tretmanu i prevenciji mnogih bolesti, kao što su infekcije urinarnog trakta, čir želuca, karijes i kancer (Heinonen i sar, 2007). Njihov mehanizam delovanja ispoljava se putem destabilizacije i permeabilizacije citoplazmatske membrane, inhibiranja ekstracelularnih mikrobni enzima, direktnog delovanja na metabolizam bakterije i razgradnje hranljivih supstanci potrebnih za njihov rast (Puupponen-Pimiä i sar, 2005).

Prema istraživanjima Puupponen-Pimiä i saradnika (2005) stepen hidrosilacije može uticati na antimikrobni potencijal čistih fenolnih jedinjenja. Povećanje broja hidrosilnih grupa u prstenu B flavonola i flavone pozitivno korelira sa povećanjem antimikrobne aktivnosti prema bakterijama mlečno-kiselinskog vrenja. Ista autorka je zaključila da fenolne kiseline deluju samo na Gram-negativne bakterije, što se objašnjava razlikom u građi ćelijskog zida Gram-pozitivnih i Gram-negativnih bakterija (Puupponen-Pimiä i sar, 2001). Ekstrakti fenolnih jedinjenja jagodastog voća inhibirale su rast bakterija iz rodova *Staphylococcus*, *Escherichia*, *Salmonella*, *Helicobacter*, *Bacillus*, *Clostridium* i *Campylobacter* a nisu delovala bakterije iz rodova *Lactobacillus* i *Listeria*.

Poznato je da polifenoli ispoljavaju antimikrobno dejstvo. S druge strane, i mikrobne glukozidaze i glukuronidaze mogu uticati na bioaktivnost glikoziliranih jedinjenja menjajući ih na različite načine. Naime, intestinalna mikroflora sadrži oko 10^{14} bakterija iz 400 vrsta.

Mikroflora creva ima centralnu ulogu u metabolizmu i bioraspoloživosti flavonoida. Povećanjem broja i aktivnosti probiotičkih bakterija u debelom crevu, kao što su *Lactobacillus* i *Bifidobacterium*, moguće je ublažiti simptome intolerancije na laktozu, izlečiti ili prevenirati dijareju i stimulirati imuni odgovor (Salminen i Saxelin, 1996).

Najčešći uzročnici kontaminacije hrane i vode su bakterije koje, s jedne strane, povećanjem brojnosti, izazivaju infekcije gastrointestinalnog sistema kod ljudi (*Campylobacter jejuni*, *Escherichia coli* i *Salmonella enterica* sv. *typhimurium*, dok s druge strane, produkcijom toksina, dovode do alimentarnih intoksikacija (*Bacillus cereus*, *Clostridium perfringens* i *Staphylococcus aureus*). *Candida albicans* je oportunistički patogen. Ona predstavlja deo normalne flore creva, ali je takođe i najčešći izazivač lokalnih infekcija kože i sluzokože organizma (Tsiotou i sar, 2005). Ekstrakt močvarne jagode (*Rubus chamaemorus*, Rosaceae) ispoljio je najjaču antimikrobnu aktivnost i potpuno inhibirao rast *Bacillus cereus*, *Campylobacter jejuni*, *Clostridium perfringens*, *Helicobacter pylori*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* i *Candida albicans*, a dobro su delovali i ekstrakti maline i jagode s tim da je kod njih izostala aktivnost u odnosu na *Campylobacter jejuni* i *Candida albicans*. Najslabije dejstvo su pokazali ekstrakti aronije (*Aroniamacrocarpon*, Rosaceae), jarebice (*Sorbusaucuparia*, Rosaceae), sibirske crne mahunice (*Empetrumnigrum*, Ericaceae) i pasdrena (*Rhamnuscathartica*, Rhamnaceae) (Nhoynek i sar, 2006). Cavanagh (2003) je, takođe, dokazao inhibitornu aktivnost ekstrakta nekoliko vrsta jagodastog voća, uključujući malinu i crnu ribizlu, na širok spektar patogenih bakterija, i Gram-pozitivnih i Gram-negativnih.

2.5.1. Gram-negativne bakterije

Rod *Escherichia*

Ove bakterije su štapičastog oblika. Nalaze se kao pojedinačne ili u parovima, mogu biti pokretne (peritrahalne flagele) ili nepokretne. Kod mnogih sojeva su prisutne kapsule i mikrokapsule. Aerobi su, ali i fakultativni anaerobi. Odlikuju se visokom sposobnošću fermentisanja velikog broja šećera (Bergey's Manual of Determinative Bacteriology).

Rod čine pet vrsta: *E. coli*, *E. hermannii*, *E. fergusonii*, *E. vulneris* i *E. blattae* (Bergey's Manual of Systematic Bacteriology).

Escherichia coli se odlikuje velikom otpornošću na temperature koje su dosta ispod 0°C, a temperatura od 60°C ih uništava tek nakon 15-20 minuta. Osetljiva je na hlór i njegova jedinjenja. Ovu vrstu karakteriše produkcija više toksina: endotoksin, enterotoksin i alfa- i beta-hemolizini.

Escherichia coli predstavlja normalan deo crevne mikroflore čoveka i toplokrvnih životinja. U GIT-u čoveka učestvuje u transformaciji belančevina i ugljenih hidrata, sintetishe vitamin B12 i antibiotik kolicin. Kada dođe do slabljenja imunog sistema, može da izazove crevne poremećaje, urinarne infekcije, pneumoniju, meningitis i sepsu. Posebno treba obratiti pažnju kod bolesnika čiji su odbrambeni mehanizmi oslabljeni nekom drugom bolešću (dijabetes, karcinom), kao i upotrebom kortikosteroida, antibiotika ili zračenja. Izvor *E. coli* su prvenstveno izmet i mokraća obolelih ljudi i životinja.

Terapiju oboljenja izazvanih *E. coli* čini upotreba antibiotika sulfonamida, ampicilina, cefalosporina i tetraciklina.

Postoji pet vrsta intestinalnih infekcija, u zavisnosti od vrste *E. coli* koja je izazvala infekciju i toksina koji produkuje. Prva je enterotoksigena *E. coli* (ETEC), koja izaziva infekciju indirektno, preko kontaminirane hrane ili vode ili direktno, preko obolele osobe. Kolonizaciju mukoze tankog creva ove bakterije postižu uz pomoć dve vrste enterotoksina – ST-toksina (termostabilan) i LT-toksina (termolabilan). Ova vrsta *E. coli* izaziva tzv. putničku dijareju (traveler's diarrhea).

Druga vrsta je enterohemoragična *E. coli* (EHEC) koja produkcijom egzotoksina (*shiga-like* toksin ili verotoksin), napada ćelije debelog creva izazivajući različite forme krvavih dijareja (hemoragični kolitis). Posebno je opasan soj O157:H7, gde se uz dijareju može razviti i hemolitičko-uremijski sindrom. Ovaj soj patogena se najčešće može naći u pasterizovanom mleku i nedovoljno termički obrađenom goveđem mesu.

Treća vrsta *E. coli* je enteropatogena *E. coli* (EPEC), uzročnik dijareja kod dece. Ova vrsta napada mukozu tankog creva i uništava mikrovile ćelija, stvarajući oštećenja koja izazivaju toksini slični onima koje produkuje šigela (*shiga-like* toksini).

Enteroinvazivne *E. coli* (EIEC) su uzročnici oboljenja sličnog dizenteriji, praćenog temperaturom i krvavim stolicama. Izazivači su putničke dijareje, posebno kod mlađe dece.

Enteroagregativne *E. coli* (EAEC) su uzročnici akutnih i hroničnih dijareja, koje mogu trajati i do 2 nedelje. Svoju patogenost postižu produkcijom hemolizina i toksina sličnog ST-toksinu (Mihajilov-Krstev, 2009).

Rod *Salmonella*

Ove bakterije su štapićastog oblika, kreću se uz pomoć peritrahijalnih flagela. Ne proizvode endotoksine i nemaju vidljivu kapsulu. Rastu na obogaćenim podlogama u aerobnim i anaerobnim uslovima. Kao i *E. coli*, fermentišu veliki broj šećera, uz proizvodnju kiselina i gasa.

Odlikuju se velikom otpornošću na niske temperature (u ledu i zamrznutoj zemlji ostaju žive preko cele zime). Temperatura od 56°C ih ubija nakon 20-30 minuta. Osetljive su na hlor i jedinjenja selen. Toksičnost postižu produkcijom endotoksina. Najveći broj članova roda *Salmonella* je patogen i za životinje i za čoveka. Oboljenja koje izazivaju se nazivaju salmonelozama i mogu se podeliti u tri grupe (Mihajilov-Krstev, 2009).

Prva su opšte ciklične zarazne bolesti, koje izazivaju *S. typhi* i *S. paratyphi* A, B i C. One izazivaju trbušni tifus, odnosno paratifusni sindrom i patogene su samo za čoveka. Prenosilac infekcije je čovek indirektno preko namirnica, predmeta, kao i fekalnim zagađenjem vode ili zemlje (Mihajilov-Krstev, 2009).

Druga grupa su alimentarne toksoinfekcije. One započinju unosom endotoksina (intoksikacija), koji najčešće prati infekcija i ispoljava kao akutni gastroenteritis. Uzročnici su *S. enteritidis*, *S. typhimurium*, *S. thompson*, *S. newport*, *S. derby*, *S. anatum* i mnoge druge.

Treća grupa oboljenja su enteritisi koji se sporo razvijaju i mogu trajati duže vreme, praćeni sluzno-gnojnim dijarejama. Izazivači su serotipovi koji nose naziv *Salmonella enterica* subspecies *enterica* serotip Enteritidis (*Salmonella enteritidis*) i broje preko 2500 različitih tipova koji su odgovorni za 85% svih salmoneloza (Guard-Petter, 2001).

Iako su ranije trovanja izazvana rodom *Salmonella* bila povezana sa životinjskim proizvodima, u skorije vreme je utvrđeno da je i sveže voće i povrće bilo izvor zaraze, naročito u skorašnje vreme. Bakterija preživljava i na hrani sa malim procentom vlage, kao što su začini i na taj način se mogu prenositi i izazvati epidemiju. Namirnice koje su bile povezane salmonelozom su meso, živina, jaja, mleko i mlečni proizvodi, riba, škampi, začini, kvasac, kokos, sosevi, sveže pripremljeni prelive za salate sa živim jajima, dezerti i šlagovi koji sadrže

živa jaja, sušeni želatin, puter od kikirikija, kakao, čokolada i sveže voće i povrće (paradajz i paprika) (FDA).

Antibiotska terapija uključuje upotrebu različitih antibiotika. Kod enteritisa deluju β -laktamski antibiotici i fluorohinoloni, dok se kod invazivnih salmoneloza koriste ampicilin, trimetoprim-sulfametoksazol (Bactrim[®]) ili cefalosporini treće generacije (Strohl i sar, 2001). Najveći problem predstavlja transmisija plazmida između samih bakterija, koji prenose gene za rezistentnost na određene antibiotike. Ovo uslovljava upotrebu antibiogram testova, radi izbora odgovarajuće terapije (Jawetz i sar, 2007).

Rod *Pseudomonas*

Rod *Pseudomonas* karakterišu pravi ili malo zakrivljeni štapići, sa jednom ili nekoliko polarnih flagela. Aerobi su, široko rasprostranjeni u prirodi. Neke vrste su patogene za čoveka, životinje i biljke (Bergey's Manual of Determinative Bacteriology).

Najpoznatiji i najčešći uzročnik infekcije ovim rodom je *Pseudomonas aeruginosa*. Ovaj štapićasti aerob je otporan na temperature do 42°C. Ne fermentiše šećere. Široko je rasprostranjen u zemlji, vodi i namirnicama. Toksičnost potiče od egzotoksina, endotoksina, enzima (elastaza i proteaza) i hemolizina (termostabilna fosfolipaza C i termostabilni glikolipid) (Jawetz i sar, 2007). Može izazvati meningitis, infekcije pluća, oka, gastrointestinalnog i urinarnog trakta, kože i rana.

Ova bakterija je prirodno otporna na antibiotsku terapiju penicilinima i β -laktamima, zbog specifičnosti građe ćelijskog zida, koji sadrži porine i ABC transportere - pumpe koje izbacuju antibiotik iz ćelije pre nego što počne da deluje. Veoma brzo razvija i rezistenciju. Zato se u lečenju primenjuje agresivna kombinovana terapija aminoglikozidima i antipseudomonalnim β -laktamima ili hinolonima (Strohl i sar, 2001).

2.5.2. Gram pozitivne bakterije

Rod *Staphylococcus*

Stafilokoke su bakterije loptastog oblika grupisane u nepravilne grozdove. Nepokretne su i ne formiraju endospore. Samo neke loze imaju kapsulu, dok je većina bez nje. Fakultativni su anaerobi. Ne fermentišu mnoge ugljene hidrate, ali većina patogenih vrsta fermentiše manitol.

Spadaju u grupu vrlo otpornih bakterija. Temperatura od 60°C ih uništava tek nakon 1 sata, a neki mogu izdržati temperaturu od 80°C. Otporne su i prema sušenju.

Veoma su rasprostranjene u prirodi. Nalaze se u vodi, vazduhu, namirnicama i na raznim predmetima.

Patogene stafilokoke svoju toksičnost postižu produkovanjem sledećih toksina: leukocidina (koji vrši destrukciju humanih leukocita), hemolizina (koji vrše lizu životinjskih eritrocita), dermatoksina, enterotoksina, eritrogenog toksina. Od enzima produkuju koagulazu, fibrinolizin, hijaluronidazu, proteaze, fosfataze, lipaze i beta laktamaze (Mihajilov-Krstev, 2009).

Najznačajnije vrste roda su *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* i *Staphylococcus saprophyticus*.

Patogene stafilokoke mogu napasti sve organe i tkiva čoveka. Izvor zaraze je nosni i nazofaringealni sekret. Prenose se vazduhom, direktnim ili indirektnim kontaktom. Najčešće izazivaju kožne infekcije, pneumonije i oboljenja sluzokože (rinitise, laringitise i infekcije usne šupljine). Mogu izazvati i teža oboljenja, kao što su artritis, osteomijelitis, pleuralna oboljenja, meningitis i razne apcese. Ukoliko dospeju u krv, mogu izazvati tešku stafilokoknu sepsu. Vrlo su česte i alimentarne toksoinfekcije izazvane enterotoksinom stafilokoka. One se prenose namirnicama, naročito onima koje sadrže visoke koncentracije šećera i NaCl (Mihajilov-Krstev, 2009).

Terapija penicilinom je bila izuzetno efikasna na stafilokoknim oboljenjima, dok bakterije nisu stekle rezistenciju. Za sada su efikasni eritromicin, kanamicin, kao i neka novija polusintetska jedinjenja penicilina (Karakašević, 1977).

Staphylococcus aureus ili zlatni stafilokok je dobio ime po zlatno-žutoj boji svojih kolonija. Spada u fakultativne anaerobe, jer može opstati i bez kiseonika, iako joj je potreban za dobijanje energije. Toksičnost *S. aureus* potiče od brojnih enzima i toksina koje produkuje. Od toksina sintetiše intracelularne (faktor nagomilavanja, fibronektin vezujući faktor) i ekstraselularne metabolite (α , β , γ i δ toksini i superantigeni egzotoksini). Enterotoksini A-E, G, H i I su prisutni u pokvarenim namirnicama. Nastaju vrlo brzo i veoma su termostabilni (ne uništava ih ni temperatura od 100°C kojoj su izloženi više od 30 minuta). Zato spadaju u superantigene (Mihajilov-Krstev, 2009).

S. aureus je prisutan na koži i sluzokoži i bolesti koje izaziva mogu biti invazivne (prodor bakterija u organizam), intoksikacijske (delovanjem toksina) i kombinacija ove dve grupe. U terapiji se koriste β -laktamaza rezistentni penicilini (nafcilin i oksacilin). Široka primena antibiotika dovela je do pojave i selekcije mnogih rezistentnih sojeva. Najpoznatiji primer je meticilin rezistentni *S. aureus* (MRSA). Na njega deluje svega nekoliko antibiotika (vankomicin), te se pacijenti zaraženi ovim sojem moraju izolovati i na taj način sprečiti širenje infekcije (Strohl i sar, 2001).

Stafilokok je široko rasprostranjen. Može se naći u vazduhu, prašini, kanalizaciji, vodi, mleku, hrani, posuđu i priboru, na čoveku i životinjama. Hrana koja je najčešće povezivana sa trovanjima izazvanim stafilokokom su meso i proizvodi od mesa, živine, proizvodi sa jajima, salate sa jajima, tunjevinom, piletinom, krompirom, zatim peciva koja su sadržala kremove, mleko i mlečni proizvodi. Takođe, hrana koja je zahtevna za pripremu i koja je držana na višoj temperaturi od propisane neki duži period vremena nakon pripreme često bila uzročnik stafilokoknog trovanja hranom (FDA, 2012).

Simptomi trovanja se javljaju veoma brzo (1-7h), i uključuju mučninu, grčeve, proliv i povraćanje. Uglavnom su akutni, što zavisi od individualne osetljivosti na toksin, količine unetog toksina i opšteg zdravlja. Bolest traje od nekoliko sati do jednog dana i najčešća komplikacija je dehidracija organizma (FDA, 2012).

Rod *Bacillus*

Ovaj rod čine bakterije štapićastog oblika, sa zaobljenim krajevima. Mogu se naći kao pojedinačne, u parovima i u vidu lanaca. Većina je pokretna. Aerobne su ili fakultativno anaerobne. Obrazuju endospore koje su otporne na toplotu. Većina vrsta roda *Bacillus* su saprofiti, široko rasprostranjeni u zemljištu, vodi, biljkama i vazduhu.

Bacillus cereus

Bacillus cereus je pokretan, aerob (fakultativni anerob). Spore koje produkuje su otporne na toplotu, zamrzavanje, sušenje i zračenje i predstavljaju infektivni agens ovih bakterija. Ovo predstavlja poseban problem u industriji hrane, jer su otporne na pasterizaciju i γ -zračenje, a njihova hidrofobna priroda omogućava im da adheriraju na površinu (FDA, 2012).

Prirodni izvori *B. cereus* su mesta raspada organskih materija, slatke i morske vode, povrće, kao i intestinalni trakt beskičmenjaka, koji mogu da kontaminiraju zemljište i hranu (Bottone, 2010). Patogenost *B. cereus* potiče od produkcije egzoenzima i toksina - 4 hemolizina, tri različite fosfolipaze, toksina koji izaziva povraćanje i proteaze.

Postoje dva priznata načina trovanja hranom izazvane *B. cereus*, koje izazivaju dva različita metabolita. Prvi tip je dijareja izazvana proteinom velike molekulske težine. Simptomi se javljaju 6-15h nakon konzumiranja kontaminirane hrane i uključuju vodenaste prolive, grčeve i bol. Simptomi najčešće traju do 24h. Ovaj tip oboljenja povezan je sa različitim vrstama kontaminirane hrane, kao što su meso, mleko, povrće i riba. Drugi tip je emetički (povraćanje), izazvan termostabilnim peptidom male molekulske težine. Simptomi se javljaju 0.5-6h nakon uzimanja kontaminirane hrane. Mogu se javiti abdominalni grčevi i/ili dijareja. Obično traje manje od 24h. Hrana koja se najčešće kontaminira ovim peptidom su uglavnom proizvodi od pirinča, ali i druge namirnice bogate skrobom, kao što su krompir i testenina. Pudinci, sirevi, sosovi, supe, peciva i salate za koje se smatralo da su uzročnici prilikom izbijanja trovanja hranom, pokazali su kontaminiranost (FDA, 2012).

B. cereus je rezistentan na peniciline i cefalosporine kao posledica produkcije β -laktamaze. Dokazano je da su podložne dejstvu eritromicina, klindamicina, hloramfenikola, vankomicina, aminoglikozida i tetraciklina. Ciprofloksacin je delovao uniformno na sve sojeve i veoma efikasno pri lečenju rana inficiranih *B. cereus* (Bottone, 2010).

Rod *Listeria*

Listeria monocytogenes

Listeria monocytogenes je štapić, pokretan (flagela) i jedan je od najčešćih uzroka smrtnosti usled trovanja hranom. *L. monocytogenes* je izuzetno termostabilna. Ona ne samo da preživljava na temperaturama ispod 1°C, već se i razmnožava. Ona je ubikvitarna u životnoj sredini i može se naći u vlažnoj sredini, zemljištu i vegetaciji koja se raspada (FDA, 2012).

Infekcije *L. monocytogenes* uzrokuju dve forme oboljenja kod čoveka:

Prva su neinvazivna gastrointestinalna oboljenja, koja se uglavnom javljaju kod zdravih ljudi. Naime, kod ljudi sa dobrim imunim sistemom, *L. monocytogenes* izaziva akutni febrilni gastroenteritis, kod koga inkubacija traje kratko i simptomi se javljaju u roku od nekoliko sati do

2-3 dana. Neke osobe i ne razviju simptome bolesti, dok neke prati groznica, mučnina, povraćanje, bolovi u mišićima i ponekad dijareja.

Druga vrsta je mnogo ozbiljnija, invazivna forma bolesti, koja može uzrokovati sepsu i meningitis. Inkubacija kod ovog oblika traje duže, od 3 dana do 3 meseca. Populacije koje su ugrožene ovom formom su starije i imunokompromitovane osobe. Trudnice mogu osetiti blage simptome, slične gripu, međutim, infekcija može dovesti do prekida ili letalnog ishoda trudnoće. Trećina potvrđenih slučajeva infekcije *L. monocytogenes*, prenete sa majke na fetus završava na ovaj način. Živorodne bebe mogu imati upalu moždanih ovojnica tj. meningitis (FDA, 2012).

Različita hrana može biti zaražena *L. monocytogenes*: sveže mleko, nepravilno pasterizovano mleko, čokoladno mleko, sirevi (naročito meki sirevi), sladoled, sirovo povrće, sirova živina i sve vrste mesa, fermentisane kobasice od živog mesa, hot-dog, sirova i dimljena riba i ostala morska hrana. Kako *L. monocytogenes* raste na temperaturama hlađenja, predstavlja ozbiljan problem u industriji hrane (FDA, 2012).

2.5.3. Sojevi gljiva

Rod *Candida*

Rod *Candida* je veoma brojan i heterogen. Najpoznatija vrsta je *Candida albicans*, koja je patogena za čoveka i toplokrvne životinje. Oboljenja izazvana ovom vrstom nazivaju se kandidijaze. One su prisutne u ustima, vagini, crevima i na koži i predstavljaju deo normalne flore. Infekcija ovim sojem nastaje usled upotrebe antibiotika koji nemaju fungicidno delovanje, pa dolazi do disbalansa između bakterijske i fungalne flore. Razlikujemo lokalne i sistemske kandidijaze koje se različito ispoljavaju.

Vaginalne i oralne kandidijaze leče se nistatinom i klotrimazolom, zatim ketonazolom, flukonazolom i itrakonazolom. Za lečenje sistemskog oblika se koristi amfotericin B ili u kombinaciji sa flucitozinom (Strohl i sar, 2001).

Rod *Aspergillus*

Ovaj rod pripada grupi micelijalnih gljiva – plesni. To su heterotrofni organizmi, čije se telo sastoji od cevastih struktura (hifa) i koje sadrže rezerve masnih kapi, glikogena i drugih materija. One mogu da se razvijaju pri visokoj vlažnosti i niskom pH. Saprofiti su i žive na

zemljištu i biljnim namirnicama. Bolesti koje ovaj rod izaziva, nazivaju se aspergiloze (Mihajilov-Krstev, 2009).

Najpoznatiji predstavnici ovog roda su *Aspergillus flavus*, *Aspergillus fumigates*, *Aspergillus parasiticus* i *Aspergillus niger*.

Aspergillus flavus je patogen koji može izazvati infekcije oka i uha kod ljudi. Takođe, rast *A. flavus* i *A. parasiticus* u hrani može izazvati trovanje usled produkcije aflatoksina i ima hepatokancerogeni efekat (Razzaghi-Abzaneh i sar, 2008; Dikbas i sar, 2008). *Aspergillus flavus* Link.: Fr. sintetiše aflatoksin B1, koji spada u najkancerogenije supstance biološkog porekla.

Aspergillus niger je vrlo rasprostranjen i po učestalosti je treća vrsta odgovorna za plućnu aspergilozu. On često dovodi do nastanka otomikoza i aspergiloma. Uzročnik je kontaminacije u laboratorijama (<http://www.mycology.adelaide.edu.au>).

2.6. SPAZMOLITIČKA AKTIVNOST

Funkcionalni gastrointestinalni poremećaji (FGIP) i poremećaji pokretljivosti creva najčešći su poremećaji gastrointestinalnog (GI) trakta u opštoj populaciji. Smatra se da svaka četvrta osoba (ili više) u SAD ima neki od ovih poremećaja (Talley, 2008; Parkman i Doma, 2006). Ovi poremećaji čine oko 40% GI problema koje dijagnostikuju i tretiraju lekari i terapeuti (Parkman i Doma, 2006).

Termin "funkcionalni" se uglavnom koristi kod poremećaja kontraktilnosti creva, aktivnosti nerava gastrointestinalnog sistema ili njihove kontrole pomoću centralnog nervnog sistema. Funkcionalne gastrointestinalne poremećaje karakteriše prisustvo hroničnih simptoma koji potiču od GI trakta. Po definiciji, osobe sa FGIP nemaju dokazane organske, sistemske ili metaboličke bolesti koje bi dale objašnjenje za ove simptome. Smatra se da funkcionalni gastrointestinalni poremećaji nastaju dejstvom kombinacije predisponirajućih genetskih faktora i uslova spoljašnje sredine (ishrana, akutni gastroenteritis, psihosocijalni faktori i mnogi drugi) (Drosman, 2006).

Poremećaji pokretljivosti creva mogu se manifestovati u obliku dijareje, spazma, konstipacije ili sindroma iritabilnih creva. Dijareja predstavlja čest medicinski problem od koga godišnje oboli 1 700 000 000 ljudi, a umre 3-5 000 000 ljudi. Ova bolest predstavlja drugi glavni uzrok smrtnosti dece ispod 5 godina, od kog godišnje umre 760 000 dece (WHO, 2013). Akutna

dijareja kod dece vodi do značajnog morbiditeta i mortaliteta, čak i u bogatim i razvijenim zemljama (Ryu i sar, 2004). Dijareja najčešće nastaje kao posledica infekcije intestinalnog trakta, koja može biti izazvana različitim bakterijama, virusima ili parazitima. Infekcija se prenosi kontaminiranom hranom, vodom ili sa osobe na osobu (WHO, 2013).

U skorije vreme, sve više se analizira potencijalna uloga hrane u nastanku FGIP, jer je nepravilna ishrana mogući uzročnik poremećaja gastrointestinalnog sistema ali i brojnih hroničnih bolesti (npr, kardiovaskularne bolesti, sistemska arterijska hipertenzija, gojaznost i dijabetes mellitus).

Gastrointestinalni sistem omogućava unos, razgradnju i apsorpciju hranljivih sastojaka i eliminaciju krajnjih produkata varenja hrane. Regulacija funkcije gastrointestinalnog sistema je kompleksna i bazira se na brojnim nervnim i humoralnim mehanizmima. Nervna regulacija gastrointestinalnog sistema odvija se pomoću mehanizama spoljašnje i unutrašnje inervacije. Spoljašnju inervaciju vrše neuroni koji inervišu digestivni sistem, čija se neuronska tela nalaze izvan digestivnog trakta i deo su autonomnog nervnog sistema. Sistem unutrašnje inervacije naziva se enterički nervni sistem i predstavljen je neuronima koji se nalaze u sastavu digestivnog trakta (submukozni i mijenterički plexus).

Inervacija digestivnog trakta vrši se parasimpatičkim i simpatičkim nervnim sistemom. Parasimpatička nervna vlakna preko n. vagusa i sakralnog nervnog plexusa (pelvičkih nerava) inervišu digestivni sistem. Iz moždanog stabla i sakralnog dela kičmene moždine polaze duga preganglijska nervna vlakna, koja se završavaju na ganglijama u zidu organa. Kratka postganglijska vlakna na svojim završecima oslobađaju acetilholin. Postganglijski parasimpatički neuroni su delovi enteričkog nervnog sistema.

Preganglijska vlakna simpatičkog nervnog sistema polaze iz kičmene moždine i završavaju se na simpatičkim ganglijama. Duga postganglijska vlakna inervišu krvne sudove i glatku muskulaturu digestivnog sistema. Takođe, simpatička nervna vlakna mogu se završiti u enteričkom nervnom sistemu. Na postganglijskim simpatičkim nervnim završecima oslobađa se noradrenalin, koji pomoću adrenergičkih receptora smanjuje motilitet digestivnog sistema a povećava tonus sfinktera.

Enterički nervni sistem se sastoji od mijenteričkog (Auerbahov plexus) i submukoznog (Majsnarov plexus) nervnog plexusa. Osnovna uloga mijenteričkog plexusa je kontrola motorike, dok submukozni plexus reguliše sekreciju žlezda i protok krvi u gastrointestinalnom

sistemu. Mijenterički plexus inervira uzdužne i kružne glatke mišiće gastrointestinalnog sistema. Submukozni plexus inervira žlezdani epitel, crevne endokrine ćelije i krvne sudove u submukozi i kontroliše intestinalnu sekreciju, apsorpciju i kontraktilnost submukoznih mišića.

Enterički nervni sistem može da funkcioniše samostalno, ali je pod uticajem vegetativnog nervnog sistema. Neuron enteričkog nervnog sistema stvaraju brojne neurotransmitere (acetilholin, noradrenalin, adenozin-trifosfat, serotonin, dopamin, holecistokinin, supstancu P, vazoaktivni intestinalni polipeptid, somatostatin, leu-enkefalin, met-enkefalin, azot-monoksid, bombesin). Osnovni neurotransmiter digestivnog sistema je acetilholin, koji stimuliše motoriku i sekreciju.

Kontrakcijama glatke muskulature tankog creva vrši se mešanje himusa, razlivanje sadržaja po mukozu radi bolje apsorpcije hranljivih sastojaka i potiskivanje ka debelom crevu. U tankom crevu se razlikuju dve vrste pokreta: segmentacioni i peristaltički pokreti. Istezanje dela tankog creva izaziva lokalne prstenaste kontrakcije - segmentacione pokrete. Segmentacioni pokreti nastaju kontrakcijama pretežno cirkularne muskulature pa se himus u segmentima creva potiskuje napred nazad, radi boljeg mešanja i apsorpcije. Ovi pokreti nastaju u pravilnim vremenskim intervalima i ponavljaju se.

Kod peristaltičkih pokreta sadržaj creva se potiskuje od oralnog kraja ka analnom kraju prosečnom brzinom 0.5-2 cm/min. Peristaltički pokreti su zasnovani na refleksu, najčešće nastaju istezanjem creva. Iznad mesta istezanja crevo se kontrahuje, dok se ispod mesta istezanja glatki mišići relaksiraju (receptivna relaksacija).

2.7. DEJSTVO NA KARDIOVASKULARNI SISTEM

Arterijski krvni pritisak predstavlja pritisak kojim krv deluje na jedinicu površine arterijskog krvnog suda. On zavisi od količine krvi koju srce ispumpa (minutni volumen srca) i promera krvnih sudova (periferni otpor). Krvni pritisak se može izraziti kao sistolni (pritisak koji se stvara u toku izbacivanja krvi iz komore srca) i dijastolni (pritisak koji se javlja u toku dijastole srčanih komora) (NIH). Povišen krvni pritisak je ozbiljno oboljenje kardiovaskularnog sistema koje može dovesti do koronarne bolesti srca, srčane insuficijencije, bolesti bubrega, moždanog udara i drugih zdravstvenih problema.

Poslednjih godina, postoji povećano interesovanje za prirodnijim načinima lečenja hroničnih oboljenja kardiovaskularnog sistema, kao što je uvođenje dijetetskog režima, povećanje fizičke aktivnosti i upotreba lekovitog bilja. Epidemiološke i kliničke studije su ukazale da je mogućnost nastanka kardiovaskularnih bolesti (KVB) smanjena ishranom bogatom voćem, povrćem, nerafiniranim žitaricama, ribom i bezmasnim mlečnim proizvodima, siromašnim u zasićenim masnim kiselinama i natrijumom. Poslednjih godina, jagodasto voće je došlo u žižu interesovanja zbog malog broja kalorija i visokog sadržaja bioaktivnih jedinjenja kao što su polifenoli, minerali, vitamini, dijetna vlakna. Iako su mehanizmi i dalje nedovoljno proučeni, smatra se da flavonoidi deluju na kardiovaskularne faktore rizika: poboljšavaju funkciju endotela i dislipidemiju, inhibiraju oksidaciju lipoproteina male gustine i smanjuju krvni pritisak. Teško je, međutim, odrediti da li je jedna dijetetska komponenta odgovorna za ove efekte ili je to posledica kombinacije ishrane i dijetetskih navika. Efekti voća i povrća na kardiovaskularni sistem su dozno zavisni, a zavise od vrste voća i povrća koje se konzumira (Assmann i sar, 2014).

Postoji veliki broj epidemioloških istraživanja koji su pokazali povezanost između unosa bobičastog voća, tačnije, unosa flavonoida ili antocijana, i smanjenja rizika od KVB, pa je studija 2013, koja je u periodu od 18 godina, pratila skoro 100 000 žena između 25 i 45 godina starosti, pronašla vezu između većeg unosa antocijana i smanjenja rizika nastanka infarkta miokarda za 32%, (Cassidy i sar, 2013). Za svakih 15 mg antocijana više u ishrani, zapažen je pad od 17% rizika nastanka infarkta miokarda.

Studija koja je ispitivala 35 000 žena u menopauzi u periodu od 16 godina, dokazala je vezu između unosa antocijana i smanjenja rizika nastanka koronarnih bolesti srca kao i stepena smrtnosti od KVB (Mink i sar, 2007). Ista studija je navela jabuke, kruške, jagode, čokoladu, mekinje i crveno vino kao hranu koja značajno utiče na smanjenje rizika od KVB.

Hipertenzija je vodeći uzrok nastanka KVB, koja dovodi do razvoja ateroskleroze i progresije bolesti. Pojedine studije na zdravoj i rizičnoj populaciji su istraživale promene u krvnom pritisku nakon unosa borovnica (Rodriguez-Mateos i sar, 2013), aronije (Naruszewicz i sar, 2007), brusnice (Dohadwala i sar, 2011), jagoda (Basu i sar, 2010), crnih ribizli (Jin i sar, 2011) ili pojedinih antocijana (Zhu i sar, 2011). Samo su dve studije pokazale poboljšanje vrednosti krvnog pritiska i to nakon unosa prečišćenih antocijana borovnice i crne ribizle (Zhu i sar, 2011) i aronije (Naruszewicz i sar, 2007). U prvoj studiji je unos od 320 mg antocijana

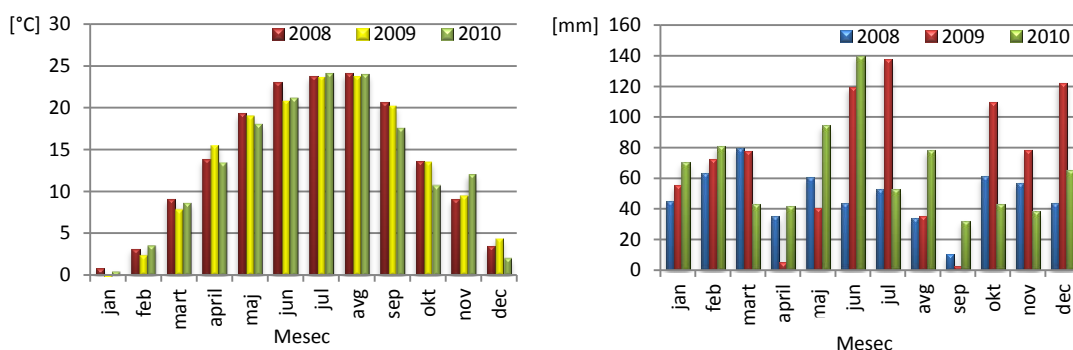
tokom 12 nedelja smanjio sistolni pritisak za 6.7 mm Hg stuba kod hiperholesteromičnih pacijenata u poređenju sa bazalnim vrednostima. U drugoj studiji je 44 pacijenata, koji su imali infarkt miokarda i na terapiji statinima, uzimalo standardizovan ekstrakt aronije koji je sadržao 64 mg antocijana, 128 mg procijanidina i 23 mg fenolnih kiselina, u periodu od šest nedelja. Ova suplementacija je dovela do sniženja sistolnog za 11 mm i dijastolnog krvnog pritiska za 7.2 mm.

Pored hipertenzije, hiperholesterolemija je jedan od glavnih faktora rizika razvoja KVB. Međutim, eksperiment u kome su dislipidemični pacijenti u toku 12 nedelja dnevno uzimali 160 mg antocijana izolovanih iz borovnice i crne ribizle, pokazali su da deluju i na koncentraciju lipoproteina u plazmi. Ovaj unos antocijana doveo je do porasta HDL za 13.7%, a smanjenja LDL za 13.6%, bez promena ukupnog holesterola i triglicerida (Qin i sar, 2009). U studiji Zhu i saradnika (2011) ista populacija ispitanika uzimala je 320 mg prethodno navedenog ekstrakta i došlo je do porasta HDL za 12.3% i smanjenja LDL za 10.8%, bez promena u ukupnom holesterolu, trigliceridima, apolipoproteinima AI i B, glukozi i insulinu. Ovo navodi na zaključak da dugotrajna upotreba jagodastog voća i njihovih proizvoda dovodi do održivog i relevantnog poboljšanja lipidnog statusa (Rodriguez-Mateos i sar, 2013).

3. MATERIJAL I METODE

3.1. BILJNI MATERIJAL

Sorte crne ribizle Tenah, Triton, Ometa i Ben Sarek, vrste *R. nigrum* brane su u periodu jun-jul 2008, 2009. i 2010. godine na eksperimentalnom polju Poljoprivrednog fakulteta u Beogradu. Eksperimentalno polje se nalazi u Mislođinu, pored Obrenovca, između dve reke, Save i Kolubare. Nadmorska visina ovog područja je od 80 do 90 m iznad nivoa mora, na 44°30' i 44°45' severne geografske širine i 20°00' i 20°20' istočne geografske dužine. Prosečna godišnja temperatura je iznad 11°C. Godišnji nivo padavina u ovom regionu je oko 640 mm/m². Zemljište na eksperimentalnom polju je peščana ilovača sa prosečnom pH vrednošću od 6.3. Klimatski uslovi, koji karakterišu tu oblast, blaži su od kontinentalne panonske klime. Prosečne temperature i količine padavina u toku svih meseci godina 2008, 2009. i 2010. date su na slici 3.1.



Slika 3.1. Prosečne temperature (levo) i prosečne količine padavina (desno) u periodu 2008-2010. u Mislođinu

Jednofaktorijalni eksperiment je postavljen na polju, izabranom metodom slučajnog uzorka, u pet ponavljanja i svako ponavljanje je izvedeno sa 4 žbuna po vrsti.

Plodovi su ručno brani, u zavisnosti od vremena sazrevanja svakog varijeteta, a zrelost je određivana na osnovu 90% obojenosti ploda. Plodovi jednog varijeteta sa sva četiri žbuna sakupljeni su zajedno (2500g) i to je predstavljalo reprezentativan uzorak sa kojim se dalje radilo.

Ribizle su gajene u sistemu integrativne zaštite, što podrazumeva minimalnu upotrebu hemikalija. Sokovi su pravljeni od svežih, neoštećenih plodova ručnim ceđenjem i na taj način su

odvojeni opna i semenke od pulpe. Ovako pripremljeni sokovi centrifugirani su 10 min na 12000 obrtaja i dobijeni supernatanti korišćeni su za dalje analiziranje. Uzorci sokova čuvani su u zatvorenim bočicama na -18°C za dalje ispitivanje.

Pored sokova, napravljeni su i ekstrakti. Sok je rastvaran u vodi, etanolu (96, 80 i 70%) i metanolu (100, 80 i 70%) u odnosu 1:10. Rastvori su mešani 24h, filtrirani, uparavani na vakuum uparivaču (KikaWerke), na temperaturi do 40°C i suvi ostatak čuvan u dobro zatvorenim staklenim bočicama na +4°C.

3.2. ODREĐIVANJE SADRŽAJA VITAMINA C U SOKOVIMA I EKSTRAKTIMA PLODOVA *Ribes nigrum* L.

Određivanje ASK i DASK vršeno je HPLC metodom po Brubacheru (1985) za pripremu uzorka i Ohte i Harade (1996) za redukciju DASK. Količina od 2.5g soka (100 mg/ml ekstrakta) je rastvarana u 25 ml 4.5% metafosforne kiseline. Uzorak se dodatno rastvarao na ultrazvučnom kupatilu 10 minuta i centrifugirao 15 min na 10000 obrtaja u minuti. Supernatant dobijen na ovaj način koristi se za određivanje ASK. DASK se određuje kada se 1 ml prethodno pripremljenog uzorka doda 1 ml redukujućeg agensa (50 μ M ditiotreitola - DTT). Nakon 10-minutne reakcije na sobnoj temperaturi, ovaj rastvor se filtrira kroz membranski filter (0.45 μ m) i 20 μ l injektuje u HPLC aparat. Rezultati se izražavaju u mg/100 g soka i mg/g ekstrakta kao ukupna količina askorbinske kiseline (TASK=ASK+DASK).

Analiza sadržaja sokova i ekstrakta crnih ribizli vršena je aparatu Agilent 1100 (Agilent Technologies, Palo Alto, Calif, U.S.A.) opremljenim DAD (diode array) detektorom, automatskim semplerom i kontrolnim sistemom. Razdvajanje komponenti je vršeno na Merck Purospher STAR RP-18e analitičkoj koloni (150×4.6 mm i.d., 5 μ m veličina čestica). Kao mobilna faza je korišćen 40 mM fosfatni pufer i metanol u odnosu 92:8 pod izokratskim uslovima. Protok je bio 0.8 ml/min na sobnoj temperaturi i vrednosti su očitavane na apsorbanici od 244 nm. Standardni rastvori askorbinske kiseline (1, 10, 50, 100, 150 i 200 μ g/ml) su injektovani u triplicatu za svaku koncentraciju da bi dobili kalibracionu krivu.

3.3. ODREĐIVANJE SADRŽAJA UKUPNIH POLIFENOLA I UKUPNIH TANINA U SOKOVIMA I EKSTRAKTIMA PLODOVA *Ribes nigrum* L.

Količina ukupnih polifenola određuje se Folin-Ciocalteu (F-C) metodom u kojoj istoimeni reagens meri sposobnost sokova i ekstrakta da redukuju fosfomolibdensku i fosfotungistinsku kiselinu do plavo obojenog kompleksa, čija se apsorbanca meri na 725 nm.

Ukupni tanini se određuju takođe sa Folin-Ciocalteu reagensom uz korišćenje nerastvornog polivinil polipirrolidona (PVPP), koji vezuje tanine u rastvoru. Razlika ukupnih i netaninskih polifenola predstavlja sadržaj tanina.

Sadržaji ukupnih polifenola i tanina urađeni su metodom po Hagermanu (2002). Za izradu kalibracione krive koriste se standard galne kiseline (Tabela 3.1), pa se rezultati oba sadržaja izražavaju kao ekvivalent galne kiseline (GAE) (mg GAE/g soka ili ekstrakta).

F-C reagens (2N) je komercijalno dostupan i predstavlja heksavalentni kiseli kompleks fosfomolibdena i fosfotungistata, koji po specifikaciji proizvođača treba da bude bistar, svelo-žut rastvor. Promena boje u maslinasto zelenu indikuje neupotrebljivost reagensa. Čuva se u tamnoj boci, u frižideru. F-C reagens se za potrebe metode razblažuje jednakom zapreminom destilovane vode (1:1, V/V). Pored F-C reagensa, koristi se i 20% rastvor Na_2CO_3 , nerastvorni PVPP, koji je komercijalno dostupan i rastvor standarda galne kiseline. Standard koncentracije 0.1 mg/ml se priprema na sledeći način: 25 mg standarda se rastvori u 25 ml destilovane vode i dobijeni rastvor razblaži 10 puta za izradu radnog rastvora. Kalibraciona kriva se formira na osnovu izmerenih apsorbanaci rastućih koncentracija standarda (1 $\mu\text{g/ml}$, 2 $\mu\text{g/ml}$, 3 $\mu\text{g/ml}$, 4 $\mu\text{g/ml}$, 5 $\mu\text{g/ml}$) uz slepu probu, koja umesto standarda sadrži destilovanu vodu. Iz kalibracione krive se izračunava sadržaj ukupnih polifenola i tanina.

Ukupni polifenoli se iz uzorka određuju na sledeći način: 0.02 ml uzorka (sok razblažen vodom u odnosu 1:10; ekstrakt rastvoren odgovarajućim rastvaračem u koncentraciji od 3 mg/ml) se pipetira u epruvetu, razblaži destilovanom vodom do 0.5 ml, doda 0.25 ml F-C reagensa i 1.25 ml prezasićenog rastvora Na_2CO_3 . Sadržaj epruvete se dobro promućka i nakon 40 minuta, meri apsorbanca na 725 nm. Sadržaj se izračunava iz kalibracione krive.

Ukupni tanini se određuju na isti način kao i ukupni polifenoli sa malo drugačijom pripremom uzorka. Kako se tanini vezuju na nerastvorni PVPP, u kivetu se doda 100 mg PVPP,

1 ml destilovane vode i 1 ml uzorka i ovaj rastvor dobro promućka. 100 mg PVPP je dovoljan da veže 2 mg tanina, pa ako je sadržaj tanina veći od 10%, uzorak se mora razblažiti.

Tabela 3.1. Priprema standarda za izradu kalibracione krive

	Rastvor katehina (μl)	Destilovana voda (μl)	F-C reagens (μl)	Rastvor Na ₂ CO ₃ (μl)	Galna kiselina (μg)
Slepa proba	0	500	250	1250	0
S1	20	480	250	1250	2
S2	40	460	250	1250	4
S3	60	440	250	1250	6
S4	80	420	250	1250	8
S5	100	400	250	1250	10

Nakon 15 minuta na +4°C, smeša se ponovo dobro promućka i centrifugira 10 minuta na 3000 obrtaja u minuti. Svi tanini su vezani na nerastvorni PVPP, a sva ostala fenolna jedinjenja se nalaze u supernatantu, pa se on i koristi za određivanje ne-taninskih polifenola po istom postupku za određivanje ukupnih polifenola. Kako se uzorak razblažuje destilovanom vodom u odnosu 1:1, preporučuje se da se koristi dva puta veća zapremina uzorka. Sadržaj ne-taninskih polifenola se izražava u mg GAE/g soka ili ekstrakta, a iz razlike se dobija sadržaj tanina.

3.4. ODREĐIVANJE SADRŽAJA UKUPNIH ANTOCIJANA U SOKOVIMA I EKSTRAKTIMA PLODOVA *Ribes nigrum* L.

Određivanje ukupnih antocijana u sokovima i ekstraktima crne ribizle urađen je po propisu Evropske Farmakopeje 6.0 (2007). Naime, 5 g soka (količina ekstrakta ekvivalentna 5 g soka) se rastvori u 95 ml metanola i ceo rastvor se meša na magnetnoj mešalici 30 minuta. Rastvor se nakon završene ekstakcije filtrira kroz kvantitativan filter papir u normalni sud od 100 ml, ispira i dopunjuje metanolom do crte. Ovako dobijen rastvor se zatim razblažuje 0.1 % rastvorom HCl u metanolu (V/V). Apsorbanca se meri na 528 nm a kao slepa proba se koristi 0.1 % rastvor HCl u metanolu (V/V). Sadržaj ukupnih antocijana (UA) se računa prema formuli:

$$\% \text{ UA} = (A \times 5000) / (718 \times M)$$

gde je A – apsorbanca ispitivanog uzorka na 528 nm, 718 – specifična apsorbanca cijanidin-3-O-glukozid hlorida na 528 nm, M – masa odmerenog usitnjenog uzorka.

Sadržaj ukupnih antocijana je izražen na cijanidin-3-O-glukozid hlorid (%).

3.5. ODREĐIVANJE SADRŽAJA ANTOCIJANA U SOKOVIMA I EKSTRAKTIMA PLODOVA *Ribes nigrum* L.

Metoda upotrebljena za analizu pojedinačnih antocijana je modifikacija metode po Cacace i Mazza (2002). Alikvot uzorka (10 g soka) se izmeri i rastvori u dejonizovanoj vodi zakiseljenoj sumpornom kiselinom na pH 2.5. Rastvaranje se pospešuje na ultrazvučnom kupatilu u trajanju od 10 minuta. Ovako rastvoren uzorak se centrifugira na 4000 obrtaja u minuti na sobnoj temperaturi. Supernatant dobijen na ovaj način se filtrira u normalni sud od 100 ml, dok se sa ostatkom uzorka isti postupak rastvaranja, centrifugiranja i filtriranja, ponavlja još dva puta. Normalni sud se dopunjuje rastvaračem do crte i ovako dobijen rastvor, injektuje u HPLC nakon filtriranja kroz membranski filter Milipore (0.45 µm).

Isti HPLC aparat i kolona korišćeni su za razdvajanje i kvantifikovanje antocijana, kao za askorbinsku kiselinu. Kao mobilna faza A je korišćena 0.1% trifluorosirćetna kiselina, a kao mobilna faza B je upotrebljavan acetonitril. Razdvajanje je vršeno pod izokratskim uslovima sa protokom od 1 ml/min. Injektovano je 20 µl uzorka i detekcija antocijana je vršena na 520 nm. Sadržaj antocijana je izračunat preko kalibracione krive, koja je konstruisana na osnovu standardnih rastvora 4 antocijana (D3R, D3G, C3R i C3G). Standardni rastvori su injektovani i detektovani u triplikatu u 5 rastućih koncentracija (0.2, 1, 5, 20 i 50 µg/ml).

3.6. ODREĐIVANJE SADRŽAJA FLAVONOIDA U SOKOVIMA I EKSTRAKTIMA PLODOVA *Ribes nigrum* L.

Priprema uzorka podrazumeva prethodnu hidrolizu flavonoida. Sto miligrama ekstrakta je rastvoreno u 1 ml smeše metanola i hlorovodonične kiseline (1:1, V/V). Rastvaranje je vršeno i na ultrazvučnom kupatilu u trajanju od 10 minuta, a zatim na vodenom kupatilu na temperaturi od 90°C u trajanju od 15 minuta. Uzorci su nakon hidrolize, centrifugirani 20 minuta (4°C,

10000 obrtaja u minuti), supernatanti filtrirani u vijalice preko membranskog filtera i ovako pripremljen uzorak, injektovan u HPLC.

Detekcija i kvantifikacija flavonoida vršena je na istom HPLC aparatu uz upotrebu iste kolone. Mobilnu fazu A činio je 0.1% rastvor triflorosirćetne kiseline, a kao mobilna faza B je korišćen acetonitril. Razdvajanje flavonoida je vršeno sa sledećim gradijentom: 85% (A) od 0 do 20 minuta; 65% (A) od 20 do 24 minuta; 50% (A) od 24 do 29 minuta, zatim 10% (A) do 31 minuta, i 15% naredna 2 minuta. Injektovano je 10 µl uzorka sa protokom od 0.7 ml/min. Temperatura kolone je održavana na 30°C, a detekcija je vršena na 360 nm. Sadržaj flavonoida je određen na osnovu kalibracione krive, koja je konstruisana na osnovu standarda flavonoida. Rezultati su izraženi u µg flavonoida na 100 mg ekstrakta.

3.7. ODREĐIVANJE ANTIOKSIDATIVNE AKTIVNOSTI SOKOVA I EKSTRAKTA PLODOVA *Ribes nigrum* L.

3.7.1. Određivanje sposobnosti vezivanja slobodnih radikala (DPPH metoda)

DPPH-radikal predstavlja stabilan azotni radikal ljubičaste boje, koji je našao široku primenu u ispitivanju antioksidativne aktivnosti hrane, ekstrakata kao i izolovanih supstanci. Metodu čini redukcija metanolnog rastvora DPPH u prisustvu ispitivanog antioksidansa, pri čemu nastaje neradikalsko jedinjenje i dolazi do smanjenja apsorbance usled obezbojavanja radikala.

Uticaj sokova i ekstrakta crnih ribizli na DPPH-radikal je ispitivan po metodi Konić-Ristić (2011) sa manjim izmenama. Postupak se sastoji iz rastavaranja 2 g soka u 10 ml destilovane vode 5 minuta na ultrazvučnom kupatilu. Ovako pripremljen rastvor se centrifugirao 10 minuta na 2500 obrtaja u minuti i supernatant koristio za analiziranje. Napravljene su serije razblaženja supernatanta i 40 µL svake koncentracije je u triplikatu pipetiran u bunarčiće mikrotitarske ploče, zatim 120 µL rastvarača i 40 µL DPPH rastvora (0.05 mM). Mikrotitarska ploča se zatvori i ostavi na tamnom 30 minuta, kada reakcija dostiže maksimum.

Postupak za ekstrakte je isti kao za sokove, s tim da se svaki rastvara u odgovarajućem rastvaraču u koncentraciji 3 mg/ml i od ove početne koncentracije se prave serije razblaženja kao za sokove.

Apsorbancija uzoraka se meri na ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) čitaču (Multiskan Ascent Thermolabsystems Elisa No 354) na talasnoj dužini od 540 nm. Inhibicija slobodnog DPPH radikala (%) se računa prema jednačini:

$$\% \text{ inhibicije} = (A_s - A_c / A_c - A_B) \times 100$$

gde je A_B – apsorbancija slepe probe, A_s – apsorbancija kontrole (koju čine rastvarač i DPPH) i A_c – apsorbancija analiziranog uzorka. Kao slepa proba se koristi upotrebljeni rastvarač (methanol ili etanol). Kao pozitivna kontrola su korišćeni butilhidroksi toluen (BHT), butilhidroksi anizol (BHA), Trolox (6-hidroksi-2,5,7,8-tetrametilhroman-2-karboksilna kiselina) i askorbinska kiselina. Rezultati inhibicije DPPH radikala su izraženi kao IC_{50} i ova vrednost predstavlja koncentraciju uzorka koja je potrebna da "uhvati" ili inhibira 50% slobodnih DPPH radikala i ona se izračunava iz jednačine prave, koja predstavlja odnose % inhibicije i koncentracije uzorka.

3.7.2. Inhibicija obezbojavanja β -karotena

Metoda je razvijena na osnovu spektrofotometrijskih merenja Koleve (2002). Metoda određuje antioksidativni kapacitet uzorka mereći njihovu sposobnost da spreče oksidativni gubitak β -karotena u emulziji β -karoten/linolna kiselina.

Emulzija se priprema na sledeći način: 2 mg kristalnog β -karotena se rastvori u 10 ml hloroforma. Jednom mililitru ovog rastvora doda se 25 μ l linolne kiseline i 180 mg Tween 20. Nakon potpunog uparavanja hloroforma vakuum-uparivačem na 40°C, doda se 50 ml oksigenisane vode i ovako dobijena emulzija se mućka do izbistrenja.

Alikvoti emulzije (0.16 ml) se pipetiraju u bunarčiće mikrotitarske ploče u koje su prethodno dodate serije razblaženja sokova ili ekstrakta (0.04 ml). Mikrotitarske ploče se zatim mešaju na mešalici za mikrotitarske ploče. Nakon mešanja, očitava se početna apsorbancija (A_0) na ELISA čitaču na talasnoj dužini od 450 nm, ploče se inkubiraju 2h na 55°C, nakon čega se apsorbancija (A_{2h}) ponovo očitava. Antioskidativna aktivnost se izračunava prema sledećoj formuli:

$$\% \text{ inhibicije} = (A_{2h}/A_0) \times 100$$

Kao pozitivne kontrole su upotrebljeni isti komercijalni antioksidansi kao pri određivanju antioksidativne aktivnosti hvatanja DPPH-radikala (BHA, BHT, Trolox i askorbinska kiselina). Rezultati se izražavaju kao koncentracija uzorka koja inhibira gubitak 50% β -karotena (IC_{50}) i izračunava se iz krive koncentracija/% inhibicije.

3.8. ODREĐIVANJE ANTIMIKROBNE AKTIVNOSTI SOKOVA I EKSTRAKTA PLODOVA *Ribes nigrum* L.

3.8.1. Mikrobiološki sojevi

Ispitivanje *in vitro* antimikrobne aktivnosti sokova i ekstrakta crnih ribizli vršeno je pomoću tipskih laboratorijskih sojeva bakterija i gljiva nabavljenih od American Type Culture Collection (ATCC).

Gram (+) bakterije upotrebljavane za ispitivanje sokova i ekstrakta su *Bacillus cereus* ATCC 10876, *Listeria monocytogenes* ATCC 15313 i *Staphylococcus aureus* ATCC 6538.

Gram (-) bakterije su bile *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 i *Salmonella enteritidis* ATCC 13076. *Candida albicans* ATCC 10231 i *Aspergillus niger* ATCC 16404 su upotrebljavani za procenu antifungalne aktivnosti.

3.8.2. Mikrodiluciona metoda

Za testiranje antimikrobne i antifungalne aktivnosti korišćena je mikrodiluciona metoda prema propisima CLSI (2005). Od prekonoćnih kultura ispitivanih test-sojeva mikroorganizama uzgajanih na hranljivom agaru (HA) i saburo-dekstroznom agaru (SDA) je, u sterilnom fiziološkom rastvoru, napravljena suspenzija turbiditeta 0.5 McFarlanda koja sadrži 1.5×10^8 CFU (colony forming units)/ml za bakterije i 1.5×10^7 CFU/ml za kvasce (CLSI, 2005). Gustina suspenzije spora *Aspergillus niger* (1.5×10^5 CFU/ml) je određena uz pomoć Thoma-komore za brojanje (CLSI, M38 [ISBN 1-56238-480-8]). Nakon toga su, prema priloženom uputstvu, napravljene odgovarajuće podloge, Mueller-Hinton bujon (MHB) za bakterije i saburo-dekstrozni bujon (SDB) za gljive. Sterilisane tečne pologe su razlivene po 10 ml u sterilne epruvete i inokulisane sa po 133 μ l pripremljene suspenzije mikroorganizama da bi se dobio

konačan broj CFU od 2×10^6 po 1 ml. Zatim je u svako od 96 udubljenja mikrotitarske ploče uneseno po 100 μ l inokulisane podloge i napravljena serija duplih razređenja ekstrakta, u rasponu od 0.01–100 μ g/ml i serija duplih razblaženja sokova u rasponu od 0.2 – 500 μ l/ml. Ukupna zapremina u svakom bunariću je iznosila 100 μ l, a gustina suspenzije 2×10^6 CFU/ml za bakterije, odnosno 2×10^5 CFU/ml za sojeve kvasca i gljive. Mikrotitarske ploče su inkubirane na 37°C u trajanju od 24h za bakterije, tj. na 25°C u trajanju od 48h za gljive. Postupak je izveden u tri ponavljanja.

Korišćene su dve kontrole rasta: jedna je sadržala inokulisanu hranljivu podlogu (MHB ili SDB), a druga inokulisanu hranljivu podlogu sa serijom duplih razblaženja rastvarača, u opsegu od 0.004-15.00 μ l/ml. Antibiotici: hloramfenikol, streptomycin i tetraciklin korišćeni su kao pozitivne kontrole, u opsegu koncentracija od 0.008-16.00 μ g/ml. Najmanja koncentracija gde nije bilo vidljivog rasta je definisana kao minimalna inhibitorna koncentracija (MIC). Mikrobiološki rast određivan dodavanjem u svaki bunarić po 20 μ l 0.5% vodenog rastvora TTC (2,3,5-trifenil tetrazolijum hlorida) koji boji porasle kolonije u crveno (Sartoratto i sar, 2004). Da bi se odredila minimalna baktericidna koncentracija (MBC), sadržaj iz svih bunarčića (u kojima nije bilo crveno obojenih kolonija) je za bakterije prenesen na petri ploče sa Mueller-Hinton agarom (MHA), koje su zatim inkubirane 24h na 37°C, tj. sa saburo-dekstroznim agarom (SDA) koje su inkubirane 48h na 25°C za gljive. Nakon inkubacije, brojane su porasle kolonije bakterija i gljiva. MBC se definiše kao najniža koncentracija ekstrakata pri kojoj je ubijeno 99.9 % inokulisanih mikroorganizama.

3.9. ODREĐIVANJE SPAZMOLITIČKE AKTIVNOSTI SOKOVA I EKSTRAKTA PLODOVA *Ribes nigrum* L.

Spazmolitička aktivnost sokova i ekstrakata crne ribizle ispitivana je na izolovanom ileumu pacova, pri čemu je praćen uticaj na spontane kontrakcije, kao i na kalijum-hloridom (KCl) i acetilholinom (Ach) indukovane kontrakcije.

Sve eksperimentalne procedure vršene su u skladu sa Evropskom Direktivom 2010/63/EU za eksperimente na životinjama, uz odobrenje Etičkog komiteta (rešenje broj 01-206-7).

Za određivanje spazmolitičke aktivnosti korišćeni su pacovi Wistar soja (180-220g) iz Vivarijuma Medicinskog fakulteta, Univerziteta u Nišu. Životinje su čuvane u kavezima od nerđajućeg čelika u standardnim laboratorijskim uslovima. Temperatura prostorije se održava u granicama od 20-24°C, sa 12-časovnim dnevnim režimom, bar jednu nedelju pre eksperimenta. Životinje su u svakom trenutku imale pristup hrani i vodi.

Delovi tankog creva pacova su izolovani, a mezenterijum je odstranjen. Ovako pripremljen ileum stavljen je u kupatilo koje je sadržalo 10 ml fiziološkog rastvora za izolovano crevo (Tyrodov rastvor) na 37°C uz konstantno uvođenje smeše kiseonika i ugljenik (IV)-oksida. Tyrodov rastvor sadrži: 150 mM NaCl, 2.7 mM KCl, 2 mM MgCl₂, 12 mM NaHCO₃, 0.4 mM NaH₂PO₄, 1.8 mM CaCl₂ i 5.5 mM glukoze. Ileum je stabilizovan u kupatilu pola sata pre početka eksperimenta. Promene u kontraktilnosti tankog creva registrovane su pomoću transdjusera (Transducer-TSZ-04-E, Experimetria doo, Budimpešta, Mađarska) i analizirane uz pomoć softvera SPEL Advanced ISOSYS Data Acquisition System.

Prva eksperimentalna serija se sastoji iz analize dejstva sokova i ekstrakta na spontane kontrakcije creva, gde su sokovi i ekstrakti dodavani u kumulativnim dozama (0.01, 0.03, 0.1, 0.3, 1 i 3 mg/ml), i iz krive je očitao dozno-zavisao odgovor. Kao kontrola je korišćen papaverin u koncentracijama 0.01-3 µg/ml. Zatim je ispitivano dejstvo sokova i ekstrakta ribizle na kontrakcije stimulisane KCl (80 mM) i acetil-holinom (5-1500 nM). Toničke kontrakcije ileuma, izazvane KCl inhibisane su kumulativnim dodavanjem sokova ili ekstrakata u koncentracijama od 0.01 do 3 mg/ml u intervalima od 15 minuta i rezultati su izraženi kao procenat inhibicije. Acetil-holin je dodavan u kumulativnim koncentracijama (5, 15, 50, 150, 500 i 1500 nM) i registrovani su efekti u odsustvu, a zatim i u prisustvu sokova i ekstrakta. Atropin, neselektivni blokator muskarinskih receptora korišćen je kao pozitivna kontrola.

3.10. AKUTNO HIPOTENZIVNO DEJSTVO SOKOVA I EKSTRAKTA PLODOVA *Ribes nigrum* L.

Za ispitivanje dejstva sokova i ekstrakta crne ribizle na srednji arterijski krvni pritisak i frekvenciju srčanog rada, korišćeni su kunići, težine 1-3 kg, koji su čuvani u Vivarijumu Medicinskog fakulteta, Univerziteta u Nišu. Životinje su čuvane u kavezima od nerđajućeg čelika u standardnim laboratorijskim uslovima. Temperatura prostorije se održavala u granicama

od 20-24°C, sa 12-časovnim dnevnim režimom, jednu nedelju pre eksperimenta. Životinje su u svakom trenutku imale pristup hrani i vodi.

Sve eksperimentalne procedure su vršene u skladu sa Evropskom Direktivom 2010/63/EU za eksperimente na životinjama, uz odobrenje Etičkog komiteta (rešenje broj 01-206-7).

Kunići, korišćeni u ovom eksperimentu, prethodno su anestetizirani uretanom intravenozno (750mg/kg), nakon čega im je u karotidu uveden arterijski kateter za registrovanje krvnog pritiska. Ovaj kateter je povezan sa transdjuserom (P-1000-A) koji je vezan za fiziograf (NARCO Bio system, Houston, USA), kojim se registruje krvni pritisak. Brzina kretanja trake bila je 10 mm/s.

Frekvencija srčanog rada i pritisak su mereni pre i posle davanja sokova i ekstrakta. Dozvoljeno je da se arterijski pritisak vraća na početni nivo pre davanja nove doze. Arterijski krvni pritisak je izražavan u mm Hg, kao sistolni i dijastolni, iz kojih je izračunavana vrednost srednjeg arterijskog krvnog pritiska. Promene u krvnom pritisku su beležene kao razlika između bazalnih vrednosti (steady state values) i pikova koji se javljaju nakon injektovanja sokova ili ekstrakta.

Nakon perioda adaptacije od 30 minuta, sokovi ili ekstrakti sve četiri sorte crnih ribizli davani su intravenski u marginalnu ušnu venu, u rastućim logaritamskim koncentracijama (0.33, 1.66, 3.33, 16.65, 33.33 i 166.5 mg/kg) u intervalu od 15-20 minuta. Sokovi i ekstrakti su rastvarani izotonom rastvorom NaCl. Rezultati su izraženi kao % sniženja krvnog pritiska i frekvencije srčanog rada. Izračunate su i teorijske vrednosti EC_{50} , koja predstavljaju koncentraciju soka koji bi snizio pritisak i frekvenciju srčanog rada za 50%. Ove vrednosti su izračunate iz jednačina pravih, dobijene sa logaritamske krive koja povezuje količinu soka i % sniženja krvnog pritiska, odnosno frekvencije srčanog rada.

4. STATISTIČKA ANALIZA

Rezultati svih ispitivanja su obrađeni primenom metode jednofaktorske analize varijanse (ANOVA) programa SPSS 17.0. i vrednosti su poređene Tukey testom sa stepenom značajnosti od 0.05.

Stepen korelacije između antioksidativne aktivnosti i ukupnih antocijana i polifenola, kao i dominantnih frakcija ovih klasa, je dobijen primenom Pearsonovog koeficijenta korelacije. Istim načinom je utvrđena i povezanost između EC_{50} vrednosti, % sniženja krvnog pritiska i frekvencije srčanog rada sa polifenolnim jedinjenjima sokova.

Statistička značajnost razlike kontrole i procenta inhibicije spazmolitičke aktivnosti određena je Studentovim t-testom za stepen značajnosti $p < 0.05$ i $p < 0.01$.

Vrednosti EC_{50} koje predstavljaju količinu soka (ili ekstrakta) koja izaziva 50% inhibicije kontrakcija tankog creva (krvnog pritiska), dobijeni su regresionom analizom.

Svi rezultati su rađeni u triplikatu i prikazani kao srednja vrednost $\pm$ standardna devijacija ($\pm SD$), osim antimikrobne aktivnosti.

5. REZULTATI

5.1. SADRŽAJ VITAMINA C U SOKOVIMA I EKSTRAKTIMA PLODOVA *Ribes nigrum* L.

Najveći sadržaj ukupnog vitamina C (TASK) imali su sokovi u 2010. godini, dok su najmanji imali sokovi u 2009. godini. Najbogatiji sok vitaminom C bio je Tenah iz 2010. godine (211.64 ± 17.7 mg/100 g), a najmanji sadržaj je imao sok Omete iz 2009. godine (35.26 ± 1.79 mg/100 g). Rezultati sadržaja ukupnog vitamina C (dobijenog nakon redukcije) i vitamina C u sokovima i ekstraktima sorti Tenah, Triton, Ben Sarek i Ometa u periodu od 2008. do 2010. godine, prikazani su u tabelama 5.1-5.4.

Tabela 5.1. Sadržaj ukupnog vitamina C (askorbinska+dehidroaskorbinska kiselina) i vitamina C u sokovima i ekstraktima sorte Tenah u periodu 2008-2010. godine

Tenah	2008.		2009.		2010.	
	TASK mg/100g	ASK mg/100g	TASK mg/100g	ASK mg/100g	TASK mg/100g	ASK mg/100g
SOK	125.6 ± 9.51^{aA}	58.83 ± 6.31	78.99 ± 0.54^{aA}	36.16 ± 5.85	211.64 ± 17.7^{aB}	99.61 ± 6.31
E	631.49 ± 22.14^{bA}	614.01 ± 29.11	570.91 ± 12.36^{bA}	331.92 ± 15.32	771.48 ± 29.36^{bB}	566.35 ± 20.30
80E	257.19 ± 13.21^{cA}	254.25 ± 14.29	55.66 ± 2.30^{acB}	52.08 ± 2.45	534.81 ± 21.32^{cC}	457.91 ± 12.31
70E	403.95 ± 18.10^{dA}	403.1 ± 14.32	49.47 ± 2.13^{acB}	44.35 ± 1.99	456.97 ± 11.87^{cdA}	409.45 ± 18.56
M	11.61 ± 1.0^{eA}	7.78 ± 0.58	305.29 ± 23.1^{dB}	227.79 ± 15.4	419.44 ± 21.07^{dC}	490.25 ± 24.1
80M	9.71 ± 0.25^{eA}	4.87 ± 0.13	144.45 ± 5.02^{eB}	143.62 ± 4.36	422.43 ± 13.52^{dC}	398.35 ± 7.69
70M	5.53 ± 0.07^{eA}	4.23 ± 0.54	109.38 ± 4.9^{aeB}	85.74 ± 9.2	403.31 ± 23.96^{dC}	380.34 ± 27.1
H ₂ O	4.88 ± 0.13^{eA}	0.00	8.65 ± 0.34^{cB}	7.71 ± 0.22	57.44 ± 2.5^{eC}	4.58 ± 0.12
E-etanolni ekstrakt, 80E-80% etanolni ekstrakt, 70E-70% etanolni ekstrakt, M – metanolni ekstrakt, 80M – 80% metanolni ekstrakt, 70 M – 70% metanolni ekstrakt, TASK – ukupna askorbinska kiselina, ASK - askorbinska kiselina = (mg/100 g sok i ekstrakt), n.d.- nije detektovano						
a,b,c Mala različita slova označavaju značajnu razliku ($p < 0.05$) u sadržaju vitamina C u sokovima, etanolnim i metanolnim ekstraktima u istoj godini						
A,B,C Velika različita slova označavaju značajnu razliku ($p < 0.05$) u sadržaju vitamina C u istim uzorcima između godina (samo u sokovima, samo u odgovarajućim etanolnim ili metanolnim ekstraktima)						

Tabela 5.2. Sadržaj ukupnog vitamina C (askorbinska+dehidroaskorbinska kiselina) i vitamina C u sokovima i ekstraktima sorte Ometa u periodu 2008-2010. godine

Ometa	2008.		2009.		2010.	
	TASK mg/100g	ASK mg/100g	TASK mg/100g	ASK mg/100g	TASK mg/100g	ASK mg/100g
SOK	58.99±2.87 ^{aA}	27.65±2.34	35.26±1.79 ^{aB}	16.3±1.34	59.82±4.39 ^{aA}	29.66±3.1
E	174.19±4.66 ^{bA}	123.68±2.23	105.54±2.5 ^{bB}	96.85±2.1	174.44±24.31 ^{bA}	126.76±5.25
80E	34.13±2.4 ^{cA}	27.07±2.32	6.79±0.39 ^{ceB}	4.27±0.39	27.85±1.54 ^{aA}	22.03±0.95
70E	70.28±2.41 ^{aA}	54.73±1.76	16.71±0.88 ^{deB}	15.24±1.00	22.7±1.03 ^{aB}	22.55±0.86
M	9.72±0.68 ^{deA}	7.26±0.81	4.99±0.4 ^{cB}	4.38±0.23	44.48±2.85 ^{aC}	39.71±3.51
80M	4.92±0.11 ^{dA}	4.74±0.17	3.72±0.12 ^{cA}	1.13±0.04	119.22±11.32 ^{bB}	89.64±2.33
70M	9.62±0.45 ^{deA}	5.14±0.77	3.91±0.21 ^{cB}	n.d.	64.54±4.99 ^{aC}	63.66±0.54
H ₂ O	19.31±2.04 ^{eA}	14.06±0.57	13.00±0.95 ^{eb}	12.05±0.70	7.69±0.41 ^{aC}	n.d.

E-etanolni ekstrakt, 80E-80% etanolni ekstrakt, 70E-70% etanolni ekstrakt, M – metanolni ekstrakt, 80M – 80% metanolni ekstrakt, 70 M – 70% metanolni ekstrakt, TASK – ukupna askorbinska kiselina, ASK - askorbinska kiselina = (mg/100 g sok i ekstrakt), n.d.- nije detektovano

a,b,c Mala različita slova označavaju značajnu razliku ($p<0.05$) u sadržaju vitamina C u sokovima, etanolnim i metanolnim ekstraktima u istoj godini

A,B,C Velika različita slova označavaju značajnu razliku ($p<0.05$) u sadržaju vitamina C u istim uzorcima između godina (samo u sokovima, samo u odgovarajućim etanolnim ili metanolnim ekstraktima)

Tabela 5.3. Sadržaj ukupnog vitamina C (askorbinska+dehidroaskorbinska kiselina) i vitamina C u sokovima i ekstraktima sorte Triton u periodu 2008-2010. godine

Triton	2008.		2009.		2010.	
	TASK mg/100g	ASK mg/100g	TASK mg/100g	ASK mg/100g	TASK mg/100g	ASK mg/100g
SOK	101.32±2.47 ^{aA}	49.33±1.82	81.91±1.99 ^{aB}	38.1±2.18	160.95±5.05 ^{aC}	79.95±4.05
E	257.29±8.3 ^{bA}	211.44±7.31	194.34±7.02 ^{bB}	192.75±6.56	565.81±21.3 ^{bC}	483.81±19.97
80E	158.26±6.67 ^{cA}	100.17±3.21	64.26±1.45 ^{cB}	61.83±2.81	332.11±20.1 ^{cC}	322.64±21.4
70E	96.19±3.33 ^{aA}	61.82±2.93	37.7±1.95 ^{dB}	32.92±1.39	349.52±18.21 ^{cC}	265.89±12.00
M	102.19±2.69 ^{aA}	101.31±3.09	78.06±1.55 ^{acB}	72.74±2.91	522.93±23.71 ^{bC}	399.82±27.45
80M	16.69±1.21 ^{dA}	16.09±1.00	12.02±0.97 ^{eA}	11.77±0.67	373.2±15.59 ^{cB}	326.23±14.87
70M	67.03±1.79 ^{eA}	46.4±2.35	15.86±0.89 ^{eb}	14.7±1.25	307.03±18.54 ^{cC}	291.42±13.51
H ₂ O	16.5±0.54 ^{dA}	14.73±0.37	11.33±0.47 ^{eb}	n.d.	181.64±10.07 ^{aC}	13.99±0.64

E-etanolni ekstrakt, 80E-80% etanolni ekstrakt, 70E-70% etanolni ekstrakt, M – metanolni ekstrakt, 80M – 80% metanolni ekstrakt, 70 M – 70% metanolni ekstrakt, TASK – ukupna askorbinska kiselina, ASK - askorbinska kiselina = (mg/100 g sok i ekstrakt), n.d.- nije detektovano

a,b,c Mala različita slova označavaju značajnu razliku ($p<0.05$) u sadržaju vitamina C u sokovima, etanolnim i metanolnim ekstraktima u istoj godini

A,B,C Velika različita slova označavaju značajnu razliku ($p<0.05$) u sadržaju vitamina C u istim uzorcima između godina (samo u sokovima, samo u odgovarajućim etanolnim ili metanolnim ekstraktima)

Tabela 5.4. Sadržaj ukupnog vitamina C (askorbinska+dehidroaskorbinska kiselina) i vitamina C u sokovima i ekstraktima sorte Ben Sarek u periodu 2008-2010. godine

Ben Sarek	2008.		2009.		2010.	
	TASK mg/100g	ASK mg/100g	TASK mg/100g	ASK mg/100g	TASK mg/100g	ASK mg/100g
SOK	135.1±8.71 ^{aA}	76.5±0.45	126.85±9.98 ^{aA}	63.14±3.56	145.22±5.53 ^{aA}	71.8±0.66
E	305.59±12.57 ^{bA}	213.64±9.34	420.11±5.17 ^{bB}	398.97±6.90	600.31±19.5 ^{bC}	519.37±20.1
80E	155.82±5.16 ^{aA}	125.59±3.19	232.84±7.10 ^{bB}	220.79±8.00	435.38±10.30 ^{cC}	384.97±13.6
70E	201.44±9.01 ^{dA}	123.13±4.00	190.47±7.16 ^{dA}	184.23±7.88	455.14±6.19 ^{bB}	394.54±4.02
M	12.41±0.88 ^{dA}	6.76±0.34	7.06±0.43 ^{eA}	5.58±0.46	645.51±22.45 ^{bB}	528.54±24.9
80M	11.37±0.58 ^{dA}	6.51±0.44	2.67±0.09 ^{eB}	2.42±0.11	562.14±11.37 ^{bC}	461.42±10.68
70M	6.72±0.44 ^{dA}	3.51±0.29	2.06±0.032 ^{eA}	1.75±0.21	579.53±19.45 ^{bB}	459.28±20.56
H ₂ O	29.89±0.34 ^{dA}	n.d.	61.84±4.31 ^{fB}	61.84±2.57	346.79±13.76 ^{dC}	34.87±1.89

E-etanolni ekstrakt, 80E-80% etanolni ekstrakt, 70E-70% etanolni ekstrakt, M – metanolni ekstrakt, 80M – 80% metanolni ekstrakt, 70 M – 70% metanolni ekstrakt, TASK – ukupna askorbinska kiselina, ASK - askorbinska kiselina = (mg/100 g sok i ekstrakt), n.d.- nije detektovano
a,b,c Mala različita slova označavaju značajnu razliku ($p<0.05$) u sadržaju vitamina C u sokovima, etanolnim i metanolnim ekstraktima u istoj godini
A,B,C Velika različita slova označavaju značajnu razliku ($p<0.05$) u sadržaju vitamina C u istim uzorcima između godina (samo u sokovima, samo u odgovarajućim etanolnim ili metanolnim ekstraktima)

Kod ekstrakata je bolja ekstrakcija postignuta etanolom nego metanolom. Takođe, koncentrovani etanol se pokazao boljim ekstrakcionim sredstvom u odnosu na 80% i 70% etanol. Kao i u slučaju sokova, najviše vrednosti ukupnog vitamina C u ekstraktima su u 2010, a najniže u 2009. godini.

Najvišu vrednost ukupnog vitamina C pokazao je etanolni ekstrakt sorte Tenah iz 2010. godine (771.48 ± 29.36 mg/100 g). Veći sadržaj vitamina C u ekstraktima može se objasniti time što ekstrakti predstavljaju koncentrate sokova dobijenih uparavanjem odgovarajućih rastvarača.

Ekstrakti nisu pokazali veliku razliku između u sadržaju TASK i ASK, dok je u sokovima ta razlika oko 50%.

5.2. SADRŽAJ UKUPNIH POLIFENOLA I TANINA U SOKOVIMA I EKSTRAKTIMA PLODOVA *Ribes nigrum* L.

Tamno plave bobice i plodovi crne ribizle su poznate po visokom sadržaju ukupnih polifenola u poredjenju sa crvenim plodovima (Konić-Ristić i sar, 2011). Ukupni polifenoli se nalaze u količini od 0.45 do 1.03 mg/g soka i od 0.014 do 0.32 mg/g ekstrakta. Sok Omete iz 2010. godine je najbogatiji u sadržaju polifenola, dok je Ometa iz 2008. sa najmanjim sadržajem.

Ukupni tanini se nalaze u količini od 0.26 do 0.7 mg/g u sokovima i od 0.002 do 0.15 mg/g u ekstraktima. Ukupni polifenoli i tanini sokova i ekstrakta imaju visoki stepen korelacije sa antioksidativnom aktivnošću uzoraka.

Rezultati ukupnih polifenola i tanina u sokovima i ekstraktima sorti crnih ribizli Triton, Tenah, Ometa i Ben Sarek u periodu od 2008-2010. godine, prikazani su u tabelama 5.5-5.8.

5.3. KVALITATIVNA I KVANTITATIVNA ANALIZA ANTOCIJANA U SOKOVIMA I EKSTRAKTIMA PLODOVA *Ribes nigrum* L.

Antocijani su grupa najzastupljenijih fitonutrijenata prisutnih u plodu crne ribizle. Najveći sadržaj ukupnih antocijana nalazi se u soku sorte Tenah iz 2008. godine (0.11%), mada nema statistički značajne razlike za istu sortu u sledećoj godini (0.10%). Najmanja količina ukupnih antocijana određena je u Ometi iz 2009. godine (0.004%). Nije primećen obrazac po kome se menja količina antocijana po godinama, i kako su vremenski uslovi bili isti za sve 4 sorte u svakoj godini, mogli smo da zaključimo da genotip igra značajnu ulogu u produkciji antocijana.

Rezultati ukupnih i dominantnih antocijana u sokovima i ekstraktima sorti crnih ribizli Triton, Tenah, Ometa i Ben Sarek u periodu od 2008-2010. godine, prikazani su u tabelama 5.5-5.8.

Delfinidin-3-O-rutinozid je dominantan antocijan u sortama Triton, Tenah i Ben Sarek u sve tri godine, i Ometi u 2010. godini. Cijanidin-3-O-rutinozid je drugi antocijan po količini zastupljen kod sorti Triton, Tenah i Ben Sarek. Cijanidin-3-O-glukozid je detektovan u najmanjoj količini u uzorcima sve 4 sorte.

Sok sorte Triton iz 2008. godine bio je najbogatiji u sadržaju delfinidin-3-O-rutinozida (52.2 ± 2.37 mg/100 g). Sok sorte Ometa iz 2009. godine je imao visoku količinu cijanidin-3-O-rutinozida u (50.81 ± 2.91 mg/100 g), kao dominantnog antocijana. Posmatranjem i poređenjem rezultata, primećen je model za svaku sortu, gde su Tenah, Ben Sarek i Ometa imale najveći sadržaj antocijana u 2009. godini, karakterističnoj po velikoj količini padavina, dok je Triton bio najbogatiji u njihovom sadržaju u 2008. godini, koju je karakterisala prosečna temperatura i količina padavina. Tenah i Ben Sarek su imali najmanji sadržaj antocijana u 2008, a Triton i Ometa u 2010. godini.

Vodeni ekstrakti su kod svih sorti i u svim godinama pratili količine antocijana u sokovima. Najveću količinu D3R (83.2 ± 9.54 mg/100 g), kao i C3R (49.92 ± 3.74 mg/100 g) imao je vodeni ekstrakt Ometi iz 2009. godine. Vodeni ekstrakt Tritona iz 2008. imao je sledeću najbolju vrednost

D3G (28.11 ± 0.13 mg/100 g) i C3G (10.05 ± 0.06 mg/100 g), a ta količina je skoro tri puta manja od vodenog ekstrakta Omete iz 2009. godine.

Tabela 5.5. Sadržaj ukupnih i dominantnih antocijana, ukupnih polifenola i tanina u sokovima i ekstraktima sorte Tenah u periodu 2008-2010. godine.

Tenah		SOK	E	80E	70E	M	80M	70M	H ₂ O
2008	D-3-R mg/100g	11.46±0.87 ^{aA}	23.59±1.34 ^{bA}	16.62±1.23 ^{cA}	31.05±0.92 ^{dA}	0.21±0.01 ^{eA}	n.d. ^{eA}	n.d. ^{eA}	7.11±0.29 ^{aA}
	D-3-G mg/100g	1.71±0.01 ^{aA}	2.37±0.33 ^{bA}	n.d. ^{cA}	n.d. ^{cA}	n.d. ^{cA}	n.d. ^{cA}	n.d. ^{cA}	n.d. ^{cA}
	C-3-R mg/100g	8.09±0.01 ^{aA}	13.79±0.99 ^{bA}	8.39±1.05 ^{aA}	15.95±0.87 ^{bA}	n.d. ^{cA}	n.d. ^{cA}	n.d. ^{cA}	2.52±0.11 ^{cA}
	C-3-G mg/100g	1.29±0.01 ^{aA}	n.d. ^{bA}	n.d. ^{bA}	n.d. ^{bA}	n.d. ^{bA}	n.d. ^{bA}	n.d. ^{bA}	n.d. ^{bA}
	UA %	0.07±0.004 ^{aedfA}	0.22±0.01 ^{bA}	0.18±0.03 ^{bdA}	0.34±0.02 ^{cA}	0.11±0.00 ^{adfA}	n.d. ^{eA}	0.05±0.01 ^{aefA}	0.11±0.004 ^{fA}
	UP mg/g	0.75±0.02 ^{aAB}	3.46±0.11 ^{bcA}	1.94±0.11 ^{abA}	4.15±0.30 ^{cA}	0.27±0.04 ^{aA}	0.16±0.03 ^{aA}	0.32±0.01 ^{aA}	2.16±0.11 ^{acA}
	UT mg/g	0.34±0.01 ^{aAB}	2.00±0.0 ^{bA}	1.00±0.06 ^{cA}	1.97±0.03 ^{bA}	0.04±0.00 ^{dA}	0.09±0.01 ^{dA}	0.15±0.00 ^{dA}	1.1±0.004 ^{cA}
2009	D-3-R mg/100g	20.51±1.35 ^{adB}	32.25±2.27 ^{bA}	14.52±0.98 ^{acA}	15.22±1.98 ^{acB}	25.44±0.97 ^{bdB}	17.51±1.43 ^{acB}	15.8±0.4 ^{acB}	12.24±0.48 ^{bB}
	D-3-G mg/100g	4.48±0.00 ^{aB}	4.95±0.66 ^{aA}	n.d. ^{bA}	n.d. ^{bA}	4.16±0.01 ^{abB}	2.87±0.22 ^{bB}	n.d. ^{bA}	n.d. ^{bA}
	C-3-R mg/100g	15.43±0.07 ^{aB}	23.22±1.7 ^{bA}	6.5±0.81 ^{cdA}	6.73±0.41 ^{cdB}	16.86±0.08 ^{aB}	10.13±0.96 ^{cB}	7.45±0.04 ^{cdB}	5.00±0.2 ^{dB}
	C-3-G mg/100g	2.86±0.03 ^{aA}	n.d. ^{bB}	n.d. ^{bA}	n.d. ^{bA}	n.d. ^{bA}	n.d. ^{bA}	n.d. ^{bA}	n.d. ^{bA}
	UA %	0.17±0.02 ^{aB}	0.33±0.05 ^{bA}	0.18±0.03 ^{abA}	0.19±0.01 ^{aB}	0.1±0.01 ^{aA}	0.08±0.007 ^{aB}	0.05±0.01 ^{aA}	0.05±0.00 ^{aB}
	UP mg/g	0.54±0.00 ^{aA}	1.34±0.07 ^{bB}	1.02±0.14 ^{bB}	1.02±0.09 ^{bB}	0.23±0.04 ^{acA}	0.22±0.04 ^{cA}	0.22±0.03 ^{acA}	0.23±0.12 ^{acB}
	UT mg/g	0.26±0.00 ^{aA}	0.62±0.04 ^{bB}	0.47±0.09 ^{bcB}	0.39±0.03 ^{acB}	0.13±0.01 ^{aB}	0.12±0.01 ^{aA}	0.08±0.01 ^{aB}	0.11±0.005 ^{aB}
2010	D-3-R mg/100g	15.32±0.3 ^{aAB}	24.63±1.33 ^{bA}	16.76±0.54 ^{aA}	32.51±1.1 ^{cA}	0.13±0.01 ^{dA}	n.d. ^{dA}	n.d. ^{dA}	9.84±0.31 ^{cC}
	D-3-G mg/100g	4.03±0.00 ^{aC}	2.43±0.21 ^{bA}	1.65±0.34 ^{bB}	n.d. ^{cA}	n.d. ^{cA}	n.d. ^{cA}	n.d. ^{cA}	n.d. ^{cA}
	C-3-R mg/100g	12.31±0.06 ^{aC}	14.39±0.77 ^{aA}	7.67±0.21 ^{bA}	16.76±0.7 ^{cA}	n.d. ^{dA}	n.d. ^{dA}	n.d. ^{dA}	3.42±0.03 ^{cC}
	C-3-G mg/100g	2.75±0.07 ^{aB}	n.d. ^{bA}	n.d. ^{bA}	n.d. ^{bA}	n.d. ^{bA}	n.d. ^{bA}	n.d. ^{bA}	n.d. ^{bA}
	UA %	0.10±0.02 ^{aA}	0.31±0.02 ^{bA}	0.12±0.00 ^{aA}	0.33±0.02 ^{bA}	0.06±0.002 ^{acB}	n.d. ^{cA}	0.03±0.002 ^{cA}	0.01±0.00 ^{cC}
	UP mg/g	0.93±0.00 ^{aB}	2.94±0.09 ^{bc}	1.63±0.07 ^{cA}	3.23±0.12 ^{bA}	0.058±0.00 ^{dB}	0.07±0.00 ^{dA}	0.08±0.00 ^{dB}	0.56±0.03 ^{eB}
	UT mg/g	0.43±0.01 ^{aB}	1.66±0.05 ^{bc}	0.95±0.06 ^{cA}	2.14±0.06 ^{dA}	0.02±0.00 ^{eA}	0.03±0.00 ^{efB}	0.05±0.01 ^{efB}	0.22±0.04 ^{fB}
E-etanolni ekstrakt, 80E-80% etanolni ekstrakt, 70E-70% etanolni ekstrakt, M – metanolni ekstrakt, 80M – 80% metanolni ekstrakt, 70M – 70% metanolni ekstrakt, UP – ukupni fenoli, UT - ukupni tanini (mg/100g soka i mg/g ekstrakta), D-3-R – delfinidin-3-rutinozid, D-3-G – delfinidin-3-glukozid, C-3-R – cijanidin-3-rutinozid, C-3-G – cijanidin-3-glukozid = (mg/100 g soka i ekstrakta), UA - ukupni anthocijani, n.d. = nije detektovano a,b,c Mala različita slova označavaju značajnu razliku ($p<0.05$) u sadržaju ispitivanih jedinjenja u sokovima, etanolnim i metanolnim ekstraktima u istoj godini A,B,C Velika različita slova označavaju značajnu razliku ($p<0.05$) u sadržaju ispitivanih jedinjenja u istim uzorcima između godina (samo u sokovima, samo u odgovarajućim etanolnim ili metanolnim ekstraktima)									

Tabela 5.6. Sadržaj ukupnih i dominantnih antocijana, ukupnih polifenola i tanina u sokovima i ekstraktima sorte Triton u periodu 2008-2010. godine.

Triton		SOK	E	80E	70E	M	80M	70M	H ₂ O
2008	D-3-R mg/100g	52.20±2.37 ^{aA}	21.27±1.08 ^{bA}	50.45±3.33 ^{aA}	48.54±2.01 ^{aA}	97.71±5.1 ^{cdA}	83.16±2.31 ^{cA}	109.54±3.7 ^{dA}	28.11±0.13 ^{bA}
	D-3-G mg/100g	6.02±0.34 ^{aA}	1.67±0.08 ^{abA}	6.17±0.22 ^{aA}	6.03±0.17 ^{aA}	12.3±1.59 ^{cA}	12.77±1.02 ^{cA}	16.88±1.39 ^{cA}	n.d. ^{bA}
	C-3-R mg/100g	27.75±2.19 ^{aA}	8.82±0.03 ^{bA}	25.94±1.35 ^{aA}	23.15±0.96 ^{aA}	50.92±3.97 ^{cdA}	42.04±1.37 ^{cA}	55.65±3.03 ^{dA}	10.05±0.06 ^{bA}
	C-3-G mg/100g	3.75±0.31 ^{aA}	n.d. ^{bA}	n.d. ^{bA}	n.d. ^{bA}	4.59±0.21 ^{acA}	3.75±0.20 ^{acA}	5.16±0.02 ^{cA}	n.d. ^{bA}
	UA %	0.112±0.01 ^{abA}	0.07±0.00 ^{bA}	0.15±0.02 ^{aA}	0.13±0.00 ^{aA}	0.03±0.00 ^{bA}	0.03±0.00 ^{bA}	0.03±0.00 ^{bcA}	0.02±0.005 ^{cA}
	UP mg/g	0.57±0.03 ^{aA}	0.23±0.01 ^{abA}	0.46±0.01 ^{abA}	0.37±0.01 ^{aA}	0.04±0.00 ^{abA}	0.03±0.00 ^{abA}	0.01±0.00 ^{bA}	0.02±0.003 ^{bA}
	UT mg/g	0.29±0.05 ^{acA}	0.15±0.01 ^{bcA}	0.28±0.00 ^{acA}	0.20±0.00 ^{cA}	0.002±0.00 ^{dA}	0.01±0.00 ^{dA}	0.01±0.00 ^{dA}	0.01±0.001 ^{dA}
2009	D-3-R mg/100g	31.84±2.91 ^{aB}	6.16±0.19 ^{bdB}	11.05±0.36 ^{bcB}	5.2±0.22 ^{bdB}	23.64±1.03 ^{eB}	7.61±0.32 ^{bdB}	17.18±0.99 ^{ceB}	4.43±0.21 ^{dB}
	D-3-G mg/100g	3.25±0.21 ^{aB}	n.d. ^{bB}	n.d. ^{bB}	n.d. ^{bB}	1.88±0.13 ^{cB}	n.d. ^{bB}	n.d. ^{bB}	n.d. ^{bA}
	C-3-R mg/100g	18.05±0.98 ^{aB}	1.87±0.04 ^{bdB}	3.14±0.12 ^{bdB}	0.92±0.04 ^{bB}	12.41±0.26 ^{cB}	3.23±0.04 ^{dB}	7.91±0.46 ^{eB}	1.36±0.06 ^{bdB}
	C-3-G mg/100g	2.29±0.01 ^{aB}	n.d. ^{bA}	n.d. ^{bA}	n.d. ^{bA}	n.d. ^{bB}	n.d. ^{bB}	n.d. ^{bB}	n.d. ^{bA}
	UA %	0.11±0.04 ^{aA}	0.05±0.00 ^{bcA}	0.11±0.00 ^{ab}	0.12±0.00 ^{aA}	0.01±0.00 ^{bB}	0.01±0.00 ^{bA}	0.01±0.00 ^{bA}	0.022±0.001 ^{bA}
	UP mg/g	0.51±0.02 ^{aA}	0.24±0.02 ^{bcA}	0.21±0.01 ^{bB}	0.20±0.01 ^{bB}	0.04±0.00 ^{dA}	0.01±0.00 ^{dB}	0.03±0.00 ^{dA}	0.3±0.03 ^{cB}
	UT mg/g	0.27±0.08 ^{abA}	0.14±0.00 ^{bcA}	0.09±0.00 ^{cB}	0.07±0.00 ^{cB}	0.01±0.00 ^{cB}	0.04±0.00 ^{cB}	0.02±0.00 ^{cA}	n.d. ^{cA}
2010	D-3-R mg/100g	19.38±0.86 ^{aceB}	10.11±0.74 ^{bcB}	31.42±2.17 ^{deC}	24.84±1.46 ^{cC}	33.04±1.24 ^{dB}	28.02±1.5 ^{deC}	17.43±1.7 ^{ceB}	n.d. ^{fC}
	D-3-G mg/100g	2.12±0.05 ^{aB}	n.d. ^{bB}	n.d. ^{bB}	5.52±0.24 ^{cA}	n.d. ^{bB}	n.d. ^{bB}	n.d. ^{bB}	n.d. ^{bB}
	C-3-R mg/100g	11.71±0.37 ^{acdC}	3.34±0.16 ^{bc}	13.02±0.66 ^{acC}	9.66±0.42 ^{dC}	14.14±0.61 ^{cdB}	11.68±0.98 ^{cdC}	6.36±0.77 ^{bB}	n.d. ^{eC}
	C-3-G mg/100g	1.98±0.09 ^{aB}	n.d. ^{bA}	n.d. ^{bA}	n.d. ^{bA}	n.d. ^{bB}	n.d. ^{bB}	n.d. ^{bB}	n.d. ^{bA}
	UA %	0.08±0.01 ^{aA}	0.06±0.00 ^{aA}	0.27±0.02 ^{bB}	0.22±0.01 ^{bB}	0.07±0.00 ^{aC}	0.06±0.00 ^{ab}	0.07±0.01 ^{aB}	n.d. ^{cB}
	UP mg/g	0.64±0.02 ^{aA}	0.32±0.02 ^{ba}	0.31±0.02 ^{bc}	0.26±0.01 ^{bc}	0.06±0.00 ^{cB}	0.04±0.00 ^{cB}	0.07±0.01 ^{cB}	0.02±0.004 ^{cA}
	UT mg/g	0.33±0.04 ^{aA}	0.18±0.01 ^{ba}	0.19±0.01 ^{bc}	0.11±0.01 ^{bcC}	0.02±0.00 ^{dB}	0.01±0.00 ^{dA}	0.05±0.00 ^{cdB}	0.005±0.00 ^{dA}
E-etanolni ekstrakt, 80E-80% etanolni ekstrakt, 70E-70% etanolni ekstrakt, M – metanolni ekstrakt, 80M – 80% metanolni ekstrakt, 70M – 70% metanolni ekstrakt, UP – ukupni fenoli, UT - ukupni tanini (mg/100g soka i mg/g ekstrakt), D-3-R – delfinidin-3-rutinozid, D-3-G – delfinidin-3-glukozid, C-3-R – cijanidin-3-rutinozid, C-3-G – cijanidin-3-glukozid = (mg/100 g soka i ekstrakta), UA - ukupni anthocijani, n.d. = nije detektovano a,b,c Mala različita slova označavaju značajnu razliku ($p<0.05$) u sadržaju ispitivanih jedinjenja u sokovima, etanolnim i metanolnim ekstraktima u istoj godini A,B,C Velika različita slova označavaju značajnu razliku ($p<0.05$) u sadržaju ispitivanih jedinjenja u istim uzorcima između godina (samo u sokovima, samo u odgovarajućim etanolnim ili metanolnim ekstraktima)									

Tabela 5.7. Sadržaj ukupnih i dominantnih antocijana, ukupnih polifenola i tanina u sokovima i ekstraktima sorte Ometa u periodu 2008-2010. godine.

Ometa		SOK	E	80E	70E	M	80M	70M	H ₂ O
2008	D-3-R mg/100g	39.88±2.78 ^{aA}	67.71±2.14 ^{bA}	20.7±1.08 ^{cA}	43.13±1.59 ^{aA}	0.4±0.01 ^{dA}	63.46±4.1 ^{bA}	39.27±3.1 ^{aA}	19.79±1.34 ^{cA}
	D-3-G mg/100g	9.21±0.08 ^{aA}	13.58±0.7 ^{bA}	3.98±0.20 ^{cA}	8.86±0.37 ^{aA}	n.d. ^{dA}	16.4±0.48 ^{eA}	8.3±0.11 ^{aA}	3.42±0.29 ^{cA}
	C-3-R mg/100g	39.74±2.66 ^{aA}	59.44±2.16 ^{bA}	12.91±0.7 ^{cA}	35.33±2.76 ^{aA}	0.13±0.01 ^{dA}	66.45±3.41 ^{bA}	35.6±1.57 ^{aA}	12.57±0.97 ^{cA}
	C-3-G mg/100g	5.01±0.04 ^{abA}	5.64±0.71 ^{aA}	1.49±0.06 ^{cA}	3.30±0.16 ^{beA}	n.d. ^{cA}	7.61±0.52 ^{dA}	3.19±0.04 ^{ceA}	2.17±0.08 ^{ceA}
	UA %	0.08±0.00 ^{adA}	0.20±0.01 ^{beA}	0.06±0.00 ^{aA}	0.11±0.00 ^{dA}	0.01±0.00 ^{cA}	0.09±0.00 ^{dA}	0.04±0.004 ^{eA}	0.02±0.00 ^{ceA}
	UP mg/g	1.03±0.00 ^{aA}	2.31±0.07 ^{bA}	1.13±0.01 ^{aA}	1.77±0.10 ^{cA}	0.16±0.01 ^{dA}	0.14±0.01 ^{dA}	0.12±0.01 ^{dA}	1.29±0.08 ^{aA}
	UT mg/g	0.7±0.00 ^{aA}	1.19±0.03 ^{bA}	0.56±0.02 ^{aA}	0.64±0.04 ^{aA}	0.06±0.01 ^{cA}	0.09±0.00 ^{cA}	0.12±0.00 ^{cA}	1.01±0.01 ^{dA}
2009	D-3-R mg/100g	44.74±3.07 ^{abA}	65.9±2.37 ^{bcA}	2.76±0.14 ^{dB}	24.59±1.32 ^{eB}	0.37±0.09 ^{dA}	45.04±2.42 ^{abB}	37.56±2.64 ^{abA}	83.2±9.54 ^{cB}
	D-3-G mg/100g	11.66±0.12 ^{abB}	21.66±3.45 ^{dA}	1.24±0.07 ^{efB}	5.95±0.30 ^{begB}	n.d. ^{fA}	12.1±0.56 ^{aghB}	8.1±0.1 ^{agiA}	18.85±1.2 ^{chB}
	C-3-R mg/100g	50.81±2.91 ^{aA}	57.28±2.03 ^{aA}	0.93±0.04 ^{bB}	15.1±0.99 ^{cB}	n.d. ^{bA}	46.01±2.00 ^{aB}	34.09±1.99 ^{dA}	49.92±3.74 ^{aB}
	C-3-G mg/100g	8.99±0.1 ^{aB}	8.45±0.3 ^{aB}	n.d. ^{bB}	2.27±0.06 ^{cB}	n.d. ^{bA}	5.52±0.17 ^{dB}	3.1±0.00 ^{cA}	8.8±0.76 ^B
	UA %	0.2±0.09 ^{abA}	0.32±0.02 ^{bB}	0.03±0.00 ^{cB}	0.22±0.01 ^{abB}	0.004±0.00 ^{dB}	0.11±0.01 ^{eA}	0.01±0.00 ^{ceA}	0.43±0.03 ^{bB}
	UP mg/g	0.54±0.00 ^{aB}	0.94±0.05 ^{aB}	0.11±0.00 ^{aB}	0.34±0.01 ^{aB}	0.04±0.01 ^{aB}	0.23±0.01 ^{aB}	0.06±0.00 ^{aB}	5.11±0.64 ^{bB}
	UT mg/g	0.27±0.00 ^{aA}	0.75±0.05 ^{bB}	0.04±0.00 ^{aB}	0.15±0.00 ^{aB}	0.01±0.00 ^{aB}	0.11±0.00 ^{aA}	0.03±0.00 ^{aB}	2.05±0.17 ^{cB}
2010	D-3-R mg/100g	19.78±1.35 ^{aB}	5.91±0.20 ^{bB}	6.45±0.22 ^{bB}	7.62±0.29 ^{bcC}	4.56±0.05 ^{bbB}	10.62±0.87 ^{cC}	9.76±0.1 ^{cB}	0.62±0.04 ^{dA}
	D-3-G mg/100g	4.43±0.07 ^{aC}	0.96±0.04 ^{bB}	n.d. ^{cC}	n.d. ^{cC}	n.d. ^{cA}	2.00±0.09 ^{dC}	1.97±0.06 ^{dB}	0.81±0.05 ^{bA}
	C-3-R mg/100g	22.19±0.38 ^{aB}	3.03±0.16 ^{bB}	2.21±0.18 ^{bcB}	2.6±0.07 ^{bcC}	1.57±0.04 ^{cB}	5.15±0.26 ^{dC}	4.35±0.06 ^{dB}	0.12±0.01 ^{eA}
	C-3-G mg/100g	3.7±0.01 ^{aC}	n.d. ^{bC}	n.d. ^{bB}	n.d. ^{bC}	n.d. ^{bA}	n.d. ^{bC}	n.d. ^{bB}	n.d. ^{bA}
	UA %	0.16±0.07 ^{aA}	0.05±0.004 ^{bC}	0.06±0.00 ^{abA}	0.08±0.00 ^{abA}	0.03±0.00 ^{bA}	0.12±0.01 ^{abA}	0.08±0.01 ^{abB}	0.03±0.001 ^{abA}
	UP mg/g	0.45±0.00 ^{aC}	0.21±0.01 ^{bC}	0.21±0.01 ^{bC}	0.23±0.01 ^{bB}	0.06±0.01 ^{cdB}	0.05±0.00 ^{cC}	0.05±0.01 ^{cB}	0.10±0.005 ^{adA}
	UT mg/g	0.26±0.00 ^{aB}	0.08±0.002 ^{bc}	0.07±0.00 ^{bbB}	0.08±0.00 ^{bbB}	0.03±0.01 ^{cAB}	0.02±0.00 ^{cA}	0.03±0.01 ^{cB}	0.02±0.00 ^{cC}

E-etanolni ekstrakt, 80E-80% etanolni ekstrakt, 70E-70% etanolni ekstrakt, M – metanolni ekstrakt, 80M – 80% metanolni ekstrakt, 70M – 70% metanolni ekstrakt, UP – ukupni fenoli, UT - ukupni tanini (mg/100g soka i mg/g ekstrakt), D-3-R – delfinidin-3-rutinozid, D-3-G – delfinidin-3-glukozid, C-3-R – cijanidin-3-rutinozid, C-3-G – cijanidin-3-glukozid = (mg/100g soka i ekstrakta), UA - ukupni anthocijani, n.d. = nije detektovano

a,b,c Mala različita slova označavaju značajnu razliku ($p<0.05$) u sadržaju ispitivanih jedinjenja u sokovima, etanolnim i metanolnim ekstraktima u istoj godini

A,B,C Velika različita slova označavaju značajnu razliku ($p<0.05$) u sadržaju ispitivanih jedinjenja u istim uzorcima između godina (samo u sokovima, samo u odgovarajućim etanolnim ili metanolnim ekstraktima)

Tabela 5.8. Sadržaj ukupnih i dominantnih antocijana, ukupnih polifenola i tanina u sokovima i ekstraktima sorte Ben Sarek u periodu 2008-2010. godine.

Ben Sarek		SOK	E	80E	70E	M	80M	70M	H ₂ O
2008	D-3-R mg/100g	8.82±0.67 ^{aA}	47.84±2.13 ^{bA}	20.51±1.08 ^{cA}	18.1±0.50 ^{ceA}	0.48±0.05 ^{dA}	17.75±0.96 ^{ceA}	15.60±0.88 ^{ceA}	12.55±0.48 ^{aeA}
	D-3-G mg/100g	2.44±0.02 ^{aA}	12.73±0.56 ^{bA}	4.16±0.09 ^{cA}	3.7±0.09 ^{ceA}	n.d. ^{dA}	n.d. ^{dA}	n.d. ^{dA}	2.87±0.16 ^{aeA}
	C-3-R mg/100g	6.51±0.05 ^{aA}	30.39±1.11 ^{aAB}	10.39±0.60 ^{cA}	9.76±0.45 ^{acA}	0.07±0.00 ^{dA}	14.50±0.68 ^{eA}	13.70±0.09 ^{eA}	6.57±0.30 ^{aA}
	C-3-G mg/100g	1.55±0.03 ^{aA}	3.84±0.10 ^{bA}	n.d. ^{cA}	n.d. ^{cA}	n.d. ^{cA}	n.d. ^{cA}	n.d. ^{cA}	n.d. ^{cA}
	UA %	0.28±0.01 ^{aA}	2.31±0.09 ^{bA}	1.14±0.42 ^{aA}	1.05±0.32 ^{aA}	0.01±0.00 ^{aA}	0.09±0.00 ^{aA}	0.04±0.00 ^{aA}	1.76±0.07 ^{bA}
	UP mg/g	0.63±0.00 ^{aA}	5.16±0.25 ^{bA}	3.12±0.15 ^{cA}	2.96±0.14 ^{cA}	0.05±0.01 ^{aA}	0.12±0.01 ^{aA}	0.04±0.01 ^{aA}	3.21±0.29 ^{cA}
	UT mg/g	0.35±0.00 ^{aA}	2.73±0.12 ^{bA}	2.16±0.08 ^{cA}	1.45±0.06 ^{dA}	0.03±0.01 ^{aA}	0.04±0.00 ^{aA}	0.01±0.00 ^{aA}	1.08±0.08 ^{eA}
2009	D-3-R mg/100g	17.80±0.93 ^{aB}	44.85±1.76 ^{bA}	21.67±1.12 ^{aA}	21.98±1.08 ^{aA}	0.28±0.02 ^{cA}	n.d. ^{cB}	n.d. ^{cB}	10.33±0.64 ^{dA}
	D-3-G mg/100g	3.79±0.02 ^{aB}	11.34±0.35 ^{bAB}	4.11±0.08 ^{aA}	4.4±0.18 ^{aA}	n.d. ^{cA}	n.d. ^{cA}	n.d. ^{cA}	n.d. ^{cB}
	C-3-R mg/100g	15.47±0.08 ^{aB}	33.39±1.55 ^{bA}	14.54±0.85 ^{aB}	14.65±0.85 ^{aB}	0.01±0.00 ^{cA}	n.d. ^{cB}	n.d. ^{cB}	4.58±0.17 ^{dB}
	C-3-G mg/100g	2.78±0.01 ^{aBC}	4.16±0.14 ^{bA}	n.d. ^{cA}	n.d. ^{cA}	n.d. ^{cA}	n.d. ^{cA}	n.d. ^{cA}	n.d. ^{cA}
	UA %	0.06±0.00 ^{acB}	0.21±0.01 ^{bB}	0.11±0.00 ^{abA}	0.12±0.01 ^{abA}	0.07±0.00 ^{acB}	n.d. ^{cB}	0.06±0.00 ^{acB}	1.32±0.05 ^{dB}
	UP mg/g	0.55±0.00 ^{aB}	4.75±0.18 ^{bA}	2.64±0.08 ^{cA}	2.45±0.06 ^{cA}	0.03±0.00 ^{dA}	0.02±0.00 ^{dB}	0.03±0.00 ^{dA}	3.27±0.15 ^{eA}
	UT mg/g	0.31±0.00 ^{aB}	3.01±0.15 ^{bA}	1.89±0.06 ^{cA}	1.65±0.04 ^{cA}	0.01±0.00 ^{aA}	0.00±0.00 ^{aA}	0.002±0.00 ^{aB}	1.21±0.13 ^{dA}
2010	D-3-R mg/100g	11.39±0.89 ^{aCA}	31.4±2.05 ^{bdB}	14.25±1.02 ^{aA}	7.63±0.30 ^{CB}	32.88±0.67 ^{BB}	29.01±1.54 ^{bdC}	26.11±0.35 ^{dC}	n.d. ^{eB}
	D-3-G mg/100g	4.29±0.28 ^{aB}	8.9±0.40 ^{bdB}	3.03±0.08 ^{acB}	1.38±0.05 ^{CB}	10.19±0.69 ^{BB}	8.48±0.35 ^{bdB}	7.61±0.64 ^{dB}	n.d. ^{cB}
	C-3-R mg/100g	10.69±0.07 ^{aC}	25.8±1.20 ^{bdB}	10.83±0.60 ^{aA}	4.68±0.19 ^{CC}	28.43±0.12 ^{BB}	25.88±1.76 ^{bdC}	22.89±0.2 ^{dC}	n.d. ^{eC}
	C-3-G mg/100g	2.96±0.28 ^{aB}	4.00±0.10 ^{bA}	n.d. ^{cA}	n.d. ^{cA}	4.25±0.08 ^{BB}	3.78±0.20 ^{bdB}	3.24±0.11 ^{adB}	n.d. ^{cA}
	UA %	0.06±0.00 ^{aB}	2.1±0.05 ^{bA}	0.08±0.00 ^{aA}	0.06±0.00 ^{aA}	0.06±0.00 ^{aB}	0.06±0.00 ^{aC}	0.06±0.00 ^{aB}	0.01±0.00 ^{aC}
	UP mg/g	0.67±0.00 ^{aC}	4.99±0.25 ^{bA}	3.16±0.24 ^{CA}	1.75±0.06 ^{dB}	0.05±0.01 ^{aA}	0.06±0.00 ^{aC}	0.05±0.00 ^{aA}	0.56±0.03 ^{aB}
	UT mg/g	0.04±0.00 ^{aC}	2.95±0.15 ^{bA}	1.67±0.04 ^{CA}	0.96±0.03 ^{dB}	0.002±0.00 ^{aA}	n.d. ^{aA}	0.03±0.00 ^{aA}	0.19±0.02 ^{aB}
E-etanolni ekstrakt, 80E-80% etanolni ekstrakt, 70E-70% etanolni ekstrakt, M – metanolni ekstrakt, 80M – 80% metanolni ekstrakt, 70M – 70% metanolni ekstrakt, UP – ukupni fenoli, UT - ukupni tanini (mg/100 g soka i mg/g ekstrakta), D-3-R – delfinidin-3-rutinozid, D-3-G – delfinidin-3-glukozid, C-3-R – cijanidin-3-rutinozid, C-3-G – cijanidin-3-glukozid = (mg/100g soka i ekstrakta), UA - ukupni antocijani, n.d. = nije detektovano a,b,c Mala različita slova označavaju značajnu razliku ($p<0.05$) u sadržaju ispitivanih jedinjenja u sokovima, etanolnim i metanolnim ekstraktima u istoj godini A,B,C Velika različita slova označavaju značajnu razliku ($p<0.05$) u sadržaju ispitivanih jedinjenja u istim uzorcima između godina (samo u sokovima, samo u odgovarajućim etanolnim ili metanolnim ekstraktima)									

Dobra ekstrakcija antocijana postignuta je svim metanolnim rastvorima korišćenim u našem eksperimentu, kao i etanolom. Ekstrakcija antocijana alkoholnim rastvorima veća je u poređenju sa vodenim ekstraktima, što je bilo očekivano zbog polarnosti rastvarača (80% i 70%). Najbolji sadržaj D3G ekstrahovan je koncentrovanim metanolom i 70% metanolom iz sorte Tritona 2008. godine i iznosio je 97.71 ± 5.1 i 109.54 ± 3.7 mg/100 g, respektivno. Sadržaj C3R u istim uzorcima je takođe bio visok i iznosio je 50.92 ± 3.97 i 55.65 ± 3.03 mg/100 g, respektivno. Etanolom je najveći sadržaj ekstrahovan kod sorte Ometa iz 2008. godine i iznosio je 67.71 ± 2.14 mg/100 g za D3G i 59.44 ± 2.16 mg/100 g za C3G, mada je i etanolni ekstrakt Omete iz 2009. godine imao približne vrednosti 65.9 ± 2.37 mg/100 g za D3G i 57.28 ± 2.03 mg/100 g za C3G. Kao i u soku, vrednosti D3G i C3G su skoro iste i u etanolnom ekstraktu sorte Ometa.

5.4. SADRŽAJ FLAVONOIDA U SOKOVIMA I EKSTRAKTIMA PLODOVA *Ribes nigrum* L.

Najzastupljeniji flavonoid u svim uzorcima je miricetin, a godina u kojoj je određen njihov najveći sadržaj je 2008. Kao najbolje ekstrakciono sredstvo flavonoida se pokazao čist etanol. Ne postoji značajna razlika u sadržaju flavonoida ekstrahovanih etanolom, 80% i 70% etanolom. Sadržaj flavonoida u metanolnim ekstraktima značajno je niži u odnosu na etanolne ekstrakte, a vodeni ekstrakti sadrže najmanju količinu flavonoida. Statističkom analizom utvrđeno je da postoji statistički značajna razlika između miricetina, kvercetina i kemferola istih uzoraka u različitim godinama ($p < 0.05$). Rezultati flavonoida u sokovima i ekstraktima sorti Tenah, Triton, Ben Sarek i Ometa u periodu 2008-2010. godine su prikazani u tabelama 5.9. do 5.12.

Najveći sadržaj miricetina sadrži sok sorte Triton iz 2008. godine (191.51 ± 8.30 µg/100 mg soka), etanolni ekstrakt (55.81 ± 3.25 µg/100 mg ekstrakta) kao i 80% etanolni ekstrakt (56.92 ± 2.20 µg/100 mg). Kvercetin je drugi po zastupljenosti, a najmanji je sadržaj kemferola. Sadržaj flavonoida u sokovima i ekstraktima sorti Tenah, Triton i Ben Sarek pokazale su smanjenje tokom godina, dok je Ometa u 2009. godini pokazala porast u sadržaju miricetina u etanolnim ekstraktima (50.2 ± 2.25 µg/100 mg). Treba uzeti u obzir da je 2009. godine bila povećana količina vlage u vazduhu (Slika 3.1).

Tabela 5.9. Sadržaj flavonoida u sokovima i ekstraktima sorte Tenah u periodu 2008-2010. godine

Tenah		SOK	EtOH	80E	70E	M	80M	70M	H ₂ O
2008.	M	45.49±0.13 ^{aA}	44.42±0.40 ^{aA}	39.69±0.39 ^{abA}	36.75±0.30 ^{baA}	3.41±0.03 ^{cA}	2.04±0.03 ^{dA}	0.00±0.00 ^{eA}	15.21±0.11 ^{fA}
	Q	3.38±0.18 ^{eA}	8.23±0.03 ^{aA}	7.45±0.07 ^{baA}	7.08±0.04 ^{baA}	0.98±0.04 ^{cA}	0.00±0.00 ^{cA}	0.00±0.00 ^{cA}	3.12±0.10 ^{dA}
	K	1.43±0.04 ^{dA}	4.16±0.08 ^{acA}	4.76±0.10 ^{acA}	4.64±0.06 ^{aaA}	0.66±0.07 ^{bcdA}	0.33±0.06 ^{baA}	0.31±0.06 ^{baA}	1.58±0.01 ^{cdA}
2009.	M	20.41±0.13 ^{geB}	26.09±0.12 ^{acB}	23.85±0.17 ^{bcdB}	23.98±0.08 ^{bcdB}	24.42±0.06 ^{cB}	23.69±0.06 ^{dabcB}	22.25±0.07 ^{ebgB}	13.6±0.10 ^{fB}
	Q	1.77±0.06 ^{bB}	4.42±0.06 ^{aB}	4.14±0.03 ^{aB}	4.15±0.09 ^{aB}	4.25±0.05 ^{aB}	4.17±0.03 ^{aB}	3.95±0.04 ^{aB}	1.93±0.05 ^{baA}
	K	0.65±0.07 ^{fAB}	2.52±0.03 ^{abB}	3.33±0.06 ^{bcdB}	3.5±0.10 ^{cbdB}	3.73±0.03 ^{cbB}	3.52±0.03 ^{cbdB}	3.28±0.03 ^{dbcB}	2.04±0.02 ^{efB}
2010.	M	30.42±0.13 ^{dC}	21.16±0.09 ^{aC}	20.9±0.08 ^{aC}	20.07±0.08 ^{abC}	19.26±0.03 ^{abC}	19.61±0.06 ^{abC}	18.5±0.06 ^{bC}	8.66±0.11 ^{cC}
	Q	2.32±0.03 ^{aB}	2.46±0.05 ^{aC}	2.55±0.05 ^{aC}	2.4±0.04 ^{aC}	2.37±0.06 ^{aC}	2.4±0.03 ^{aC}	2.3±0.04 ^{aC}	1.21±0.04 ^{bB}
	K	0.63±0.04 ^{dB}	1.44±0.07 ^{acdC}	3.14±0.07 ^{bB}	3.51±0.06 ^{bB}	1.32±0.04 ^{aA}	1.27±0.03 ^{acC}	1.2±0.03 ^{acdC}	0.6±0.05 ^{cdaA}

M-miricetin, Q-kvercetin, K-kemferol, EtOH-etanolni ekstrakt, 80E-80% etanolni ekstrakt, 70E-70% etanolni ekstrakt, MeOH – metanolni ekstrakt, 80M – 80% metanolni ekstrakt, 70 M – 70% metanolni ekstrakt, H₂O – vodeni ekstrakt (µg/100 mg soka i ekstrakta)

a,b,c Mala različita slova u redu označavaju značajnu razliku (p<0.05) u sadržaju flavonoida u sokovima, etanolnim i metanolnim ekstraktima u istoj godini

A,B,C Velika različita slova označavaju značajnu razliku (p<0.05) u sadržaju flavonoida u istim uzorcima između godina (samo u sokovima, samo u odgovarajućim etanolnim ili metanolnim ekstraktima)

Tabela 5.10. Sadržaj flavonoida u sokovima i ekstraktima sorte Ben Sarek u periodu 2008-2010. godine

Ben Sarek		SOK	EtOH	80E	70E	M	80M	70M	H ₂ O
2008.	M	48.04±0.09 ^{IA}	33.43±0.11 ^{aA}	30.26±0.10 ^{baA}	32.75±0.12 ^{aA}	10.07±0.12 ^{cA}	9.60±0.09 ^{cA}	7.41±0.06 ^{dA}	19.82±0.09 ^{eA}
	Q	7.00±0.09 ^{aA}	6.23±0.09 ^{aA}	5.85±0.05 ^{aA}	6.35±0.06 ^{aA}	3.50±0.04 ^{baA}	2.70±0.04 ^{cA}	2.60±0.04 ^{cA}	4.04±0.05 ^{dA}
	K	3.54±0.07 ^{aA}	2.66±0.03 ^{abA}	2.36±0.04 ^{abA}	2.57±0.04 ^{aA}	1.33±0.07 ^{bcdAB}	1.30±0.06 ^{cdAB}	1.1±0.02 ^{cA}	1.67±0.03 ^{dA}
2009.	M	46.24±0.27 ^{BA}	24.63±0.08 ^{aB}	27.7±0.07 ^{bB}	27.94±0.80 ^{bB}	4.00±0.03 ^{cB}	3.12±0.04 ^{dB}	2.31±0.03 ^{EB}	15.94±0.13 ^{fB}
	Q	7.87±0.09 ^{eA}	4.54±0.05 ^{aB}	5.07±0.07 ^{aB}	5.08±0.07 ^{aB}	1.03±0.03 ^{bB}	0.97±0.03 ^{bB}	0.51±0.02 ^{cB}	3.07±0.07 ^{dB}
	K	3.36±0.05 ^{dA}	2.35±0.04 ^{aA}	2.42±0.01 ^{aA}	2.41±0.04 ^{aA}	0.78±0.03 ^{bB}	0.71±0.04 ^{bB}	0.65±0.02 ^{bB}	1.48±0.04 ^{cAB}
2010.	M	35.60±0.14 ^{cA}	18.01±0.12 ^{aC}	17.7±0.11 ^{aC}	17.0±0.13 ^{aC}	17.54±0.13 ^{aC}	17.00±0.12 ^{aC}	16.75±0.15 ^{aC}	9.21±0.09 ^{bC}
	Q	3.95±0.06 ^{CB}	2.26±0.05 ^{aC}	2.26±0.04 ^{aC}	2.18±0.04 ^{aC}	2.25±0.05 ^{aC}	2.23±0.05 ^{aA}	2.20±0.04 ^{aC}	1.38±0.04 ^{bC}
	K	1.73±0.02 ^{CB}	1.34±0.03 ^{abcB}	1.26±0.04 ^{abcB}	1.21±0.02 ^{aB}	1.32±0.04 ^{abcA}	1.28±0.04 ^{abcA}	1.25±0.02 ^{aA}	0.79±0.01 ^{bBC}

M-miricetin, Q-kvercetin, K-kemferol, EtOH-etanolni ekstrakt, 80E-80% etanolni ekstrakt, 70E-70% etanolni ekstrakt, MeOH – metanolni ekstrakt, 80M – 80% metanolni ekstrakt, 70 M – 70% metanolni ekstrakt, H₂O – vodeni ekstrakt (µg/100 mg soka i ekstrakta)

a,b,c Mala različita slova u redu označavaju značajnu razliku (p<0.05) u sadržaju flavonoida u sokovima, etanolnim i metanolnim ekstraktima u istoj godini

A,B,C Velika različita slova označavaju značajnu razliku (p<0.05) u sadržaju flavonoida u istim uzorcima između godina (samo u sokovima, samo u odgovarajućim etanolnim ili metanolnim ekstraktima)

Tabela 5.11. Sadržaj flavonoida u sokovima i ekstraktima sorte Ometa u periodu 2008-2010. godine

Ometa		SOK	EtOH	80E	70E	M	80M	70M	H ₂ O
2008.	M	42.27±0.21 ^{fA}	31.81±0.09 ^{aA}	29.77±0.11 ^{bA}	31.09±0.12 ^{abA}	4.65±0.03 ^{cA}	18.59±0.12 ^{dA}	17.68±0.13 ^{dA}	13.24±0.07 ^{eA}
	Q	6.09±0.04 ^{eA}	5.77±0.05 ^{aeA}	5.39±0.04 ^{aA}	5.76±0.07 ^{aeA}	1.28±0.03 ^{bA}	3.21±0.04 ^{cA}	3.44±0.03 ^{cA}	2.61±0.03 ^{dA}
	K	1.33±0.07 ^{cdA}	1.96±0.08 ^{abA}	1.73±0.04 ^{bcA}	1.76±0.04 ^{acAB}	0.99±0.02 ^{dAC}	1.16±0.02 ^{cdA}	1.23±0.01 ^{cdA}	0.90±0.08 ^{cdAB}
2009.	M	7.96±0.06 ^{fB}	50.2±0.20 ^{aB}	31.62±0.13 ^{bB}	35.21±0.10 ^{cB}	3.54±0.04 ^{dB}	9.97±0.09 ^{eB}	7.23±0.07 ^{fB}	10.04±0.05 ^{eB}
	Q	0.00±0.00 ^{eB}	6.65±0.03 ^{aB}	4.73±0.02 ^{bB}	4.99±0.02 ^{bA}	0.96±0.05 ^{cA}	1.39±0.04 ^{cdB}	1.09±0.03 ^{cB}	1.61±0.03 ^{dB}
	K	0.00±0.00 ^{bA}	2.87±0.05 ^{aB}	3.26±0.07 ^{aB}	2.24±0.07 ^{abC}	0.53±0.04 ^{bA}	0.45±0.04 ^{bB}	0.37±0.01 ^{bB}	1.24±0.04 ^{cB}
2010.	M	4.67±0.06 ^{dC}	24.21±0.13 ^{aC}	20.90±0.10 ^{bc}	18.95±0.08 ^{cC}	20.74±0.09 ^{bc}	21.06±0.08 ^{bc}	19.27±0.06 ^{cA}	4.71±0.06 ^{dC}
	Q	0.00±0.00 ^{eB}	3.84±0.03 ^{aC}	3.45±0.04 ^{aC}	3.31±0.04 ^{aB}	3.59±0.02 ^{aB}	3.44±0.03 ^{aA}	3.28±0.04 ^{aA}	0.94±0.06 ^{bB}
	K	0.00±0.00 ^{aB}	1.58±0.02 ^{aC}	1.37±0.03 ^{aA}	1.23±0.03 ^{aC}	1.42±0.01 ^{aB}	1.24±0.03 ^{aA}	1.2±0.03 ^{aA}	0.42±0.02 ^{aA}

M-miricetin, Q-kvercetin, K-kemferol, EtOH-etanolni ekstrakt, 80E-80% etanolni ekstrakt, 70E-70% etanolni ekstrakt, MeOH – metanolni ekstrakt, 80M – 80% metanolni ekstrakt, 70 M – 70% metanolni ekstrakt, H₂O – vodeni ekstrakt (µg/100 mg soka i ekstrakta)

a,b,c Mala različita slova u redu označavaju značajnu razliku (p<0.05) u sadržaju flavonoida u sokovima, etanolnim i metanolnim ekstraktima u istoj godini

A,B,C Velika različita slova označavaju značajnu razliku (p<0.05) u sadržaju flavonoida u istim uzorcima između godina (samo u sokovima, samo u odgovarajućim etanolnim ili metanolnim ekstraktima)

Tabela 5.12. Sadržaj flavonoida u sokovima i ekstraktima sorte Triton u periodu 2008-2010. godine

Triton		SOK	EtOH	80E	70E	M	80M	70M	H ₂ O
2008.	M	191.51±8.30 ^{fA}	55.81±3.25 ^{aA}	56.92±2.20 ^{aA}	54.41±0.23 ^{aA}	40.60±0.13 ^{bA}	5.33±0.09 ^{cA}	29.31±0.10 ^{dA}	23.80±0.12 ^{eA}
	Q	6.83±0.07 ^{cA}	5.32±0.03 ^{aA}	5.65±0.07 ^{aA}	5.43±0.05 ^{aA}	3.14±0.07 ^{bA}	3.29±0.06 ^{bA}	2.33±0.03 ^{bA}	2.20±0.09 ^{bA}
	K	1.52±0.03 ^{aA}	1.59±0.02 ^{aB}	2.72±0.03 ^{bAB}	2.74±0.03 ^{bAB}	1.00±0.02 ^{cAB}	0.99±0.02 ^{cdAB}	0.70±0.02 ^{dAB}	0.77±0.03 ^{cdAC}
2009.	M	11.20±0.10 ^{hB}	28.24±0.12 ^{aB}	7.32±0.09 ^{bB}	23.15±0.11 ^{cB}	35.14±0.13 ^{dB}	25.19±0.09 ^{eB}	2.44±0.05 ^{fB}	8.94±0.09 ^{gB}
	Q	1.84±0.06 ^{cBC}	2.54±0.05 ^{aB}	1.12±0.06 ^{bcB}	2.35±0.06 ^{acB}	2.71±0.05 ^{aAB}	2.59±0.04 ^{acB}	0.85±0.02 ^{bcB}	1.27±0.07 ^{bcB}
	K	0.00±0.00 ^{bcB}	3.45±0.07 ^{aB}	0.71±0.03 ^{bcBC}	0.83±0.04 ^{bcB}	2.35±0.01 ^{aB}	2.19±0.03 ^{aB}	0.34±0.01 ^{cB}	2.21±0.03 ^{aB}
2010.	M	27.33±0.09 ^{aC}	26.04±0.05 ^{aC}	26.42±0.04 ^{aC}	22.98±0.06 ^{bB}	25.29±0.11 ^{aC}	23.86±0.12 ^{abC}	22.27±0.10 ^{bc}	4.59±0.05 ^{cC}
	Q	1.77±0.03 ^{cC}	2.16±0.03 ^{acB}	2.31±0.02 ^{aC}	2.22±0.02 ^{aB}	2.35±0.05 ^{acB}	2.26±0.04 ^{acB}	2.07±0.02 ^{acA}	0.00±0.00 ^{bc}
	K	1.17±0.04 ^{acdAC}	0.95±0.01 ^{aC}	0.91±0.03 ^{acdC}	0.88±0.01 ^{acdB}	1.2±0.02 ^{aA}	2.45±0.03 ^{bB}	0.8±0.01 ^{cdA}	0.68±0.01 ^{dC}

M-miricetin, Q-kvercetin, K-kemferol, EtOH-etanolni ekstrakt, 80E-80% etanolni ekstrakt, 70E-70% etanolni ekstrakt, MeOH – metanolni ekstrakt, 80M – 80% metanolni ekstrakt, 70 M – 70% metanolni ekstrakt, H₂O – vodeni ekstrakt (µg/100 mg soka i ekstrakta)

a,b,c Mala različita slova u redu označavaju značajnu razliku (p<0.05) u sadržaju flavonoida u sokovima, etanolnim i metanolnim ekstraktima u istoj godini

A,B,C Velika različita slova označavaju značajnu razliku (p<0.05) u sadržaju flavonoida u istim uzorcima između godina (samo u sokovima, samo u odgovarajućim etanolnim ili metanolnim ekstraktima)

5.5. ANTIOKSIDATIVNA AKTIVNOST SOKOVA I EKSTRAKTA PLODOVA *Ribes nigrum* L.

Antioksidativna (AO) aktivnost određivana uz DPPH-radikal imala je vrednosti IC_{50} od 0.09 do 0.4 mg/ml za sokove i 0.08 do 1.25 mg/ml za ekstrakte. Najbolju IC_{50} vrednost pokazali su sokovi sorte Ometa iz 2008. i 2009. godine (0.09 ± 0.01 mg/ml), kao i sok sorte Tenah iz 2009. godine (0.09 ± 0.01 mg/ml). Sokovi sorte Ometa pokazali su visoku negativnu korelaciju IC_{50} sa ukupnim polifenolima ($r = -0.911$), kao i visoku negativnu korelaciju sa D3R ($r = -0.984$), D3G ($r = -0.941$) i C3R ($r = -0.924$), na osnovu čega se može zaključiti da su ova jedinjenja uticala na dobru AO aktivnost ovih sokova. Ovo se može objasniti činjenicom da se bolja antioksidativna aktivnost (niže vrednosti IC_{50}) postiže većom količinom antocijana u ispitivanom uzorku. Ukupan vitamin C takođe je pokazao visoku negativnu korelaciju sa IC_{50} u sve tri godine kod sokova sorte Ometa ($r = -0.935$). Najnižu vrednost IC_{50} kod analiziranih sokova pokazala je Ometa iz 2010. godine (0.4 ± 0.00 mg/ml). Ovaj sok je imao slabu negativnu korelaciju sa ukupnim polifenolima ($r = -0.133$).

Antioksidativna aktivnost etanolnih ekstrakta Tenaha bila je najbolja u 2008. godini, a najslabija u 2010. godini, dok su metanolni ekstrakti pokazali najbolju aktivnost u 2010. godini. Nije bilo statistički značajne razlike između godina u AO aktivnosti vodenih ekstrakta i sokova kod svih sorti, sem Omete. Ekstrakti sorte Tenah iz 2008. i 2010. godine, imaju jedne od najboljih vrednosti IC_{50} među sortama. Statistička analiza je pokazala visoku povezanost između vrednosti IC_{50} i ukupnih polifenola ($r = -0.809$), ukupnih tanina ($r = -0.828$), miricetina ($r = -0.79$) i kvercetina ($r = -0.799$) sa statističkom značajnošću od 0.05, na osnovu čega se može pretpostaviti da AO aktivnost ekstrakta sorte Tenah u najvećem procentu potiče od ovih jedinjenja. Ekstrakti sorte Ben Sarek su ispoljili najmanju sposobnost hvatanja slobodnih radikala. Iako je slaba AO aktivnost, ustanovljeno je da u 2008. godini potiče od ukupnih antocijana ($r = -0.924$), ukupnih polifenola ($r = -0.941$), miricetina ($r = -0.879$) sa $p < 0.01$, ukupnih tanina ($r = -0.859$), kvercetina ($r = -0.820$) i kemferola ($r = -0.823$) sa statističkom značajnošću $p < 0.05$. U 2009. godini antiradikalna aktivnost (IC_{50}) iste sorte je korelirala sa ukupnim polifenolima ($r = -0.93$) ($p < 0.01$), ukupnim taninima ($r = -0.838$), miricetinom ($r = -0.828$), kvercetinom ($r = -0.829$) i kemferolom ($r = -0.805$) sa statističkom značajnošću od 0.05. Kod sorte Omete iz 2010. godine, IC_{50} je pokazao visok stepen korelacije sa dominantnim antocijanima D3R ($r = -0.913$) i C3R

($r = -0.901$)($p < 0.01$) i flavonoidima miricetinom ($r = -0.845$) i kvercetinom ($r = -0.825$) sa sigurnošću od 95%, pa se može reći da AO aktivnost potiče od ove dve klase polifenola.

BHT, BHA, ASK i Trolox su pokazali bolju antioksidativnu aktivnost u poređenju sa ispitivanim uzorcima (IC_{50} ($\mu\text{g/ml}$) = 22.82 ± 2.07 , 2.44 ± 0.09 , 6.15 ± 0.64 i 4.74 ± 0.33 , respektivno).

Rezultati antioksidativne aktivnosti određivane pomoću dve metode, DPPH metode i β -karotena, u sokovima i ekstraktima sorti crnih ribizli Triton, Tenah, Ometa i Ben Sarek u periodu od 2008 - 2010. godine, prikazani su u tabelama 5.13 - 5.16.

Tabela 5.13. Antioksidativna aktivnost sokova i ekstrakta sorte Tenah u periodu 2008-2010. godine

Tenah	2008.		2009.		2010.	
	DPPH $IC_{50}(\text{mg/ml})$	β -karoten $IC_{50}(\text{mg/ml})$	DPPH $IC_{50}(\text{mg/ml})$	β -karoten $IC_{50}(\text{mg/ml})$	DPPH $IC_{50}(\text{mg/ml})$	β -karoten $IC_{50}(\text{mg/ml})$
SOK	0.11 ± 0.04^{aA}	0.26 ± 0.04^{aA}	0.09 ± 0.01^{aA}	1.02 ± 0.00^{aB}	0.25 ± 0.05^{aA}	0.37 ± 0.00^{aA}
E	0.23 ± 0.002^{abA}	0.42 ± 0.04^{bA}	0.37 ± 0.02^{bB}	0.12 ± 0.04^{bdB}	0.25 ± 0.01^{abA}	0.34 ± 0.004^{aA}
80E	0.26 ± 0.02^{abA}	0.06 ± 0.04^{cA}	0.61 ± 0.03^{cB}	0.41 ± 0.04^{cB}	0.25 ± 0.04^{abA}	0.35 ± 0.003^{aB}
70E	0.32 ± 0.02^{bA}	0.02 ± 0.004^{cA}	0.51 ± 0.07^{bcB}	0.32 ± 0.03^{cdB}	0.27 ± 0.01^{aA}	0.4 ± 0.014^{aB}
M	0.86 ± 0.04^{cA}	0.02 ± 0.00^{cA}	0.43 ± 0.01^{bB}	0.03 ± 0.002^{bA}	0.12 ± 0.02^{abC}	0.22 ± 0.01^{bB}
80M	0.77 ± 0.03^{cA}	0.03 ± 0.002^{cA}	0.47 ± 0.01^{bcB}	0.15 ± 0.02^{bdB}	0.20 ± 0.01^{abC}	0.18 ± 0.005^{bB}
70M	0.82 ± 0.03^{cA}	0.02 ± 0.002^{cA}	0.47 ± 0.02^{bcB}	0.13 ± 0.01^{bB}	0.2 ± 0.01^{abC}	0.23 ± 0.02^{bC}
H ₂ O	0.11 ± 0.02^{aA}	0.26 ± 0.04^{aA}	0.09 ± 0.03^{aA}	0.23 ± 0.002^{dA}	0.12 ± 0.01^{bA}	0.25 ± 0.03^{bA}
E-etanolni ekstrakt, 80E-80% etanolni ekstrakt, 70E-70% etanolni ekstrakt, M – metanolni ekstrakt, 80M – 80% metanolni ekstrakt, 70 M – 70% metanolni ekstrakt, IC_{50} -koncentracija soka ili ekstrakta koja inhibira 50% aktivnosti DPPH slobodnog radikala ili sprečava obezbojavanje 50% β -karotena						
a,b,c Mala različita slova označavaju značajnu razliku ($p < 0.05$) u antioksidativnoj aktivnosti sokovima, etanolnim i metanolnim ekstraktima u istoj godini						
A,B,C Velika različita slova označavaju značajnu razliku ($p < 0.05$) u antioksidativnoj aktivnosti u istim uzorcima između godina (samo u sokovima, samo u odgovarajućim etanolnim ili metanolnim ekstraktima)						

Najbolju inhibiciju lipidne peroksidacije u emulziji β -karoten/linolna kiselina pokazao je ponovo sok Omete iz 2009. godine (0.08 ± 0.01 mg/ml). Sok sorte Ometa u ovoj godini pokazao je odličnu pozitivnu korelaciju sa vitaminom C ($r = 0.968$), što znači da antioksidativna aktivnost inhibicije lipidne peroksidacije nije u tesnoj vezi sa ovim hidrosolubilnim antioksidansom. Dobru sposobnost da inhibira oksidaciju β -karotena pokazala je i sorta Ben Sarek iz 2009. godine (0.15 ± 0.002 mg/ml) i ona je skoro dva puta veća od koncentracije soka Omete iz 2009.

godine. Pored toga, sorta Ben Sarek je pokazala dobru korelaciju sa vitaminom C ($r = 0.825$), i veoma slabu sa ukupnim i individualnim antocijanima.

Tabela 5.14. Antioksidativna aktivnost sokova i ekstrakta sorte Ben Sarek u periodu 2008-2010. godine

Ben Sarek	2008.		2009.		2010.	
	DPPH IC ₅₀ (mg/ml)	β -karoten IC ₅₀ (mg/ml)	DPPH IC ₅₀ (mg/ml)	β -karoten IC ₅₀ (mg/ml)	DPPH IC ₅₀ (mg/ml)	β -karoten IC ₅₀ (mg/ml)
SOK	0.3±0.025 ^{abA}	0.2±0.003 ^{adA}	0.17±0.007 ^{aB}	0.15±0.002 ^{abB}	0.39±0.006 ^{aA}	0.4±0.007 ^{acC}
E	0.3±0.02 ^{abA}	0.03±0.001 ^{bA}	0.29±0.02 ^{abA}	0.13±0.06 ^{abA}	0.32±0.01 ^{abA}	0.21±0.01 ^{abA}
80E	0.43±0.02 ^{aA}	0.08±0.05 ^{bA}	0.44±0.02 ^{bA}	0.12±0.02 ^{abA}	0.34±0.02 ^{abA}	0.21±0.03 ^{abA}
70E	0.38±0.02 ^{abA}	0.08±0.02 ^{abcA}	0.41±0.03 ^{bA}	0.11±0.01 ^{abA}	0.33±0.02 ^{abA}	0.21±0.01 ^{abA}
M	1.2±0.028 ^{cA}	0.07±0.004 ^{bcA}	1.12±0.042 ^{cB}	0.07±0.001 ^{aA}	0.32±0.012 ^{abC}	0.18±0.01 ^{bB}
80M	1.21±0.03 ^{cA}	0.09±0.004 ^{abA}	0.91±0.05 ^{dB}	0.16±0.01 ^{abA}	0.35±0.01 ^{abC}	0.22±0.05 ^{abA}
70M	1.13±0.06 ^{cA}	0.09±0.001 ^{abA}	0.95±0.044 ^{cdB}	0.21±0.02 ^{bB}	0.32±0.011 ^{abC}	0.26±0.07 ^{abC}
H ₂ O	0.25±0.03 ^{bA}	0.27±0.06 ^{dA}	0.19±0.036 ^{aA}	0.23±0.01 ^{bA}	0.30±0.008 ^{bA}	0.56±0.05 ^{cB}

E-etanolni ekstrakt, 80E-80% etanolni ekstrakt, 70E-70% etanolni ekstrakt, M – metanolni ekstrakt, 80M – 80% metanolni ekstrakt, 70 M – 70% metanolni ekstrakt, IC₅₀-koncentracija soka ili ekstrakta koja inhibira 50% aktivnosti DPPH slobodnog radikala ili sprečava obezbojavanje 50% β -karotena

a,b,c Mala različita slova označavaju značajnu razliku ($p<0.05$) u antioksidativnoj aktivnosti sokovima, etanolnim i metanolnim ekstraktima u istoj godini

A,B,C Velika različita slova označavaju značajnu razliku ($p<0.05$) u antioksidativnoj aktivnosti u istim uzorcima između godina (samo u sokovima, samo u odgovarajućim etanolnim ili metanolnim ekstraktima)

Ekstrakti su delovali u koncentracijama od 0.02 – 1.12 mg/ml, koje su niže u poređenju sa koncentracijama sokova. Jednu od najboljih vrednosti za IC₅₀ u lipidnom sistemu su imali ekstrakti sorte Triton iz 2008. godine i ova vrednost je pokazala statistički značajnu korelaciju ($p<0.05$) sa D3R ($r = -0.776$), D3G ($r = -0.786$) i C3G ($r = -0.787$). Ekstrakti Omete u 2009. i 2010. godini, pokazali su jednu od boljih inhibicija lipidne peroksidacije među sortama i statističkom analizom je ustanovljeno da u 2009. godini ona u najvećem procentu potiče od flavonoida miricetina ($r = -0.767$), kvercetina ($r = -0.8$) sa statističkom značajnošću od 0.05, i kemferola ($r = -0.88$) sa statističkom značajnošću od 0.01. U 2010. godini povezanost između IC₅₀ inhibicije lipidne oksidacije sa flavonoidima je bila još veća, pa je sa miricetinom iznosila ($r = -0.913$), kvercetinom ($r = -0.913$) i kemferolom ($r = -0.91$) sa sigurnošću od 99%.

BHT, BHA, ASK i Trolox su pokazali bolju antioksidativnu aktivnost u poređenju sa ispitivanim uzorcima (IC₅₀ (μ g/ml) = 0.03 ± 0.00, 0.04 ± 0.01, 1.69 ± 0.11 i 22.95 ± 1.52, respektivno).

Tabela 5.15. Antioksidativna aktivnost sokova i ekstrakta sorte Ometa u periodu 2008-2010. godine

Ometa	2008.		2009.		2010.	
	DPPH IC ₅₀ (mg/ml)	β -karoten IC ₅₀ (mg/ml)	DPPH IC ₅₀ (mg/ml)	β -karoten IC ₅₀ (mg/ml)	DPPH IC ₅₀ (mg/ml)	β -karoten IC ₅₀ (mg/ml)
SOK	0.09±0.01 ^{aA}	0.39±0.02 ^{acdeA}	0.09±0.01 ^{aA}	0.08±0.01 ^{aB}	0.4±0.00 ^{aB}	0.51±0.07 ^{aA}
E	0.45±0.04 ^{bA}	0.22±0.02 ^{bcdefA}	0.31±0.01 ^{bA}	0.07±0.02 ^{aB}	0.4±0.04 ^{aA}	0.06±0.03 ^{bB}
80E	0.48±0.02 ^{bA}	0.14±0.02 ^{bgA}	0.80±0.04 ^{cB}	0.08±0.002 ^{aAB}	0.4±0.08 ^{aA}	0.07±0.003 ^{bB}
70E	0.46±0.02 ^{bA}	0.29±0.02 ^{adefA}	0.91±0.06 ^{cB}	0.08±0.02 ^{aB}	0.43±0.01 ^{aA}	0.1±0.02 ^{bB}
M	0.38±0.01 ^{bcA}	0.33±0.04 ^{aeA}	0.41±0.02 ^{bA}	0.18±0.01 ^{bB}	0.45±0.02 ^{aA}	0.25±0.012 ^{cAB}
80M	0.64±0.01 ^{dA}	0.29±0.004 ^{aefA}	0.48±0.03 ^{bdB}	0.23±0.02 ^{bA}	0.38±0.009 ^{aB}	0.25±0.01 ^{cA}
70M	0.28±0.01 ^{cA}	0.05±0.002 ^{gA}	0.62±0.02 ^{dB}	0.25±0.01 ^{bB}	0.38±0.01 ^{aA}	0.19±0.02 ^{cB}
H ₂ O	0.13±0.02 ^{aA}	0.30±0.02 ^{cA}	0.12±0.01 ^{aA}	0.10±0.003 ^{aB}	0.52±0.04 ^{aB}	0.62±0.05 ^{aC}

E-etanolni ekstrakt, 80E-80% etanolni ekstrakt, 70E-70% etanolni ekstrakt, M – metanolni ekstrakt, 80M – 80% metanolni ekstrakt, 70 M – 70% metanolni ekstrakt, IC₅₀-koncentracija soka ili ekstrakta koja inhibira 50% aktivnosti DPPH slobodnog radikala ili sprečava obezbojavanje 50% β -karotena

a,b,c Mala različita slova označavaju značajnu razliku ($p<0.05$) u antioksidativnoj aktivnosti sokovima, etanolnim i metanolnim ekstraktima u istoj godini

A,B,C Velika različita slova označavaju značajnu razliku ($p<0.05$) u antioksidativnoj aktivnosti u istim uzorcima između godina (samo u sokovima, samo u odgovarajućim etanolnim ili metanolnim ekstraktima)

Tabela 5.16. Antioksidativna aktivnost sokova i ekstrakta sorte Triton u periodu 2008-2010. godine

Triton	2008.		2009.		2010.	
	DPPH IC ₅₀ (mg/ml)	β -karoten IC ₅₀ (mg/ml)	DPPH IC ₅₀ (mg/ml)	β -karoten IC ₅₀ (mg/ml)	DPPH IC ₅₀ (mg/ml)	β -karoten IC ₅₀ (mg/ml)
SOK	0.13±0.01 ^{aA}	0.19±0.04 ^{acA}	0.1±0.02 ^{aA}	0.43±0.1 ^{aB}	0.2±0.02 ^{aA}	0.33±0.03 ^{aAB}
E	0.31±0.01 ^{bA}	0.35±0.01 ^{bA}	0.47±0.04 ^{bB}	0.10±0.003 ^{bcB}	0.29±0.008 ^{bA}	0.2±0.01 ^{bc}
80E	0.37±0.02 ^{bA}	0.33±0.01 ^{bcA}	0.79±0.05 ^{cB}	0.24±0.006 ^{abB}	0.29±0.01 ^{bA}	0.15±0.01 ^{bcC}
70E	0.39±0.02 ^{bA}	0.19±0.04 ^{acA}	0.93±0.05 ^{dB}	0.21±0.01 ^{bcA}	0.36±0.01 ^{bA}	0.18±0.01 ^{bcA}
M	0.75±0.02 ^{cA}	0.19±0.01 ^{acA}	1.25±0.08 ^{dB}	0.06±0.01 ^{bcB}	0.54±0.02 ^{cA}	0.02±0.02 ^{cdB}
80M	0.62±0.02 ^{dAB}	0.04±0.004 ^{dAB}	0.84±0.08 ^{dB}	0.03±0.002 ^{cA}	0.36±0.007 ^{bB}	0.05±0.002 ^{cdB}
70M	0.67±0.02 ^{cdA}	0.02±0.00 ^{dA}	0.76±0.03 ^{cA}	0.2±0.00 ^{bcB}	0.53±0.01 ^{cB}	0.05±0.00 ^{cdA}
H ₂ O	0.09±0.01 ^{aA}	0.22±0.005 ^{cA}	0.10±0.01 ^{aA}	0.12±0.007 ^{bcB}	0.08±0.008 ^{dA}	0.10±0.006 ^{cB}

E-etanolni ekstrakt, 80E-80% etanolni ekstrakt, 70E-70% etanolni ekstrakt, M – metanolni ekstrakt, 80M – 80% metanolni ekstrakt, 70 M – 70% metanolni ekstrakt, IC₅₀-koncentracija soka ili ekstrakta koja inhibira 50% aktivnosti DPPH slobodnog radikala ili sprečava obezbojavanje 50% β -karotena

a,b,c Mala različita slova označavaju značajnu razliku ($p<0.05$) u antioksidativnoj aktivnosti sokovima, etanolnim i metanolnim ekstraktima u istoj godini

A,B,C Velika različita slova označavaju značajnu razliku ($p<0.05$) u antioksidativnoj aktivnosti u istim uzorcima između godina (samo u sokovima, samo u odgovarajućim etanolnim ili metanolnim ekstraktima)

5.6. ANTIMIKROBNA AKTIVNOST SOKOVA I EKSTRAKTA PLODOVA *Ribes nigrum* L.

Ispitivani sokovi i ekstrakti pokazali su antimikrobnu aktivnost ka različitim alimentarnim i patogenim mikroorganizmima. Minimalne inhibitorne (MIC) i baktericidne koncentracije (MBC) bile su u rasponu od 0.4 do 500 mg/ml za sokove i 0.4 do 500 mg/ml za ekstrakte. Nije bilo značajne razlike u dejstvu prema Gram (+) i Gram (–) bakterijama. Fungalni soj *A. niger* je pokazao najveću rezistentnost i prema sokovima i prema ekstraktima, gde su MIC i MBC bile od 125 do 500 mg/ml. *C. albicans* je bila osetljivija na dejstvo sokova ispitivanih sorti. Najosetljiviji sojevi su bili *L. monocytogenes* i *P. aeruginosa*.

Najbolje MIC/MBC koncentracije dobijene su od soka sorte Ometa iz 2008. godine, gde su ove vrednosti imale istu vrednost za skoro sve sojeve (62.5 mg/ml), što znači da je aktivna koncentracija imala direktan mikrobicidan efekat. Najslabije dejstvo pokazao je sok sorte Ben Sarek iz 2009. godine. Takođe, postoji značajna razlika u antimikrobnoj aktivnosti između godina svake sorte, što se posebno videlo kod sorte Ometa.

Rezultati antimikrobne aktivnosti sokova i ekstrakta sorti crnih ribizli Tenah, Triton, Ben Sarek i Ometa u period 2008-2010.godine su prikazani u tabelama 5.17. do 5.20.

Tabela 5.17. Minimalna inhibitorna (MIC), minimalna bactericidna (MBC) i minimalna fungicidna (MFC) koncentracija u ml sokova i mg/ml ekstrakta sorte Tenah i antibiotika na testirane Gram (+) i Gram (-) bakterijske i fungalne sojeve u periodu 2008-2010. godine

Sorta	Godina		G(+) MIC/MBC			G(-) MIC/MBC			Fungalni sojevi MIC/MFC	
		Uzorak	<i>S. aureus</i>	<i>B. cereus</i>	<i>L. monocytogenes</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>S. enteritidis</i>	<i>E. coli</i>	<i>C. albicans</i>	<i>A. niger</i>
Tenah	2008.	SOK	12.5/25	12.5/50	200/200	6.25/25	12.5/12.5	12.5/50	0.8/1.6	200/>200
		E	>100/>100	>100/>100	100/100	>100/>100	>100/>100	100/>100	>100/>100	>100/>100
		80%E	>100/>100	100/100	100/100	100/>100	>100/>100	>100/>100	>100/>100	>100/>100
		70%E	100/100	100/100	50/100	100/>100	100/100	25/>100	100/100	>100/>100
		M	6.25/6.25	12.5/25	6.25/6.25	6.25/50	25/25	12.5/25	25/ 25	100/200
		80%M	100/>100	100/100	50/100	>100/>100	100/100	25/>100	100/100	>100/>100
		70%M	6.25/6.25	12.5/12.5	6.25/6.25	6.25/50	25/25	12.5/25	25/ 25	100/100
		H ₂ O	100/100	25/100	25/100	100/>100	100/100	25/>100	100/100	>100/>100
	2009.	SOK	62.5/125	62.5/125	62.5/62.5	62.5/62.5	62.5/125	62.5/62.5	62.5/62.5	250/ 250
		E	100/>100	>100/>100	100/100	>100/>100	>100/>100	100/>100	>100/>100	>100/>100
		80%E	100/>100	>100/>100	100/100	>100/>100	>100/>100	100/>100	>100/>100	>100/>100
		70%E	>100/>100	>100/>100	100/100	100/>100	100/100	100/>100	100/100	>100/>100
		M	6.25/6.25	12.5/25	12.5/12.5	25/200	100/100	25/50	50/50	200/200
		80%M	>100/>100	>100/>100	100/100	>100/>100	100/100	>100/>100	100/100	>100/>100
		70%M	6.25/12.5	25/25	12.5/12.5	25/50	100/100	25/100	50/50	100/200
		H ₂ O	100/>100	>100/>100	50/100	>100/>100	100/100	>100/>100	>100/>100	>100/>100
	2010.	SOK	62.5/125	62.5/125	62.5/62.5	62.5/62.5	62.5/125	62.5/62.5	125/ 250	250/ 250
		E	>100/>100	>100/>100	100/100	100/>100	100/100	50/50	100/100	>100/>100
		80%E	>100/>100	>100/>100	100/100	>100/>100	>100/>100	50/>100	100/100	>100/>100
		70%E	>100/>100	>100/>100	100/100	>100/>100	>100/>100	>100/>100	100/100	>100/>100
		M	6.25/6.25	25/50	12.5/12.5	25/25	50/100	25/100	12.5/50	50/200
		80%M	>100/>100	>100/>100	100/100	>100/>100	>100/>100	100/>100	>100/>100	>100/>100
		70%M	6.25/6.25	25/50	12.5/12.5	12.5/100	100/100	25/100	25/50	100/200
		H ₂ O	>100/>100	25/100	50/100	12.5/25	12.5/100	12.5/12.5	50/100	>100/>100
Kontrola		Chloramphenicol			Streptomycin			Nystatin		
µg/ml		1.0/8.0	4.0/16.0	8.0/16.0	8.0/8.0	4.0/4.0	16.0/16.0	16.0/16.0	16.0/16.0	

Tabela 5.18. Minimalna inhibitorna (MIC), minimalna bactericidna (MBC) i minimalna fungicidna (MFC) koncentracija u ml sokova i mg/ml ekstrakta sorte Ben Sarek i antibiotika na testirane Gram (+) i Gram (-) bakterijske i fungalne sojeve u periodu 2008-2010. godine

Sorta	Godina		G(+) MIC/MBC				G(-) MIC/MBC			Fungalni sojevi MIC/MFC	
		Uzorak	<i>S. aureus</i>	<i>B. cereus</i>	<i>L. monocytogenes</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>S. enteritidis</i>	<i>E. coli</i>	<i>C. albicans</i>	<i>A. niger</i>	
Ben Sarek	2008.	SOK	3.2/6.4	3.2/51	100/200	3.2/6.4	6.4/25.5	6.4/51	0.4/0.8	200/>200	
		E	50/100	>100/>100	100/100	100/>100	100/>100	100/>100	>100/>100	>100/>100	
		80%E	>100/>100	>100/>100	100/>100	>100/>100	>100/>100	>100/>100	>100/>100	>100/>100	
		70%E	>100/>100	>100/>100	100/>100	>100/>100	>100/>100	>100/>100	>100/>100	>100/>100	
		M	6.25/6.25	12.5/25	6.25/6.25	6.25/50	25/25	12.5/25	6.25/25	50/200	
		80%M	>100/>100	>100/>100	50/100	100/>100	100/>100	>100/>100	100/>100	>100/>100	
		70%M	12.5/25	25/25	12.5/25	25/50	50/100	62.5/62.5	100/125	100/>200	
		H ₂ O	>100/>100	>100/>100	100/>100	>100/>100	>100/>100	>100/>100	>100/>100	>100/>100	
	2009.	SOK	125/500	125/500	125/500	125/500	125/500	62.5/500	250/500	250/500	
		E	100/>100	>100/>100	100/100	100/>100	100/100	100/>100	100/>100	>100/>100	
		80%E	100/>100	>100/>100	50/100	100/>100	100/>100	100/>100	100/>100	>100/>100	
		70%E	100/>100	>100/>100	50/100	100/>100	100/>100	100/>100	100/>100	>100/>100	
		M	6.25/6.25	25/50	12.5/12.5	25/200	25/50	25/50	6.25/50	50/50	
		80%M	>100/>100	>100/>100	50/100	100/>100	100/100	100/>100	100/>100	>100/>100	
		70%M	25/25	12.5/50	12.5/12.5	25/50	25/50	12.5/50	3.125/12.5	50/100	
		H ₂ O	>100/>100	>100/>100	100/>100	>100/>100	>100/>100	>100/>100	>100/>100	>100/>100	
	2010.	SOK	125/125	125/125	125/250	125/125	125/500	125/250	125/250	250/500	
		E	>100/>100	>100/>100	50/100	12.5/100	100/100	>100/>100	100/>100	>100/>100	
		80%E	>100/>100	>100/>100	100/100	100/>100	>100/>100	>100/>100	100/>100	>100/>100	
		70%E	>100/>100	>100/>100	100/100	100/>100	>100/>100	>100/>100	100/>100	>100/>100	
		M	6.25/6.25	25/100	12.5/12.5	25/50	100/100	25/100	6.25/12.5	50/50	
		80%M	>100/>100	>100/>100	100/100	100/>100	100/>100	>100/>100	100/>100	>100/>100	
		70%M	12.5/12.5	25/50	12.5/12.5	25/50	50/50	25/100	12.5/12.5	50/200	
		H ₂ O	100/100	>100/>100	50/100	100/>100	100/100	>100/>100	100/>100	>100/>100	
Kontrola		Chloramphenicol				Streptomycin			Nystatin		
µg/ml		1.0/8.0	4.0/16.0	8.0/16.0	8.0/8.0	4.0/4.0	16.0/16.0	16.0/16.0	16.0/16.0		

Tabela 5.19. Minimalna inhibitorna (MIC), minimalna bactericidna (MBC) i minimalna fungicidna (MFC) koncentracija u ml sokova i mg/ml ekstrakta sorte Ometa i antibiotika na testirane Gram (+) i Gram (-) bakterijske i fungalne sojeve u periodu 2008-2010. godine

Sorta	Godina		G(+) MIC/MBC			G(-) MIC/MBC			Fungalni sojevi MIC/MFC	
		Uzorak	<i>S. aureus</i>	<i>B. cereus</i>	<i>L. monocytogenes</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>S. enteritidis</i>	<i>E. coli</i>	<i>C. albicans</i>	<i>A. niger</i>
Ometa	2008.	SOK	62.5/62.5	62.5/62.5	62.5/62.5	62.5/62.5	62.5/250	62.5/62.5	62.5/62.5	250/250
		E	>100/>100	>100/>100	100/100	>100/>100	>100/>100	100/>100	>100/>100	>100/>100
		80%E	100/>100	100/100	50/100	>100/>100	100/100	100/100	100/>100	>100/>100
		70%E	>100/>100	>100/>100	100/100	>100/>100	100/100	100/100	>100/>100	>100/>100
		M	6.25/6.25	25/50	12.5/12.5	12.5/100	50/100	50/50	3.125/12.5	100/200
		80%M	100/>100	100/>100	100/100	25/100	100/100	50/100	>100/>100	>100/>100
		70%M	12.5/12.5	50/50	25/25	50/50	50/100	200/200	0.4/1.56	25/100
		H ₂ O	100/>100	>100/>100	100/100	>100/>100	100/100	100/100	>100/>100	>100/>100
	2009.	SOK	125/250	125/125	62.5/125	125/125	125/250	125/125	125/125	250/250
		E	>100/>100	>100/>100	100/100	>100/>100	100/100	50/100	100/>100	>100/>100
		80%E	>100/>100	>100/>100	100/100	>100/>100	100/100	>100/>100	>100/>100	>100/>100
		70%E	>100/>100	>100/>100	100/100	>100/>100	100/100	100/100	>100/>100	>100/>100
		M	25/ 50	50/100	25/ 25	50/>200	50/100	50/100	25/ 25	50/100
		80%M	100/>100	100/>100	100/100	50/100	100/100	50/100	>100/>100	>100/>100
		70%M	25/ 50	50/100	25/100	50/>200	100/>200	200/>200	12.5/25	100/200
		H ₂ O	>100/>100	100/>100	100/100	25/100	100/100	>100/>100	100/>100	>100/>100
	2010.	SOK	125/250	125/250	125/125	125/125	125/250	125/250	125/125	125/125
		E	100/100	>100/>100	100/100	100/>100	>100/>100	100/>100	>100/>100	>100/>100
		80%E	>100/>100	>100/>100	100/100	>100/>100	>100/>100	>100/>100	>100/>100	>100/>100
		70%E	>100/>100	>100/>100	100/100	100/>100	>100/>100	>100/>100	>100/>100	>100/>100
		M	12.5/25	25/100	25/25	50/100	50/200	50/100	12.5/25	100/200
		80%M	>100/>100	>100/>100	50/100	100/>100	>100/>100	>100/>100	>100/>100	>100/>100
		70%M	50/50	50/100	25/25	50/100	100/100	50/100	12.5/25	200/>200
		H ₂ O	100/>100	>100/>100	100/100	>100/>100	100/100	100/100	>100/>100	>100/>100
Kontrola		Chloramphenicol			Streptomycin			Nystatin		
µg/ml		1.0/8.0	4.0/16.0	8.0/16.0	8.0/8.0	4.0/4.0	16.0/16.0	16.0/16.0	16.0/16.0	

Tabela 5.20. Minimalna inhibitorna (MIC), minimalna bactericidna (MBC) i minimalna fungicidna (MFC) koncentracija u ml sokova i mg/ml ekstrakta sorte Triton i antibiotika na testirane Gram (+) i Gram (-) bakterijske i fungalne sojeve u periodu 2008-2010. godine

Sorta	Godina		G(+) MIC/MBC			G(-) MIC/MBC			Fungalni sojevi MIC/MFC	
		Uzorak	<i>S. aureus</i>	<i>B. cereus</i>	<i>L. monocytogenes</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>S. enteritidis</i>	<i>E. coli</i>	<i>C. albicans</i>	<i>A. niger</i>
Triton	2008.	SOK	62.5/62.5	62.5/125	125/125	62.5/62.5	62.5/125	62.5/62.5	62.5/62.5	500/500
		E	>100/>100	>100/>100	100/100	>100/>100	>100/>100	>100/>100	>100/>100	>100/>100
		80%E	100/100	>100/>100	100/100	>100/>100	>100/>100	100/>100	>100/>100	>100/>100
		70%E	100/100	>100/>100	100/100	>100/>100	>100/>100	100/>100	>100/>100	>100/>100
		M	12.5/12.5	25/50	25/25	50/100	50/100	25/100	12.5/25	100/>200
		80%M	100/>100	100/100	25/100	>100/>100	100/100	100/100	100/100	>100/>100
		70%M	12.5/12.5	25/100	12.5/12.5	12.5/100	50/100	25/100	6.25/25	100/100
		H ₂ O	25/25	25/50	50/50	12.5/100	25/100	25/50	100/100	>100/>100
	2009.	SOK	125/125	125/125	62.5/125	125/125	125/125	125/125	125/125	250/ 250
		E	>100/>100	12.5/100	25/50	100/100	50/100	100/100	50/100	>100/>100
		80%E	>100/>100	>100/>100	100/100	>100/>100	>100/>100	>100/>100	100/>100	>100/>100
		70%E	>100/>100	>100/>100	100/100	>100/>100	>100/>100	>100/>100	100/>100	>100/>100
		M	50/50	50/100	25/25	50/>200	12.5/100	50/100	12.5/25	50/>200
		80%M	12.5/100	12.5/100	25/50	50/100	100/100	50/100	50/100	>100/>100
		70%M	12.5/12.5	50/100	25/25	25/200	100/200	50/200	12.5/25	100/200
		H ₂ O	12.5/100	12.5/100	25/50	25/100	25/50	25/100	50/100	>100/>100
	2010.	SOK	62.5/125	62.5/125	62.5/62.5	62.5/62.5	125/250	125/125	125/250	250/ 250
		E	100/>100	>100/>100	100/100	>100/>100	100/>100	100/>100	100/>100	>100/>100
		80%E	>100/>100	>100/>100	100/>100	>100/>100	>100/>100	>100/>100	>100/>100	>100/>100
		70%E	>100/>100	>100/>100	100/>100	>100/>100	>100/>100	>100/>100	>100/>100	>100/>100
		M	25/25	50/100	25/25	50/50	200/200	50/100	12.5/25	50/100
		80%M	>100/>100	>100/>100	100/>100	>100/>100	>100/>100	>100/>100	>100/>100	>100/>100
		70%M	100/100	50/100	25/25	50/100	200/200	50/100	12.5/25	50/50
		H ₂ O	12.5/100	12.5/100	25/50	50/100	25/100	50/100	100/>100	>100/>100
Kontrola		Chloramphenicol			Streptomycin			Nystatin		
µg/ml		1.0/8.0	4.0/16.0	8.0/16.0	8.0/8.0	4.0/4.0	16.0/16.0	16.0/16.0	16.0/16.0	

5.7. SPAZMOLITIČKA AKTIVNOST SOKOVA I EKSTRAKTA PLODOVA *Ribes nigrum* L.

Rezultati *in vitro* ispitivanja pokazali su da sokovi i ekstrakti crne ribizle ispoljavaju relaksantno dejstvo na spontane kontrakcije tankog creva pacova, kontrakcije indukovane KCl i acetilholinom, što ukazuje da su ekstrakti i sokovi biološki aktivni. Dejstva koja su pokazali ovi uzorci bila su slabija u poređenju sa delovanjem papaverina, nespecifičnog relaksansa glatke muskulature. Efekat na glatku muskulaturu ileuma reverzibilan je nakon ispiranja preparata, tako da inhibicija nije postignuta oštećenjem creva usled nanošenja uzorka.

5.7.1. Uticaj sokova i ekstrakta plodova *Ribes nigrum* L. na spontane kontrakcije ileuma pacova

Svi uzorci su pokazali inhibiciju spontanijh kontrakcija tankog creva, a relaksantni efekat je dozno-zavistan (Slike 5.1-5.40). Od ekstrakta je najbolje dejstvo pokazao vodeni ekstrakt sorte Ometa iz 2010. godine, koji je u koncentraciji od 1mg/ml inhibirao spontane kontrakcije ileuma za $52.08 \pm 4.71\%$, a u koncentraciji od 3 mg/ml $57.94 \pm 3.44\%$ ($p < 0.05$) (Slika 5.7). Regresionom analizom izračunat EC_{50} za ovaj ekstrakt je 1.24 ± 0.21 mg/ml. Statistički značajnu inhibiciju su pokazali i ekstrakti Ben Sareka iz 2009. godine (Slika 5.3), koji je u koncentraciji od 3 mg/ml smanjio spontane kontrakcije ileuma za $64.64 \pm 2.57\%$ ($p < 0.01$) ($EC_{50} = 1.30 \pm 0.09$ mg/ml), i Omete iz 2009. godine koja je u istoj koncentraciji dovela do smanjenja od $59.36 \pm 1.79\%$ ($p < 0.01$) ($EC_{50} = 1.81 \pm 0.07$ mg/ml).

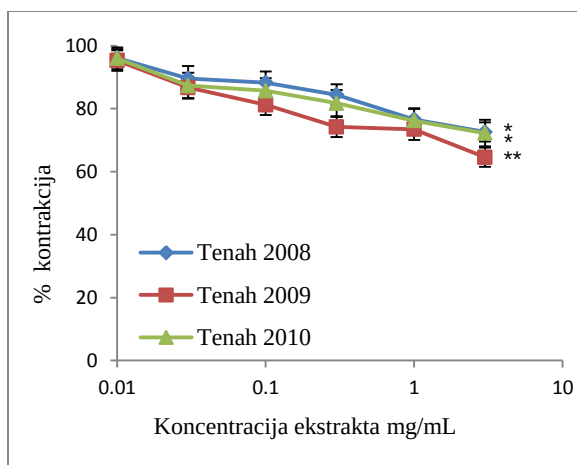
Sokovi su takođe pokazali inhibitorni uticaj na kontrakcije ileuma pacova. Najbolje je delovao Ben Sarek iz 2010. godine koji je u koncentraciji od 1 mg/ml relaksirao tanko crevo za $57.81 \pm 6.49\%$, a sa 3 mg/ml $63.39 \pm 4.85\%$ (Slika 5.4). EC_{50} ovog soka je iznosio 1.14 ± 0.06 mg/ml. Efektivne doze sokova i vodenih ekstrakta koje su inhibirale 50% spontanijh kontrakcija tankog creva date su u Tabelama 5.21. i 5.22.

Tabela 5.21. Vrednosti EC_{50} inhibicije vodenih ekstrakta *R. nigrum* sorti Tenah, Triton, Ometa i Ben Sarek po godinama, na spontane kontrakcije ileuma

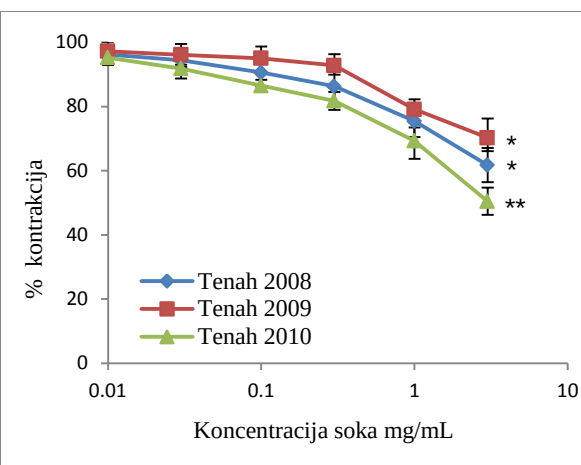
Godina\ Sorta	Tenah (mg/ml)	Ben Sarek (mg/ml)	Triton (mg/ml)	Ometa (mg/ml)
2008.	6.17 ± 0.33	8.91 ± 0.75	2.92 ± 0.15	3.21 ± 0.15
2009.	4.67 ± 0.15	1.30 ± 0.09	4.90 ± 0.31	1.81 ± 0.07
2010.	6.43 ± 0.51	2.35 ± 0.14	2.67 ± 0.10	1.24 ± 0.21

Tabela 5.22. Vrednosti EC_{50} inhibicije sokova *R. nigrum* sorti Tenah, Triton, Ometa i Ben Sarek po godinama, na spontane kontrakcije ileuma

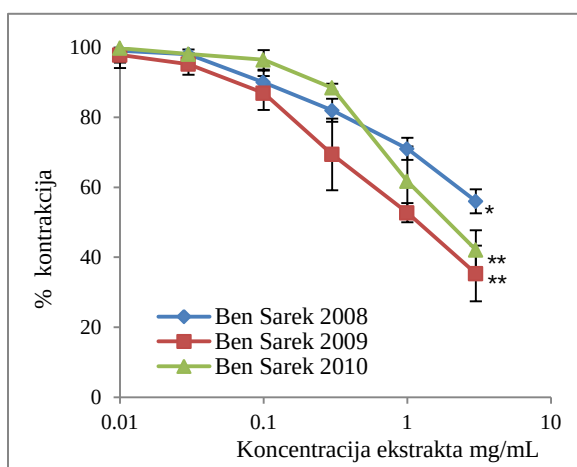
Godina\ Sorta	Tenah (mg/ml)	Ben Sarek (mg/ml)	Triton (mg/ml)	Ometa (mg/ml)
2008.	4.31 ± 0.39	4.65 ± 0.21	3.11 ± 0.40	3.6 ± 0.13
2009.	5.00 ± 0.31	2.45 ± 0.13	4.62 ± 0.37	3.21 ± 0.27
2010.	3.08 ± 0.20	1.14 ± 0.06	3.26 ± 0.21	3.23 ± 0.11



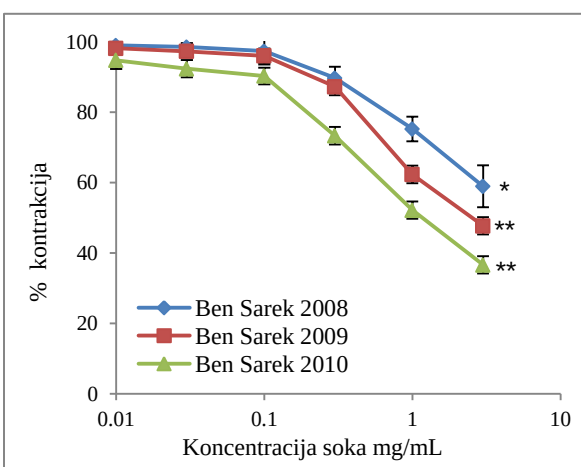
Slika 5.1. Relaksantni efekat vodenog ekstrakta *R. nigrum* sorte Tenah na izolovanom ileumu pacova (* $p < 0.05$ i ** $p < 0.01$)



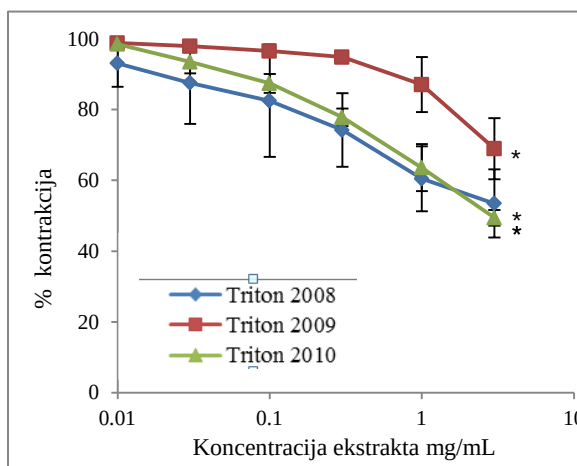
Slika 5.2. Relaksantni efekat soka *R. nigrum* sorte Tenah na izolovanom ileumu pacova (* $p < 0.05$ i ** $p < 0.01$)



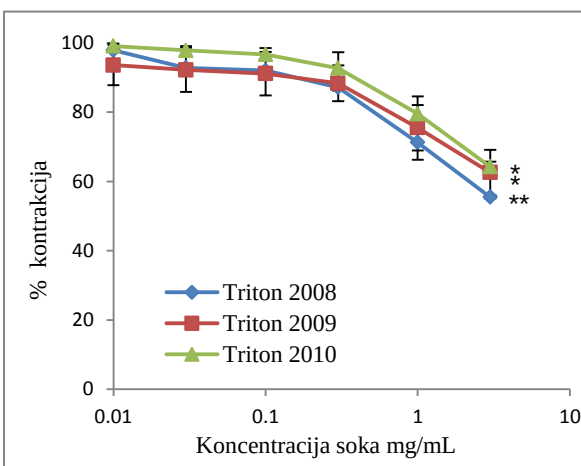
Slika 5.3. Relaksantni efekat vodenog ekstrakta *R. nigrum* sorte Ben Sarek na izolovanom ileumu pacova (* $p < 0.05$ i ** $p < 0.01$)



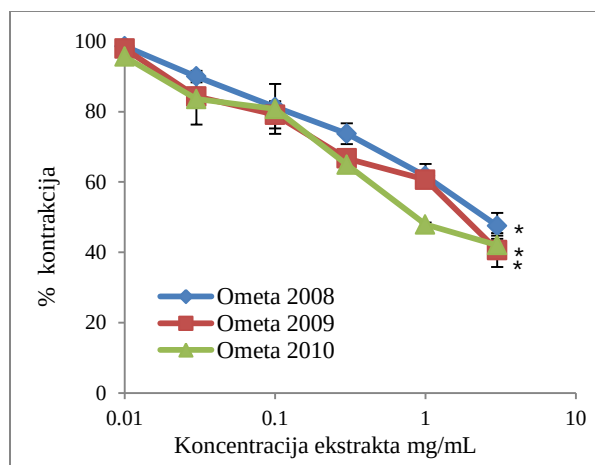
Slika 5.4. Relaksantni efekat soka *R. nigrum* sorte Ben Sarek na izolovanom ileumu pacova (* $p < 0.05$ i ** $p < 0.01$)



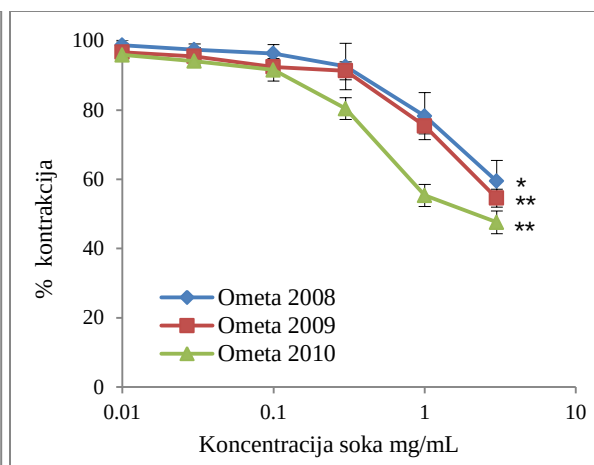
Slika 5.5. Relaksantni efekat vodenog ekstrakta *R. nigrum* sorte Triton na izolovanom ileumu pacova (* $p < 0.05$)



Slika 5.6. Relaksantni efekat soka *R. nigrum* sorte Triton na izolovanom ileumu pacova (* $p < 0.05$ i ** $p < 0.01$)



Slika 5.7. Relaksantni efekat vodenog ekstrakta *R. nigrum* sorte Ometa na izolovanom ileumu pacova (* $p < 0.05$)



Slika 5.8. Relaksantni efekat soka *R. nigrum* sorte Ometa na izolovanom ileumu pacova (* $p < 0.05$ i ** $p < 0.01$)

5.7.2. Uticaj sokova i ekstrakta plodova *Ribes nigrum* L. na KCl indukovane kontrakcije ileuma pacova

Kumulativne koncentracije vodenih ekstrakta i sokova crnih ribizli izazvale su relaksantne efekte na tankom crevu pacova prekontrahovanog 80 mM rastvorom KCl (Slike 5.9-5.16). Najbolji efekat je pokazao vodeni ekstrakt Tritona iz 2008. godine (Slika 5.13), koji je u koncentraciji od 3 mg/ml relaksirao kontrakcije ileuma $47.27 \pm 9.95\%$ ($p < 0.05$) ($EC_{50} = 2.95 \pm 0.18$ mg/ml). Dobre efekte su pokazali i vodeni ekstrakti sorte Ben Sarek, koji je u 2010. godini u koncentraciji od 3 mg/ml iz (Slika 5.11) izazvao relaksantni efekat od $42.51 \pm 0.6\%$ ($p < 0.05$) ($EC_{50} = 3.6 \pm 0.15$ mg/ml), a u 2009. godini od $41.2 \pm 11.79\%$ ($p < 0.05$) ($EC_{50} = 3.74 \pm 0.24$ mg/ml). Najslabiju inhibiciju je pokazao ekstrakt sorte Ometa iz 2008. godine koji je u najvišoj koncentraciji (3 mg/ml) izazvao relaksaciju od $14.66 \pm 3.65\%$ ($p < 0.05$) ($EC_{50} = 9.02 \pm 0.36$ mg/ml).

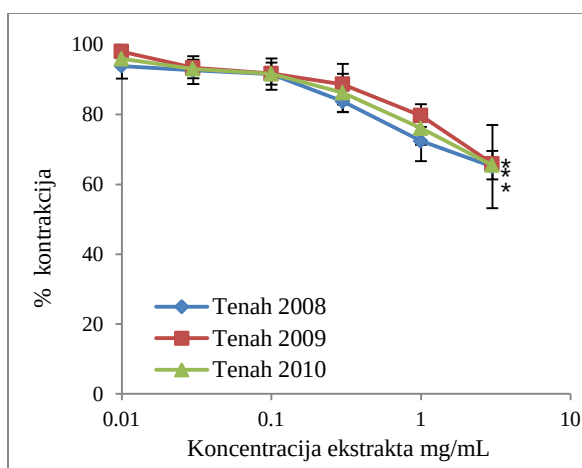
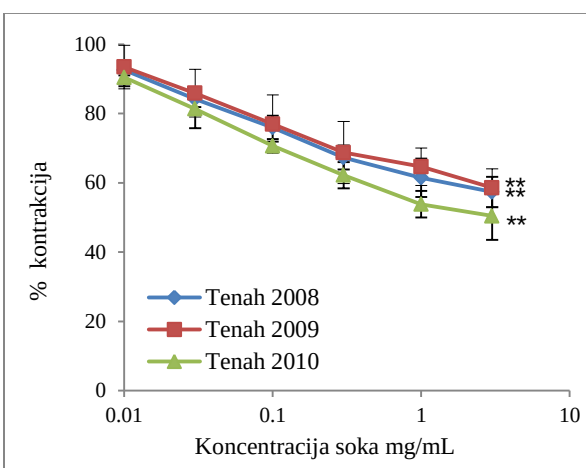
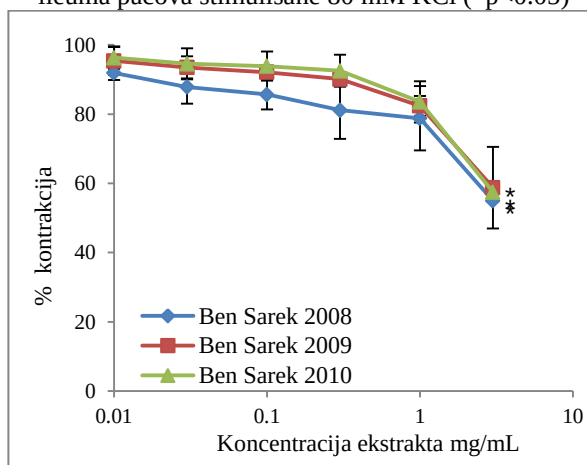
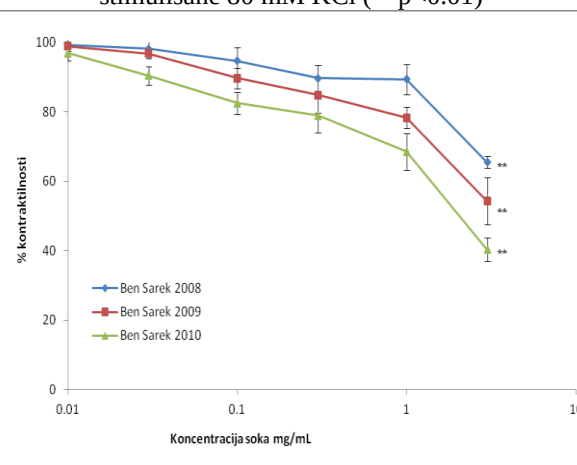
Kod sokova je najbolji efekat pokazao sok sorte Tenah iz 2010. godine koji je u koncentraciji od 1 mg/ml pokazao značajnu inhibiciju kontrakcija ileuma pacova i snizio ih za $53.82 \pm 4.38\%$ ($p < 0.01$) sa $EC_{50} = 2.11 \pm 0.18$ mg/ml (Slika 5.10). Dobro su delovali i sok sorte Ben Sarek iz 2010. godine, koji je u koncentraciji od 3 mg/ml izazvao inhibiciju kontraktilnosti od $40.32 \pm 3.46\%$ ($p < 0.01$), sa efektivnom koncentracijom od 2.32 ± 0.07 mg/ml (Slika 5.12), i sok sorte Ometa iz 2009. godine, koja je u istoj koncentraciji dovela do smanjenja kontraktilnosti od $50.34 \pm 0.46\%$ ($p < 0.01$) i $EC_{50} = 2.88 \pm 0.46$ mg/ml (Slika 5.16). Efektivne doze sokova i vodenih ekstrakta koje su inhibirale 50% kontrakcija tankog creva izazvanih KCl, date su u tabelama 5.23. i 5.24.

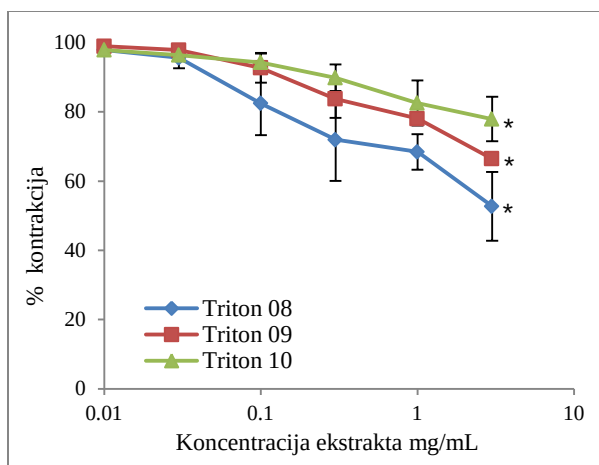
Tabela 5.23. Vrednosti EC_{50} inhibicije vodenih ekstrakta *R. nigrum* sorti Tenah, Triton, Ometa i Ben Sarek po godinama, na kontrakcije indukovane 80 mM KCl

Godina\ Sorta	Tenah (mg/ml)	Ben Sarek (mg/ml)	Triton (mg/ml)	Ometa (mg/ml)
2008	4.29±0.22	3.46±0.17	2.95±0.18	9.02±0.36
2009	4.48±0.19	3.74±0.24	4.41±0.31	6.08±0.30
2010	4.39±0.34	3.60±0.15	7.17±0.40	5.47±0.31

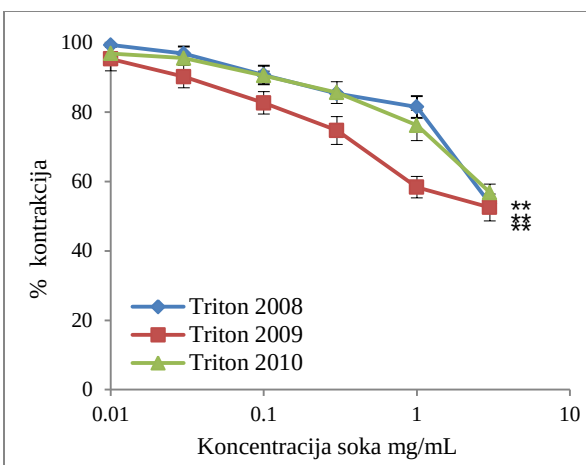
Tabela 5.24. Vrednosti EC_{50} inhibicije sokova *R. nigrum* sorti Tenah, Triton, Ometa i Ben Sarek po godinama, na kontrakcije indukovane 80 mM KCl

Godina\ Sorta	Tenah (mg/ml)	Ben Sarek (mg/ml)	Triton (mg/ml)	Ometa (mg/ml)
2008	6.82±0.35	4.53±0.57	3.23±0.10	3.25±0.19
2009	9.73±1.25	3.22±0.36	4.41±0.59	2.88±0.46
2010	2.11±0.18	2.32±0.07	3.4±0.71	3.04±0.57

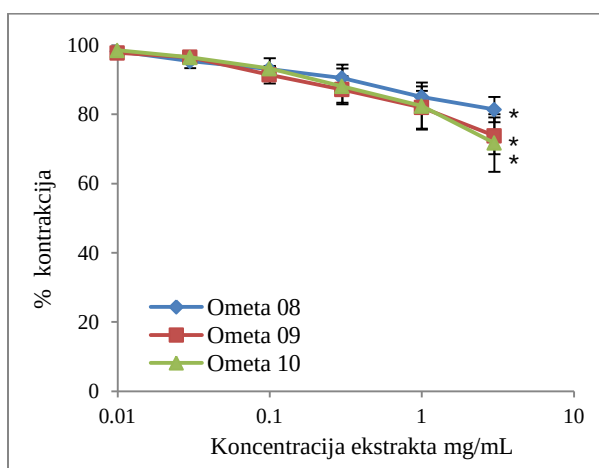
**Slika 5.9.** Inhibični efekat vodenog ekstrakta *R. nigrum* sorte Tenah na kontrakcije izolovanog ileuma pacova stimulisanog 80 mM KCl (* $p < 0.05$)**Slika 5.10.** Inhibični efekat soka *R. nigrum* sorte Tenah na kontrakcije izolovanog ileuma pacova stimulisanog 80 mM KCl (** $p < 0.01$)**Slika 5.11.** Inhibični efekat vodenog ekstrakta *R. nigrum* sorte Ben Sarek na kontrakcije izolovanog ileuma pacova stimulisanog 80 mM KCl (* $p < 0.05$)**Slika 5.12.** Inhibični efekat soka *R. nigrum* sorte Ben Sarek na kontrakcije izolovanog ileuma pacova stimulisanog 80 mM KCl (** $p < 0.01$)



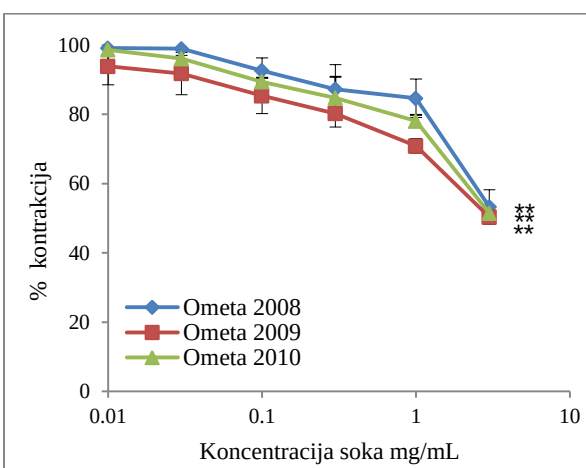
Slika 5.13. Inhibitorni efekat vodenog ekstrakta *R. nigrum* sorte Triton na kontrakcije izolovanog ileuma pacova stimulisane 80 mM KCl (* $p < 0.05$)



Slika 5.14. Inhibitorni efekat soka *R. nigrum* sorte Triton na kontrakcije izolovanog ileuma pacova stimulisane 80 mM KCl (** $p < 0.01$)



Slika 5.15. Inhibitorni efekat vodenog ekstrakta *R. nigrum* sorte Ometa na kontrakcije izolovanog ileuma pacova stimulisane 80 mM KCl (* $p < 0.05$)



Slika 5.16. Inhibitorni efekat soka *R. nigrum* sorte Ometa na kontrakcije izolovanog ileuma pacova stimulisane 80 mM KCl (** $p < 0.01$)

5.7.3. Uticaj sokova i ekstrakta plodova crnih ribizli (*Ribes nigrum* L.) na ACh indukovane kontrakcije izolovanog ileuma pacova

Vodeni ekstrakti crne ribizle izazivaju statistički značajnu depresiju kumulativne koncentracione krive izazvane acetilholinom ($p < 0.01$) i modifikuje kontrolnu vrednost EC_{50} acetilholina. Najbolje efekte su pokazali vodeni ekstrakti Tenaha iz 2009. godine (Slika 5.18) i Ben Sareka iz 2008. godine (Slika 5.23). Tenah iz 2009. godine (3 mg/ml) doveo je do inhibicije kontrakcija indukovanih Ach za $74.21 \pm 3.28\%$ ($p < 0.01$) i modifikovao vrednost EC_{50} acetilholina sa 1.44 ± 0.05 nM (u odsustvu ekstrakta) do 41.74 ± 7.5 nM u prisustvu ekstrakta.

Ben Sarek iz 2008. godine u istoj koncentraciji je smanjio kontrakcije za $66.16 \pm 5.28\%$ ($p < 0.01$) i doveo do promene EC_{50} sa 0.91 ± 0.25 nM na 18.29 ± 1.29 nM. Ekstrakti Omete, iz sve tri godine (Slike 5.35-5.37), su u maksimalnoj koncentraciji (3mg/ml) imali relaksantni efekat od $47.53 \pm 7.32\%$, $49.35 \pm 7.04\%$ i $44.91 \pm 4.15\%$, respektivno. Efektivne koncentracije acetilholina (EC_{50}), u odsustvu i prisustvu sokova i ekstrakta, koje su izazvale 50% kontrakcija tankog creva, date su u tabelama 5.25. i 5.26.

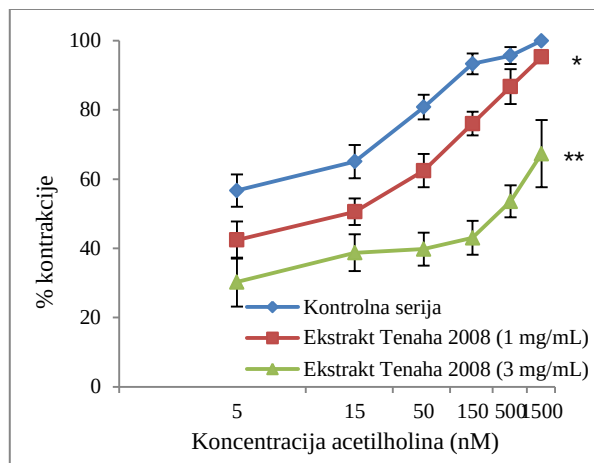
Od sokova su najbolju aktivnost ispoljili sokovi sorti Ben Sarek i Tenah, gde je kod Ben Sareka iz 2010. godine u količini od 1 mg/ml smanjio kontrakcije glatke muskulature ileuma za $65.31 \pm 12.76\%$. U količini od 3 mg/ml, isti sok je smanjio kontrakcije za $80.62 \pm 4.44\%$ ($p < 0.01$) i doveo do promene EC_{50} sa 0.01 ± 0.00 nM na 45.44 ± 5.38 (Slika 5.28), a iz 2009. za $69.89 \pm 2.48\%$ ($p < 0.01$) (Slika 5.27). Kod soka Ben Sarek iz 2009. godine, EC_{50} Ach, sa koncentracijom soka od 3 mg/ml, se promenila od 0.07 ± 0.00 na 14.95 ± 1.56 nM. Tenah iz 2010. godine u koncentraciji od 3 mg/ml inhibirao je kontrakcije za $69.52 \pm 5.8\%$ ($p < 0.01$) sa promenom EC_{50} od 0.04 ± 0.01 na 28.55 ± 1.58 (Slika 5.22). Tenah iz 2009. godine, u istoj koncentraciji (3 mg/ml), doveo je do smanjenja kontrakcija od $58.86 \pm 3.45\%$ ($p < 0.01$), a EC_{50} se promenila od 0.88 ± 0.03 na 24.22 ± 1.67 nM (Slika 5.21).

Tabela 5.25. Vrednosti EC_{50} inhibicije vodenih ekstrakta *R. nigrum* sorti Tenah, Triton, Ben Sarek i Ometa po godinama, na kontrakcije indukovane Ach

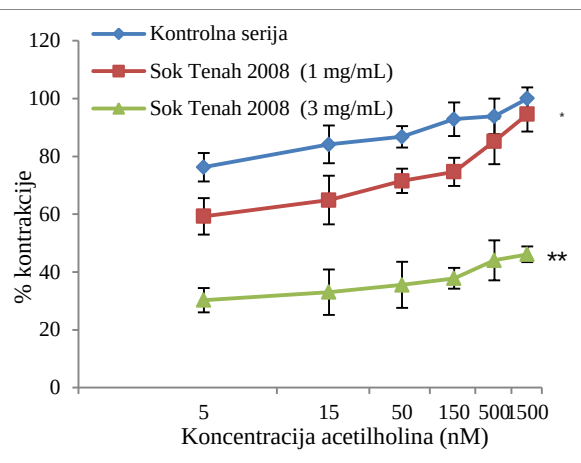
Sorta/Godina	2008	2009	2010
Tenah	nM Ach	nM Ach	nM Ach
Kontrola	0.05±0.00	1.44±0.05	1.24±0.21
1mg/ml	1.78±0.11	4.26±0.57	2.7±0.39
3mg/ml	4.18±1.6	29.12±7.5	3.5±0.95
Ben Sarek	nM Ach	nM Ach	nM Ach
Kontrola	0.91±0.25	0.24±0.09	1.59±0.11
1mg/ml	2.69±0.51	3.64±0.56	4.4±9.36
3mg/ml	16.1±1.29	4.02±0.15	5.4±27.7
Triton	nM Ach	nM Ach	nM Ach
Kontrola	1.39±0.25	1.13±0.23	0.04±0.00
1mg/ml	3.4±0.71	4.31±0.48	1.21±0.58
3mg/ml	3.7±0.74	4.71±1.3	3.52±0.99
Ometa	nM Ach	nM Ach	nM Ach
Kontrola	0.05±0.01	0.09±0.02	0.4±0.02
1mg/ml	2.52±0.46	2.65±0.54	2.13±0.07
3mg/ml	5.79±1.5	7.1±1.4	5.16±0.83

Tabela 5.26. Vrednosti EC_{50} inhibicije sokova *R. nigrum* sorti Tenah, Triton, Ben Sarek i Ometa po godinama, na kontrakcije indukovane Ach

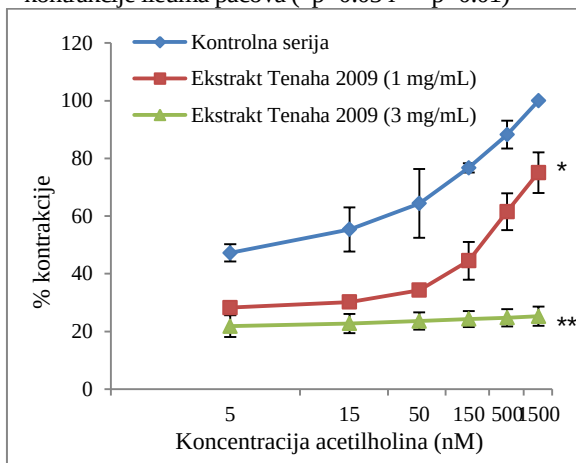
Sorta/Godina	2008.	2009.	2010.
Tenah	nM Ach	nM Ach	nM Ach
Kontrola	0.03±0.00	0.36±0.03	0.04±0.01
1mg/ml	1.33±0.27	3.19±0.22	1.17±0.04
3mg/ml	7.22±1.16	8.94±1.67	22.05±1.74
Ben Sarek	nM Ach	nM Ach	nM Ach
Kontrola	0.07±0.01	0.09±0.00	0.01±0.00
1mg/ml	0.98±0.08	4.16±1.7	22.96±2.14
3mg/ml	4.98±1.14	11.56±1.56	27.07±5.38
Triton	nM Ach	nM Ach	nM Ach
Kontrola	0.03±0.00	0.18±0.03	0.43±0.06
1mg/ml	1.13±0.15	1.13±0.37	0.51±0.07
3mg/ml	6.86±1.27	2.31±1.3	3.62±0.73
Ometa	nM Ach	nM Ach	nM Ach
Kontrola	0.1±0.00	0.01±0.00	0.15±0.05
1mg/ml	0.13±0.00	0.3±0.00	0.87±0.05
3mg/ml	3.29±0.76	3.8±0.30	7.64±3.01



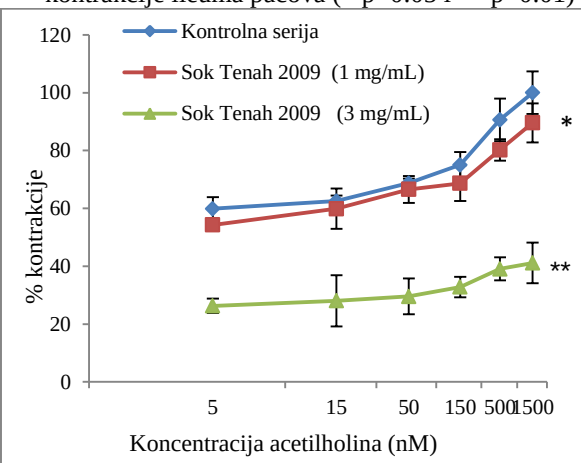
Slika 5.17. Inhibitorni uticaj vodenog ekstrakta *R. nigrum* sorte Tenah iz 2008. na acetilholinom indukovane kontrakcije ileuma pacova (* $p<0.05$ i ** $p<0.01$)



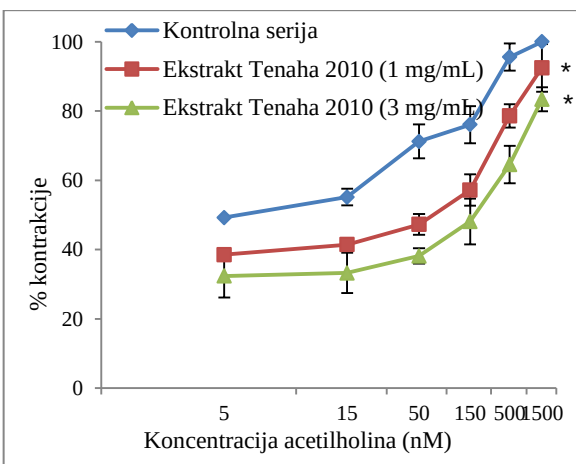
Slika 5.20. Inhibitorni uticaj soka *R. nigrum* sorte Tenah iz 2008. na acetilholinom indukovane kontrakcije ileuma pacova (* $p<0.05$ i ** $p<0.01$)



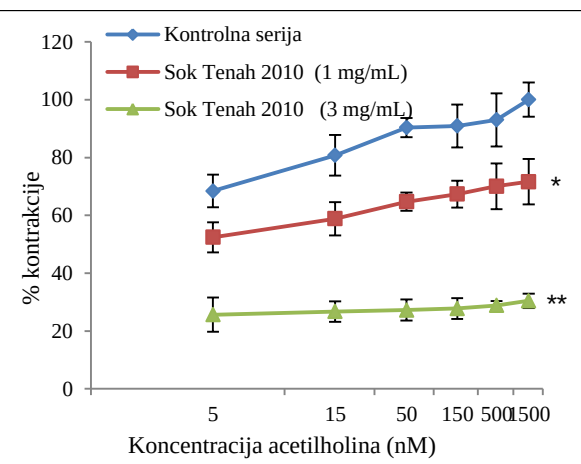
Slika 5.18. Inhibitorni uticaj vodenog ekstrakta *R. nigrum* sorte Tenah iz 2009. na acetilholinom indukovane kontrakcije ileuma pacova (* $p<0.05$ i ** $p<0.01$)



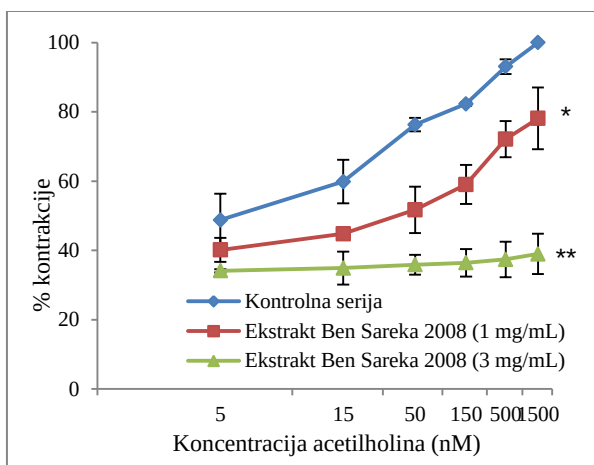
Slika 5.21. Inhibitorni uticaj soka *R. nigrum* sorte Tenah iz 2009. na acetilholinom indukovane kontrakcije ileuma pacova (* $p<0.05$ i ** $p<0.01$)



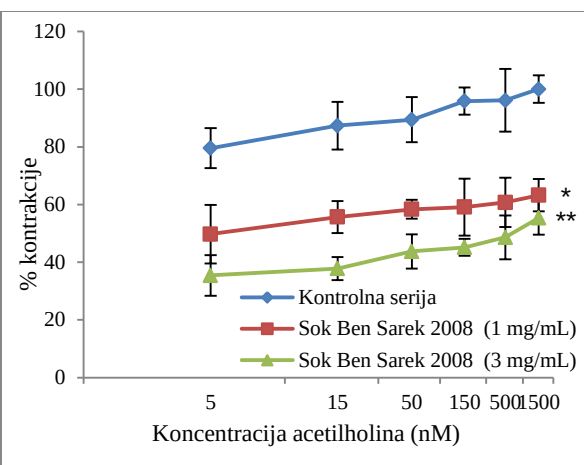
Slika 5.19. Inhibitorni uticaj vodenog ekstrakta *R. nigrum* sorte Tenah iz 2010. na acetilholinom indukovane kontrakcije ileuma pacova (* $p<0.05$)



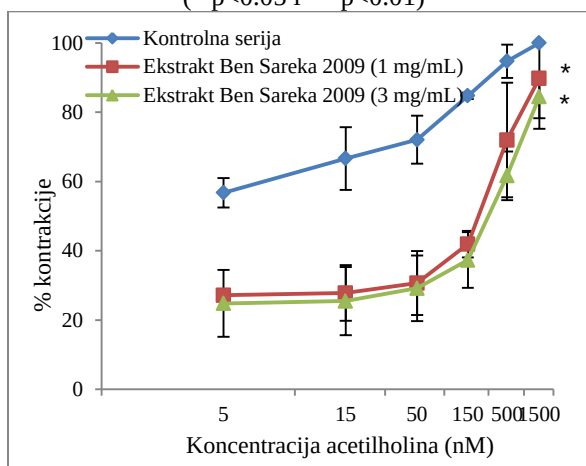
Slika 5.22. Inhibitorni uticaj soka *R. nigrum* sorte Tenah iz 2010. na acetilholinom indukovane kontrakcije ileuma pacova (* $p<0.05$ i ** $p<0.01$)



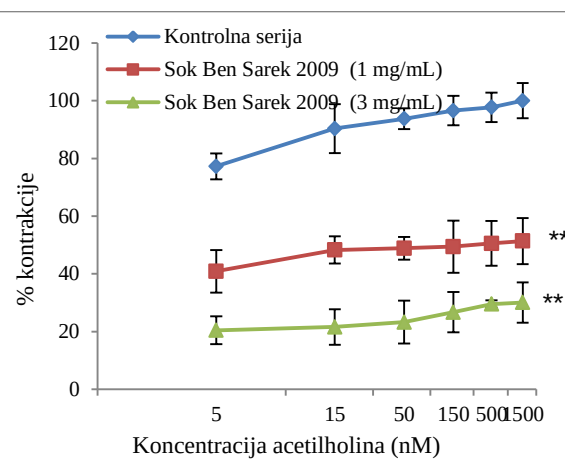
Slika 5.23. Inhibični uticaj vodenog ekstrakta *R. nigrum* sorte Ben Sarek iz 2008. na acetilholinom indukovane kontrakcije ileuma pacova (* $p<0.05$ i ** $p<0.01$)



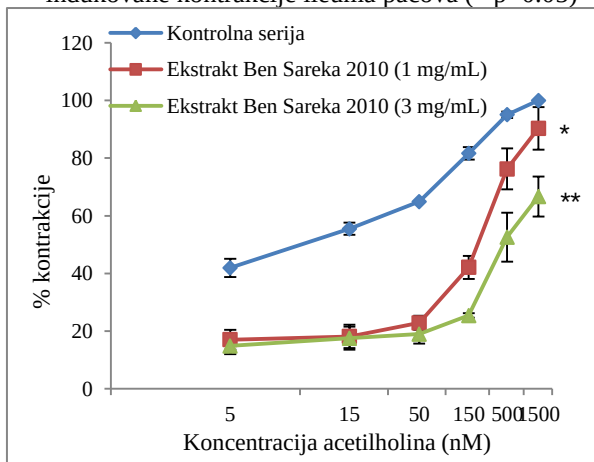
Slika 5.26. Inhibični uticaj soka *R. nigrum* sorte Ben Sarek iz 2008. na acetilholinom indukovane kontrakcije ileuma pacova (* $p<0.05$ i ** $p<0.01$)



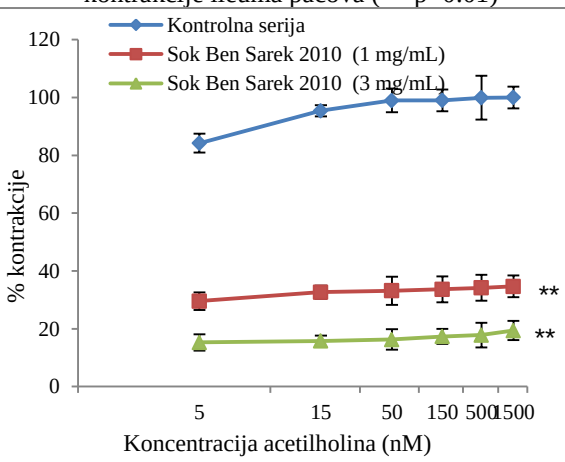
Slika 5.24. Inhibični uticaj vodenog ekstrakta *R. nigrum* sorte Ben Sarek iz 2009. na acetilholinom indukovane kontrakcije ileuma pacova (* $p<0.05$)



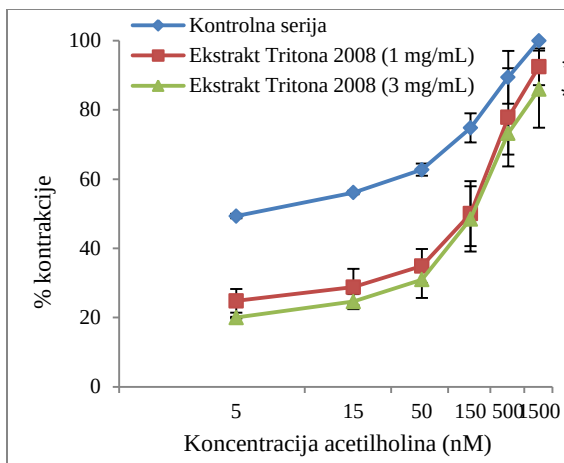
Slika 5.27. Inhibični uticaj soka *R. nigrum* sorte Ben Sarek iz 2009. na acetilholinom indukovane kontrakcije ileuma pacova (** $p<0.01$)



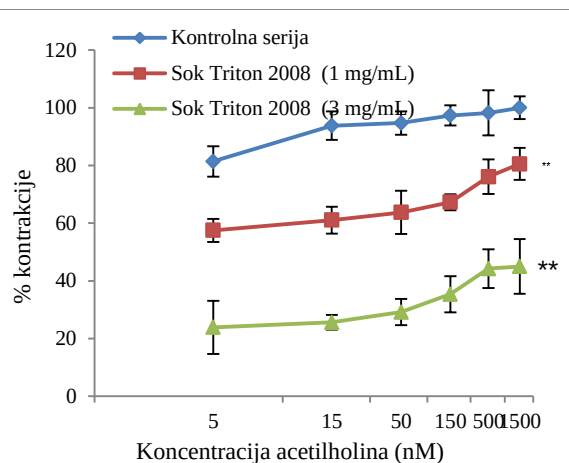
Slika 5.25. Inhibični uticaj vodenog ekstrakta *R. nigrum* sorte Ben Sarek iz 2010. na acetilholinom indukovane kontrakcije ileuma pacova (* $p<0.05$ i ** $p<0.01$)



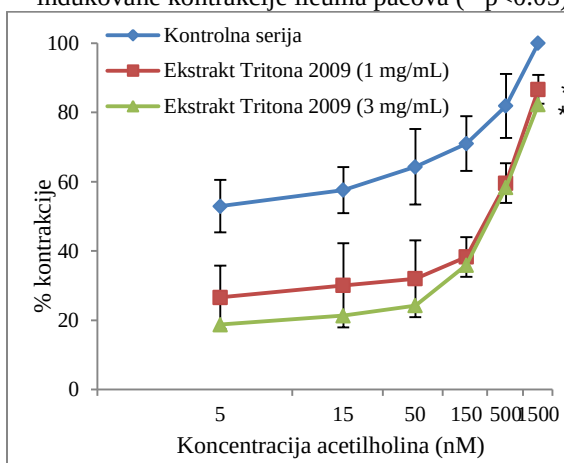
Slika 5.28. Inhibični uticaj soka *R. nigrum* sorte Ben Sarek iz 2010. na acetilholinom indukovane kontrakcije ileuma pacova (** $p<0.01$)



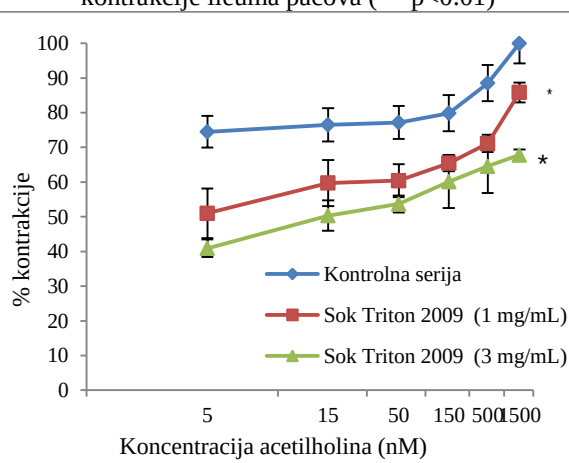
Slika 5.29. Inhibitorni uticaj vodenog ekstrakta *R. nigrum* sorte Triton iz 2008. na acetilholinom indukovane kontrakcije ileuma pacova (* $p < 0.05$)



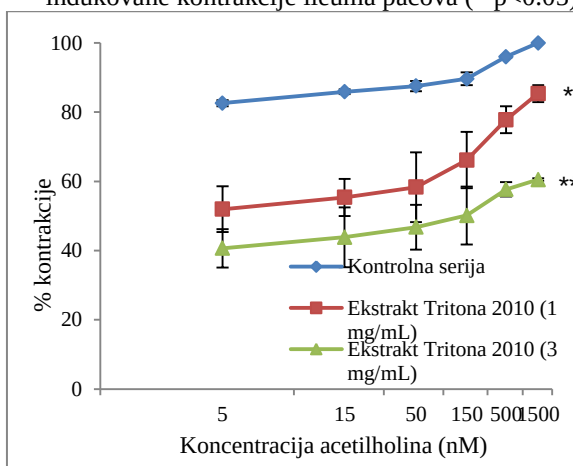
Slika 5.32. Inhibitorni uticaj soka *R. nigrum* sorte Triton iz 2008. na acetilholinom indukovane kontrakcije ileuma pacova (** $p < 0.01$)



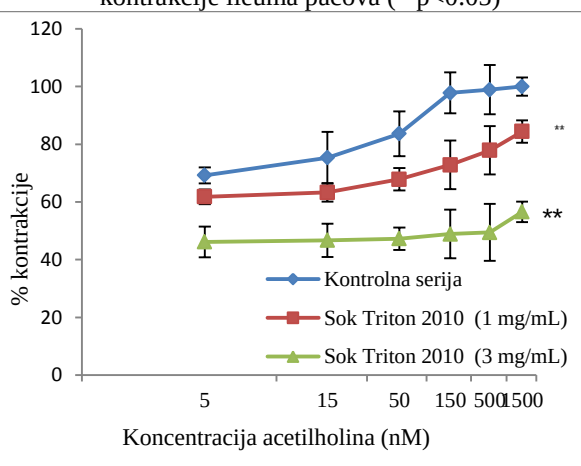
Slika 5.30. Inhibitorni uticaj vodenog ekstrakta *R. nigrum* sorte Triton iz 2009. na acetilholinom indukovane kontrakcije ileuma pacova (* $p < 0.05$)



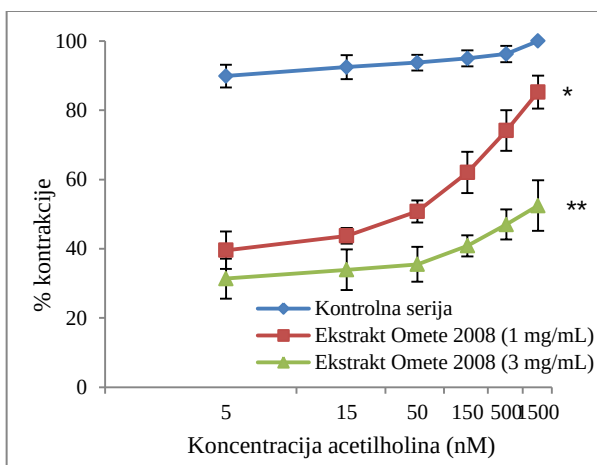
Slika 5.33. Inhibitorni uticaj soka *R. nigrum* sorte Triton iz 2009. na acetilholinom indukovane kontrakcije ileuma pacova (* $p < 0.05$)



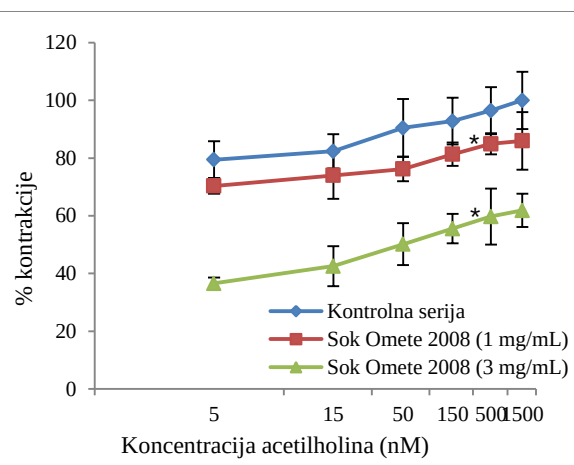
Slika 5.31. Inhibitorni uticaj vodenog ekstrakta *R. nigrum* sorte Triton iz 2010. na acetilholinom indukovane kontrakcije ileuma pacova (* $p < 0.05$ i ** $p < 0.01$)



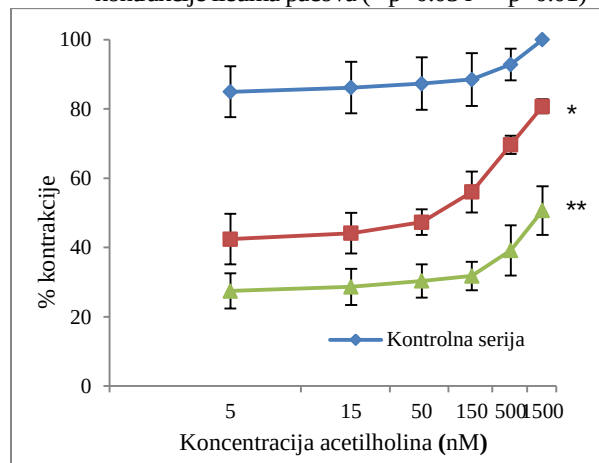
Slika 5.34. Inhibitorni uticaj soka *R. nigrum* sorte Triton iz 2010. na acetilholinom indukovane kontrakcije ileuma pacova (** $p < 0.01$)



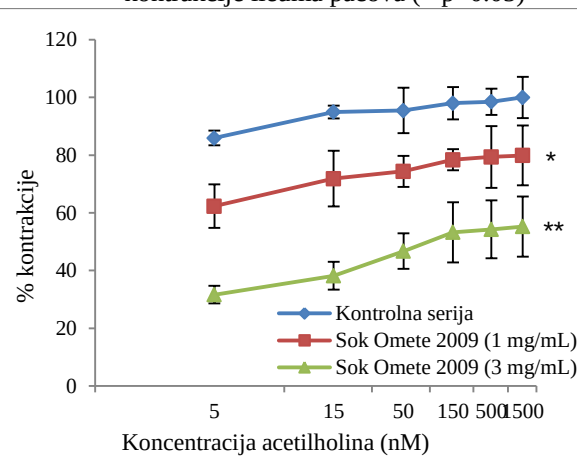
Slika 5.35. Inhibitorni uticaj vodenog ekstrakta *R. nigrum* sorte Ometa iz 2008. na acetilholinom indukovane kontrakcije ileuma pacova (* $p < 0.05$ i ** $p < 0.01$)



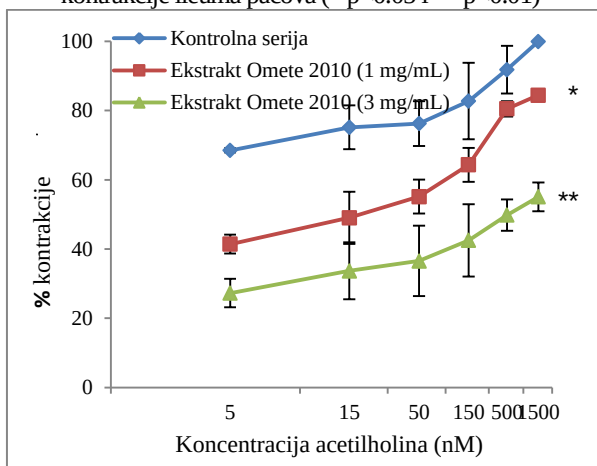
Slika 5.38. Inhibitorni uticaj soka *R. nigrum* sorte Ometa iz 2008. na acetilholinom indukovane kontrakcije ileuma pacova (* $p < 0.05$)



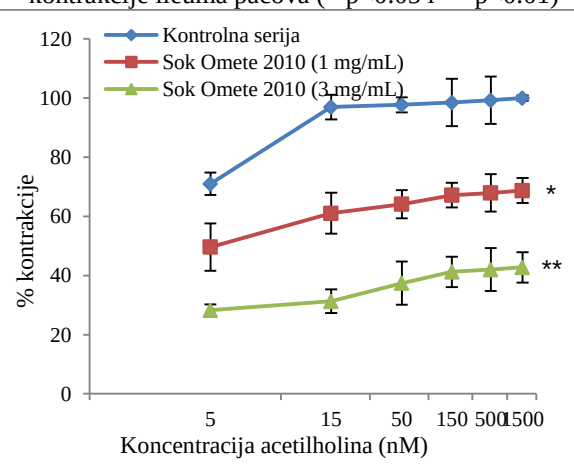
Slika 5.36. Inhibitorni uticaj vodenog ekstrakta *R. nigrum* sorte Ometa iz 2009. na acetilholinom indukovane kontrakcije ileuma pacova (* $p < 0.05$ i ** $p < 0.01$)



Slika 5.39. Inhibitorni uticaj soka *R. nigrum* sorte Ometa iz 2009. na acetilholinom indukovane kontrakcije ileuma pacova (* $p < 0.05$ i ** $p < 0.01$)



Slika 5.37. Inhibitorni uticaj vodenog ekstrakta *R. nigrum* sorte Ometa iz 2010. na acetilholinom indukovane kontrakcije ileuma pacova (* $p < 0.05$ i ** $p < 0.01$)



Slika 5.40. Inhibitorni uticaj soka *R. nigrum* sorte Ometa iz 2010. na acetilholinom indukovane kontrakcije ileuma pacova (* $p < 0.05$ i ** $p < 0.01$)

5.8. HIPOTENZIVNO DEJSTVO SOKOVA I EKSTRAKTA PLODOVA *Ribes nigrum* L. I REDUKCIJA FREKVENCije SRČANOG RADA KOD KUNIĆA

Intravenska primena sokova crnih ribizli Tenah, Ben Sarek, Ometa i Triton, dovela je do sniženja srednjeg arterijskog krvnog pritiska kod anesteziranih kunića. Najbolje se pokazao sok Ben Sareka iz 2010. godine (Slika 5.46), koji je u dozi od 166.5 mg/ml doveo do smanjenja krvnog pritiska od $40.52 \pm 2.95\%$ i frekvencije srčanog rada za $34.01 \pm 2.35\%$. Dobar efekat je pokazao i sok iste sorte iz 2009. godine (Slika 5.45), koji je snizio pritisak za $36.99 \pm 4.52\%$ i frekvenciju za $32.24 \pm 1.85\%$, kao i sok Tritona iz 2008. godine (Slika 5.47), koji je snizio srednji arterijski krvni pritisak za $35.12 \pm 1.54\%$ i frekvenciju za $28.68 \pm 1.32\%$. Dobar uticaj na sniženje krvnog pritiska ($33.48 \pm 3.32\%$) i frekvencije ($29.89 \pm 2.11\%$) je pokazao i sok sorte Ometa iz 2009. godine. Nakon pada, krvni pritisak se postepeno vraćao na bazalne vrednosti u periodu od 5 do 8 minuta. Delovanje sokova na srednji arterijski krvni pritisak i frekvencu srčanog rada anesteziranih kunića, prikazani su na slikama 5.41-5.52.

Teorijske efektivne doze sokova koje bi za 50% snizile arterijski krvni pritisak i frekvenciju srčanog rada anesteziranih kunića, date su u Tabeli 5.27. Procenti smanjenja krvnog pritiska i frekvencije srčanog rada izazvanih sokovima crne ribizle, sorti Tenah, Triton, Ometa i Ben Sarek, kod anesteziranih kunića, dati su u Tabeli 5.28.

Tabela 5.27. Vrednosti EC_{50} sokova *R. nigrum* sorti Tenah, Triton, Ometa i Ben Sarek koje izazivaju smanjenje krvnog pritiska (KP) i frekvencije (F) srčanog rada anesteziranih kunića, po godinama

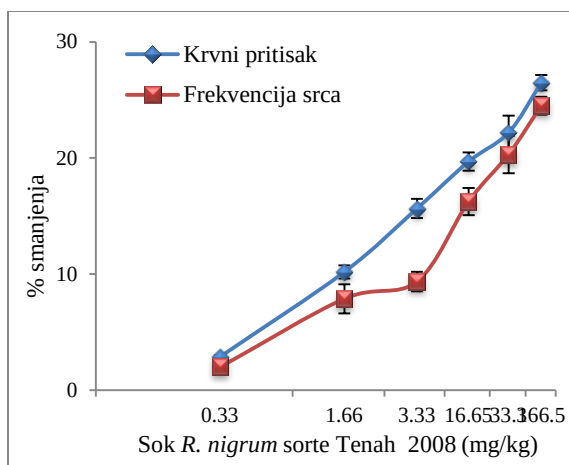
Godina\ Sorta	Tenah (mg/ml)		Ben Sarek (mg/ml)		Triton (mg/ml)		Ometa (mg/ml)	
	KP	F	KP	F	KP	F	KP	F
2008	10.99±1.70 ^a	11.67±1.44	14.33±2.77 ^a	17.51±2.34	8.71±1.7 ^a	10.04±1.56	11.4±3.31 ^a	12.06±1.59
2009	14.15±2.1 ^b	13.64±1.25	8.91±2.03 ^b	10.35±0.97	10.34±3.8 ^b	12.14±2.09	10.46±0.97 ^b	10.87±0.99
2010	9.18±2.75 ^c	8.71±1.04	8.06±1.56 ^b	8.93±0.65	9.9±1.42 ^c	10.96±1.88	10.32±1.88 ^b	11.49±1.53

a,b,c Različita slova označavaju značajnu razliku ($p<0.05$) u EC_{50} vrednostima između godina kod svake vrste posebno

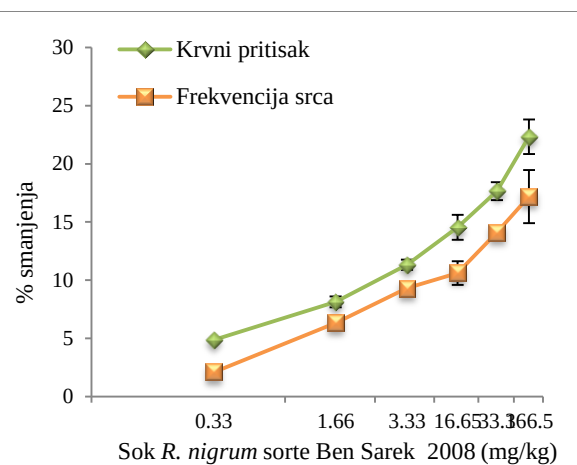
Tabela 5.28. Procenat smanjenja krvnog pritiska (KP) i frekvencije (F) srčanog rada koju izazivaju sokovi *R. nigrum* sorti Tenah, Triton, Ometa i Ben Sarek kod anesteziranih kunića, po godinama

Godina\ Sorta	Tenah (%)		Ben Sarek (%)		Triton (%)		Ometa (%)	
	KP	F	KP	F	KP	F	KP	F
2008.	26.48±0.66 ^a	24.51±0.75 ^a	22.33±1.49 ^a	17.18±2.29 ^a	35.12±1.54 ^a	28.68±1.32 ^a	29.42±1.72 ^a	24.26±1.15 ^a
2009.	24.54±0.94 ^a	20.91±1.52 ^a	36.99±4.52 ^a	32.24±1.85 ^b	30.52±3.05 ^a	29.47±2.39 ^a	33.48±3.32 ^a	29.89±2.11 ^a
2010.	36.04±2.23 ^b	33±1.25 ^b	40.52±2.95 ^a	34.01±2.35 ^b	33.33±5.66 ^a	27.12±2.88 ^a	30.79±0.23 ^a	27.27±3.75 ^a

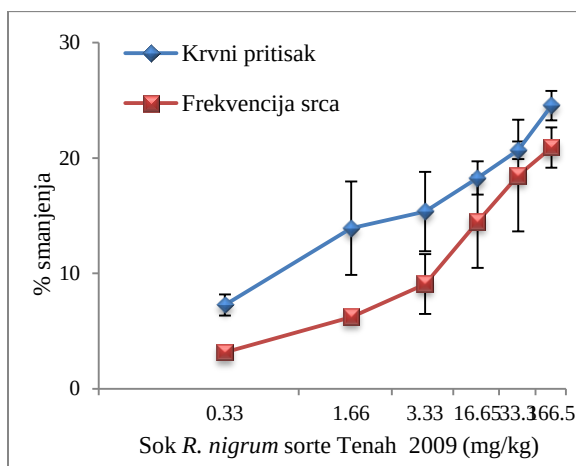
a,b,c Različita slova označavaju značajnu razliku ($p<0.05$) u % sniženja krvnog pritiska i frekvencije srčanog rada između godina kod svake vrste posebno



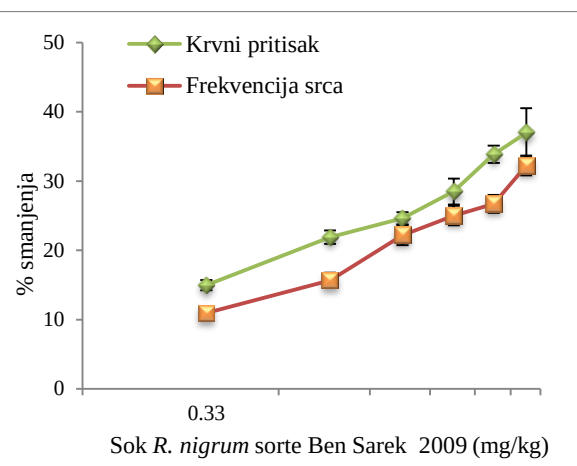
Slika 5.41. Inhibitorni uticaj soka *R. nigrum* sorte Tenah iz 2008. na arterijski krvni pritisak i frekvenciju srčanog rada



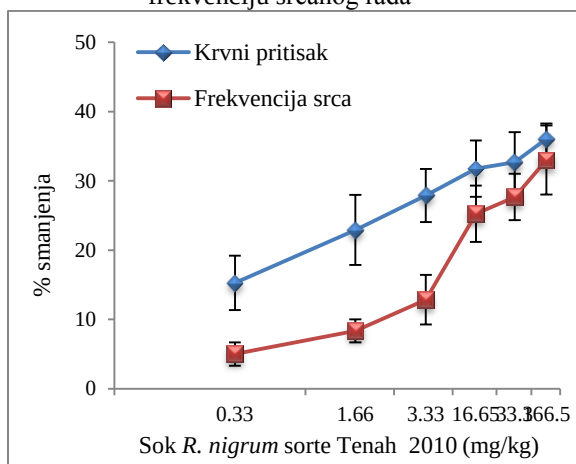
Slika 5.44. Inhibitorni uticaj soka *R. nigrum* sorte Ben Sarek iz 2008. na arterijski krvni pritisak i frekvenciju srčanog rada



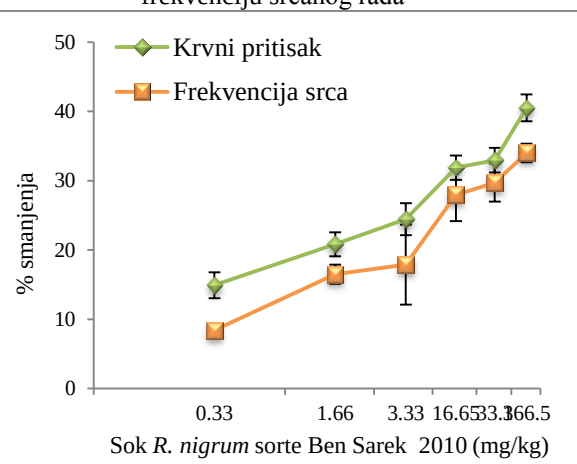
Slika 5.42. Inhibitorni uticaj soka *R. nigrum* sorte Tenah iz 2009. na arterijski krvni pritisak i frekvenciju srčanog rada



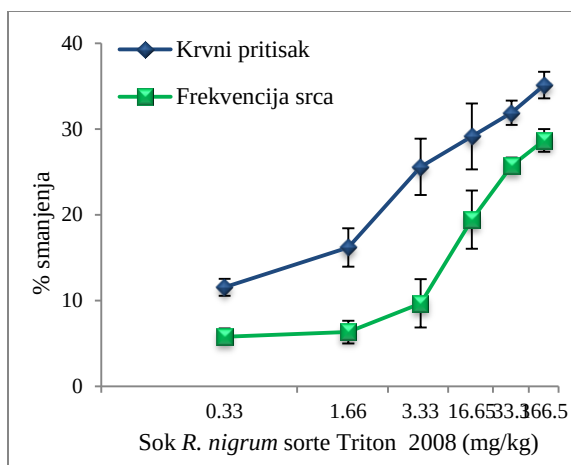
Slika 5.45. Inhibitorni uticaj soka *R. nigrum* sorte Ben Sarek iz 2009. na arterijski krvni pritisak i frekvenciju srčanog rada



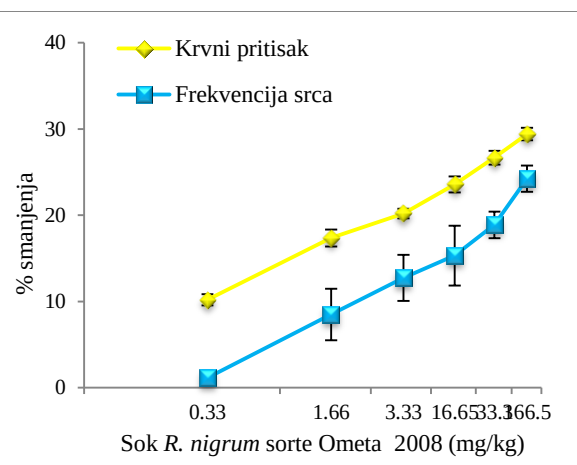
Slika 5.43. Inhibitorni uticaj soka *R. nigrum* sorte Tenah iz 2010. na arterijski krvni pritisak i frekvenciju srčanog rada



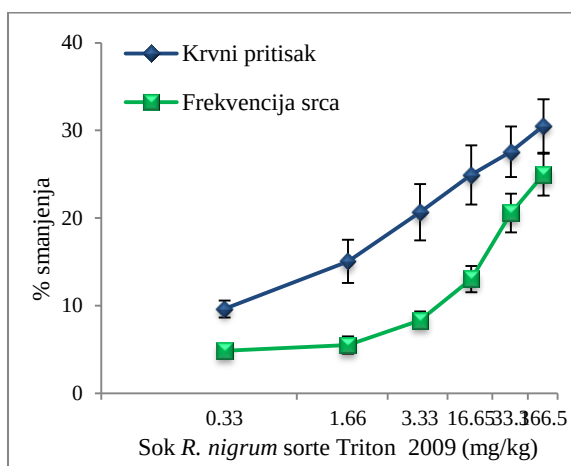
Slika 5.46. Inhibitorni uticaj soka *R. nigrum* sorte Ben Sarek iz 2010. na arterijski krvni pritisak i frekvenciju srčanog rada



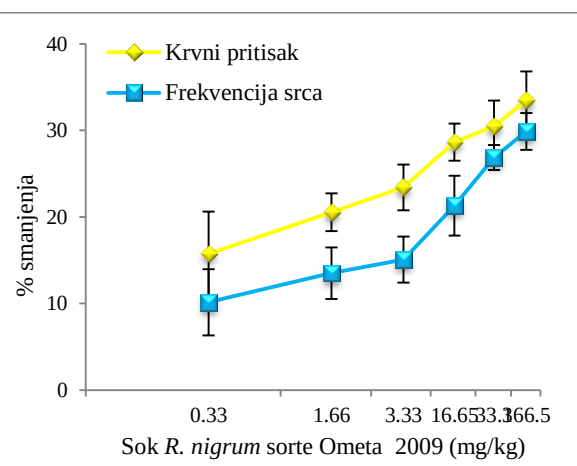
Slika 5.47. Inhibitorni uticaj soka *R. nigrum* sorte Triton iz 2008. na arterijski krvni pritisak i frekvenciju srčanog rada



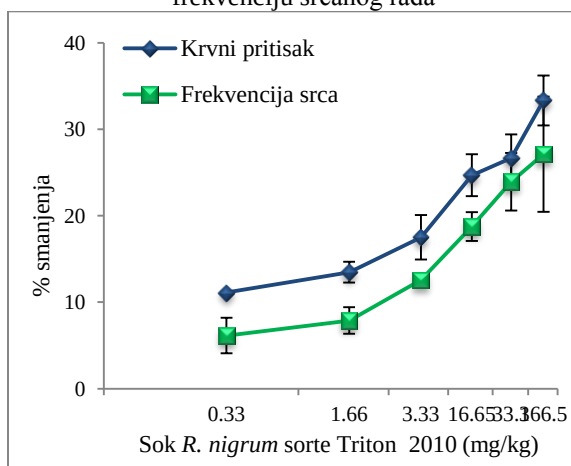
Slika 5.50. Inhibitorni uticaj soka *R. nigrum* sorte Ometa iz 2008. na arterijski krvni pritisak i frekvenciju srčanog rada



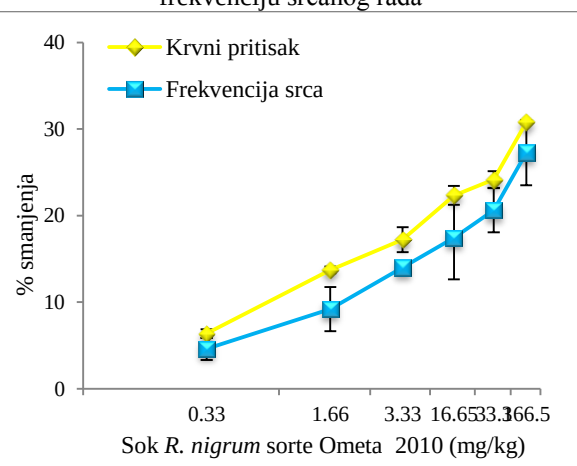
Slika 5.48. Inhibitorni uticaj soka *R. nigrum* sorte Triton iz 2009. na arterijski krvni pritisak i frekvenciju srčanog rada



Slika 5.51. Inhibitorni uticaj soka *R. nigrum* sorte Ometa iz 2009. na arterijski krvni pritisak i frekvenciju srčanog rada



Slika 5.49. Inhibitorni uticaj soka *R. nigrum* sorte Triton iz 2010. na arterijski krvni pritisak i frekvenciju srčanog rada



Slika 5.52. Inhibitorni uticaj soka *R. nigrum* sorte Ometa iz 2010. na arterijski krvni pritisak i frekvenciju srčanog rada

6. DISKUSIJA

6.1. VITAMIN C U SOKOVIMA I EKSTRAKTIMA PLODOVA *Ribes nigrum* L.

Prema National Nutrient Database for Standard Reference USDA, crne ribizle predstavljaju odličan izvor vitamina C. Preporučene dnevne potrebe za muškarce su 75 mg, dok su za žene 60 mg. Ukupni sadržaj vitamina C sorti ribizla Tenaha, Tritona i Ben Sareka prevazilazi dnevne potrebe za najmanje 100%, ako se uzme unos od 100g soka, dok je nedovoljan kod sokova Omete u sve tri godine.

Milivojević (2012) je sa saradnicima ispitivala sortu Triton sa istog lokaliteta u 2008. i 2009. godini, s tim da je vitamin C određivan direktno u plodovima i njegov sadržaj je iznosio 176.8 ± 1.9 i 138.6 ± 3.9 mg/100 g svežeg ploda, respektivno. Sadržaj vitamina C ispitivan je refraktometrijski kod ovih autora. Ukupna količina vitamin C nije određivana, te se rezultati ne mogu u potpunosti porediti. Količina vitamina C, kao i antocijana, bila je veća u uzorcima plodova u odnosu na sokove i ekstrakte, što je i očekivano, zbog velike količine ovih jedinjenja u omotaču ploda.

Mikulic-Petkovsek i saradnici (2013) su proučavali plod 23 različite sorte crnih ribizli, uzgajane na teritoriji Slovenije 2011. i 2012. godine. Među njima su bile sorte Tenah i Ometa. Rezultate su izražavali kao srednju vrednost za obe godine i bile su 236.5 i 204 mg/100 g, respektivno. Ove vrednosti su bile niže u poređenju sa metanolnim ekstraktima iz 2009. i 2010. godine i etanolnim ekstraktima Tenaha iz sve tri godine, kao i soka iz 2010. godine. Vrednosti vitamina C za sortu Ometa kod istih autora značajno je veća od naših vrednosti u sve tri godine. Kako je, prema literaturi, sadržaj vitamina C određen genotipom, kao i uslovima životne sredine, tako su razlike u količini vitamina C određivanom kod istih sorti sa različitih staništa bile i očekivane.

Kako ne postoji značajna razlika u temperaturi vazduha u periodu od 2008. do 2010. godine, zaključuje se da je najverovatnije uticaj padavina doprineo povećanju sadržaja TASK u 2010. godini, kada TASK ima najviše vrednosti. S druge strane, količina padavina u 2010. godini je bila iznad proseka (779 mm/m^2), ali opet manja nego u 2009 (854.6 mm/m^2).

Tiwari i saradnici (2008) su dokazali da ekstrakcija ultrazvukom smanjuje sadržaj antocijana i TASK za 3.2 i 11%, respektivno, a svi naši uzorci su pripremani za analizu rastvaranjem pomoću ultrazvuka na ultrazvučnom kupatilu. U sokovima je više od 50% ukupne količine vitamina C bilo u redukovanoj formi dok su ekstrakti pokazali malu razliku između oksidovanog i redukovanog oblika ASK. Ekstrakti su pokazali veću stabilnost u sadržaju ASK u odnosu na sokove.

Walker i saradnici (2010) su ispitivanjem sadržaja vitamina C u plodovima 4 vrste crnih ribizli ustanovili da sadržaj ovog vitamina zavisi od klimatskih faktora. Kako su ovi parametri i njihove interakcije veoma kompleksne za statističku analizu, pokazale su i relativno niske koeficijente korelacije između pojedinih parametara i nivoa vitamina C u uzorcima. Sunčevo zračenje je dalo najbolju pozitivnu korelaciju (>0.3) u odnosu na vitamin C u svim testiranim uzorcima u mesecima razvoja i sazrevanja ploda. Takođe, plodovi koji su rasli na južnoj strani su imali 20% vitamina C više, u odnosu na plodove koji su rasli na severnoj strani. Dokazano je da temperatura u kontrolisanim uslovima negativno korelira sa vitaminom C u plodovima crnih ribizli (Redlen, 1993). S druge strane, Walker je (2010) dobio nisku, ali pozitivnu korelaciju temperature i vitamina C u nekontrolisanim uslovima i objasnio to kao spregu svih uslova spoljašnje sredine. Takođe, plodovi crnih ribizli koji su rasli severno, na višim geografskim širinama, su imali manji sadržaj vitamina C u odnosu na one koje rastu južno, na nižim geografskim širinama (Zheng, 2009).

Vagiri (2013) je na osnovu dobijenih rezultata, a nakon statističke analize, utvrdio da je genotip glavni izvor varijacije sadržaja vitamina C, ali i ostalih ispitivanih jedinjenja. Vagiri je ispitivao pet sorti crnih ribizli gde je sorta Titanija imala najmanji sadržaj vitamina C od 148 mg/100 g svežeg ploda (FW-fresh weight), a sorta Ben Finley najveći (310 mg/100 g FW). Vagiri je, s druge strane, primetio da su njegovi uzorci dali drugačije rezultate u odnosu na analize Zhenga (2009), tj. da su crne ribizle gajene na severu bile bogatije u sadržaju vitamina C u odnosu na one gajene na jugu. Razliku u sadržaju vitamina C objasnio je različitim staništima (Zheng-Finska, Vagiri-Švedska), različitim klimatskim uslovima (temperatura je u mesecima berbe bila veća na severu nego na jugu, a to je dokazao i Walker (2010)), kvalitetom zemljišta, stepenom zrelosti ploda u trenutku berbe, ali i različitim genotipovima vrste.

6.2. ANTOCIJANI U SOKOVIMA I EKSTRAKTIMA PLODOVA *Ribes nigrum* L.

Delfinidin-3-O-rutinozid je dominantan antocijan kod sokova sorti Triton, Tenah i Ben Sarek u sve tri godine i kod Omete u 2008. godini. Ovi rezultati su u skladu sa istraživanjem Czyzowska (2004), koja je ispitivala vino i ostatak nakon ceđenja crne ribizle. Do istog “otiska” (fingerprint) je došla i Nour (2013) u etanolnim ekstraktima crnih ribizli, kao i Mikulic-Petkovsek (2012) u kultivisanim sortama crne ribizle. Bakowska-Barczak i Kolodziejczyk (2011) su proučavajući sortu Ben Sarek prikazali C3R kao najzastupljeniji antocijan u uzorcima plodova.

Sorta Ometa je pokazala malo drugačiji profil antocijana u soku u odnosu na druge ispitivane sorte, tako da je C3R bio najzastupljeniji antocijan u 2009. i 2010. godini, dok je u 2008. skoro iste količine kao i D3R. U ekstraktima Omete je dominantni antocijan D3R.

Glavna karakteristika 2008. godine je da je temperatura bila niža nego u 2009. i 2010. sa manje padavina u mesecima razvoja plodova, od maja do jula. Godinu 2009. karakteriše neobično velika količina padavina u junu i julu. Poznato je da se fenolna jedinjenja, kao što su flavonoidi i antocijani, sintetišu kao odgovor na uslove životne sredine (jaka svetlost, temperaturni ekstremi, manjak azota i fosfora, kao i bakterijske i gljivične infekcije (Hatier i Gould, 2009)). Ovi parametri drugačije deluju na različite vrste i sorte, a pored klime, njihov sadržaj se može menjati u zavisnosti od načina čuvanja i industrijskog procesuiranja. Ovo sve vodi do zaključka da uslovi životne sredine imaju veliki uticaj na svaku sortu i genotip što su potvrdili Mikulic-Petkovsek i saradnici (2010) i Šavikin i saradnici (2013). Šavikin i saradnici (2013) su ustanovili da se smanjivanjem sunčeve svetlosti, uz pomoć mreža, smanjila proizvodnja fenolnih jedinjenja. Antocijani se nisu ponašali na isti način. Sorte Ben Sarek i Ometa su, rastući u senci, imali veći sadržaj antocijana nego na direktnom sunčevom svetlu. Druge vrste, kao što je grožđe, preferiraju direktnu sunčevu svetlost, te senka dosta smanjuje količinu sinteze polifenola. Navedeni rezultati su dokazali važnost uticaja faktora životne sredine na proizvodnju antocijana.

Zheng (2012) je takođe naglasio važnost klimatskih uslova na količinu antocijana u biljkama, gde niska temperatura i velika količina sunčevog zračenja dovode do povećanog akumuliranja antocijana u većem broju biljaka. Ovaj autor je došao do zaključka da količina glikozida delfinidina raste kada su temperatura i zračenje povećani, dok glikozidi cijanidina nisu

pokazali takvu doslednu i jasnu promenu u svim ispitivanim sortama crne ribizle. Ovo ipak nije bilo uobičajeno jer je generalni stav da je sinteza antocijana indukovana svetlošću i inhibirana toplotom, što dovodi do zaključka da genetska razlika u biljkama (sortama) reguliše biosintezu antocijana u odnosu na temperaturu.

Nour (2013) je sa saradnicima proučavala etanolne ekstrakte (96, 60 i 40%) tri različite sorte crne ribizle (Record, Blackdown i Ronix) i ustanovila da je najbolja ekstrakcija antocijana postignuta pomoću 60% etanola, s tim daje kod dve sorte (Record i Blackdown) delfinidin-3-O-rutinozid bolje ekstrahovan 96% etanolom. Vrednosti ekstrahovanih dominantnih antocijana bile su veće od vrednosti etanolnih ekstrakta sorti Triton, Omete, Tenah i Ben Sarek. U našim uzorcima, najbolja ekstrakcija 96% etanolom se postizala kod sorti Ometa i Ben Sarek, dok su kod Tritona i Tenaha najbolji rezultati dobijeni 70% etanolom. Isti autori su naglasili da ekstrakcija antocijana iz uzoraka zavisi od brojnih faktora kao što su metoda ekstrakcije, odnosa uzorak-rastvarač (solvent to solid ratio), koncentracije rastvarača, temperature na kojoj se ekstrakcija izvodi, dužine trajanja ekstrakcije, kao i od mnogih drugih faktora. Nour je svoje uzorke potopila u rastvarač u trajanju od 3 nedelje, dok je naša ekstrakcija vršena u roku od 24h, pa se time može objasniti i razlika u rezultatima, kao i činjenicom da su njihovi uzorci bili druge sorte i sadržali omotač, koji sadrži veliku količinu antocijana.

6.3. FLAVONOIDI U SOKOVIMA I EKSTRAKTIMA PLODOVA *Ribes nigrum* L.

Prema Nacionalnoj bazi nutrijenata Amerike (USDA National Nutrient Database, USDA NND), evropska crna ribizla sadrži 6.2 mg miricetina, 4.4 mg kvercetina i 0.7mg kemferola na 100g svežeg ploda (Full Report 09083). Ovi podaci su u skladu sa našim rezultatima u pogledu zastupljenosti i prisustva flavonoida.

Tabart (2011) je proučavala listove, pupoljke i plodove crne ribizle i ekstrahovala je aktivne supstance acetonom kako bi ispitala prinos antioksidativnih jedinjenja. Najdominantniji flavonol u sva tri biljna organa bio je kvercetin. Sadržaj flavonola u uzorcima plodova bio je drastično niži u poređenju sa našim uzorcima. Ista autorka (2006) je naglasila da vrste uzorka, temperature, pH i drugih uslova kao što su stanište, sorta i vreme branja mogu uticati na sastav polifenolnih jedinjenja pored vrste rastvarača. Kako su ispitivane biljne vrste izložene različitim klimatskim uslovima, Nour (2014)

je zaključila da je teško odrediti koji od faktora životne sredine je glavni uzrok promena u sadržaju flavonoida (padavine, promene dnevne temperature ili intenzitet i trajanje sunčeve svetlosti).

Naši rezultati su u skladu sa istraživanjem Del Rio i saradnika (2010), kod kojih je miricetin najzastupljeniji flavonol u crnim ribizlama u koncentraciji od 89 do 203 mg/kg - što čini naše sorte u proseku bogatim miricetinom, čak i kad se porede sa standardnim sadržajem USDA NND.

Zheng (2012) je proučavao i sadržaj flavonoida i antocijana tri sorte crnih ribizli, koje su uzgajane na severu i jugu Finske u periodu od 6 godina. Utvrdio je da su ribizle koje rastu u južnim delovima zemlje bogatije u sadržaju heterozida flavonola, sa kvercetin-3-O-glukozidom kao najdominantnijim flavonolom u sve tri sorte. Ove razlike, u odnosu na naše sorte, mogu biti posledica nestabilnosti ovog flavonola i osetljivosti metode na prisustvo drugih jedinjenja (Justesen i sar, 1998). Takođe, variranje u sadržaju flavonola se javlja tokom sazrevanja plodova. Flavonoli su određivani iz ploda ribizli, ekstrakcijom etil-acetatom, a vrednosti miricetina i kvercetina su bile značajno niže u poređenju sa ispitivanim sortama Tenaha, Tritona, Ben Sareka i Omete u svim vrstama ekstrakta i sokova. Zheng je statističkom analizom ustanovio da su temperatura i zračenje glavni klimatski faktori koji utiču na sastav fenolnih jedinjenja, mada je i on naglasio da je bilo teško jasno razlikovati uticaj temperature od zračenja na sastav ribizli. Sadržaji D3G, D3R i miricetin-3-O-glukozida su pokazali pozitivnu korelaciju sa temperaturom i zračenjem u sve tri sorte.

Mikkonen (2001) je ispitivala sadržaj flavonola u crnim ribizlama gajenim konvecionalnim i organskim putem. Miricetin je opet bio najzastupljeniji flavonol, što je u skladu sa rezultatima našeg istraživanja. Vrednosti miricetina su od 8.9 do 24.5 mg/100 g svežeg ploda i one su u skladu, ili su niže, u poređenju sa sadržajem sokova i ekstrakta ispitivanih sorti Tenaha, Tritona Ben Sareka i Omete. Mikkonen je u svom radu ispitivala i sortu Triton, koja je imala najveći sadržaj miricetina (24.5 mg/100 g svežeg ploda), sa približno istom količinom kvercetina. U našim uzorcima sokova, sorta Triton imala značajno veći sadržaj miricetina u 2008. godini u poredjenju sa drugim sortama crne ribizle, kao i jedan od najvećih sadržaja miricetina u svim etanolnim ekstraktima, ali su sadržaji kvercetina, bili veoma niski, i bliži vrednostima kemferola.

Laaksonen (2013) je ispitivao sadržaj sokova pet sorti crnih ribizli dobijenih pomoću dva različita načina prerade (enzimski i ne-enzimski) i došao do zaključka da je miricetin dominantan

flavonol, što odgovara i našim rezultatima, s tim da su vrednosti sva tri flavonola značajno niže u poređenju sa ispitivanim sokovima Tritona, Tenaha, Omete i Ben Sareka u sve tri godine.

6.4. ANTIOKSIDATIVNA AKTIVNOST SOKOVA I EKSTRAKTA PLODOVA *Ribes nigrum* L.

Sokovi i ekstrakti sve 4 sorte pokazale su statistički značajne razlike u sposobnosti hvatanja slobodnih radikala i inhibicije lipidne peroksidacije tokom sve tri godine, bilo da se radilo o DPPH-metodi ili β -karotenu. Razlike su bile očekivane zbog varijacija u sadržaju sekundarnih metabolita, a naročito antocijana tokom godina.

Ekstrakti su pokazali slabiju sposobnost hvatanja slobodnih radikala u odnosu na sokove. Ovo nije bilo očekivano jer su ekstrakti koncentratii aktivnih jedinjenja, čak u nekim metanolnim ekstraktima nisu detektovane sve frakcije antocijana. U našem slučaju, rastvarač je taj od koga zavisi da li će se i u kojoj količini ekstrahovati aktivno jedinjenje. Na stepen ekstrakcije aktivnih principa utiču i način ekstrakcije, temperatura. U radu su svi ekstrakti pripremani na istovetan način. Ovo može biti uzrok slabije AO i antimikrobne aktivnosti, bez obzira što je sadržaj vitamin C bio veći u ekstraktima.

Sok sorte Tenah iz 2009. godine imao je najslabiju vrednost antioksidativne aktivnosti u sistemu β -karoten-linolna kiselina u odnosu na sve ostale godine i sorte (1.02 ± 0.00 mg/ml). Ova vrednost je u skladu sa ostalim parametrima ispitivanih u ovoj godini i za ovu sortu i ukazuje da sva jedinjenja koja se nalaze u jednoj biljci, imaju kompleksan uticaj na antioksidativnu aktivnost. Sokovi koji su imali visoku korelaciju IC_{50} i sa antocijanima i sa vitaminom C, pokazali su najbolju antioksidativnu aktivnost.

Veliki problem u poređenju rezultata autora predstavlja, ne samo modifikacija metode, već i različito izražavanje rezultata. Tabart (2012) je ispitivala AO aktivnost plodova crnih ribizla DPPH metodom, ali je rezultate izrazila u Trolox ekvivalentu (25.0 ± 4.1 TE), dok je Nour (2012) vrednosti AO aktivnosti etanolnih ekstrakta crnih ribizli istom metodom izrazila u ekvivalentima askorbinske kiseline, a Jia (2012b) u procentima.

Jia (2012b) je, proučavajući antioksidativnu sposobnost etanolnih ekstrakta (50% etanol, 35°C, 2h mešanja), putem nekoliko metoda, pokazao da koncentracija ekstrakta od 75 i 100 mg/ml pokazuje 96% uspešnosti u hvatanju DPPH-radikala. Autor je pokazao da etanolni

ekstrakti crne ribizle doniraju elektrone slobodnim radikalima i prevodu ih u stabilne molekule. Glavnim faktorom dobrog delovanja ovog ekstrakta smatra se velika količina fenolnih jedinjenja, što su potvrdili i Borges i saradnici (2010).

Lipidna oksidacija predstavlja jedan od glavnih uzroka pogoršanja kvaliteta mesa i mesnih proizvoda, jer dovodi do gubitka boje i ukusa mesa, pogoršanja teksture mesa i gubitka nutrijenata, što utiče na prihvatljivost kod potrošača (Min i Ahn, 2005). Zato je Jia (2012a) ispitivala dejstvo ekstrakta crnih ribizli dobijenih primenom različitih koncentracija etanola (0, 20, 40, 60, 80 i 100%) 2h, na 35°C, i ustanovila da se najbolja antiradikalna aktivnost postiže sa 40 i 60% etanolom (skoro 90% inhibicije DPPH-radikala) iako nije postojala statistički značajna razlika u sadržaju antocijana ekstrahovanih 20-100% etanolom. Zato je u daljem eksperimentu korišćen ekstrakt dobijen ekstrakcijom 40% etanolom. Lipidnom oksidacijom, koja je procenjena TBARS (reaktivne supstance tiobarbituratne kiseline) metodom na svinjskom mlevenom mesu, je ustanovljeno da su ekstrakti u koncentraciji od 5, 10 i 20 g/kg smanjili lipidnu oksidaciju za 74.9, 90.6 i 91.7%, respektivno, u poređenju sa kontrolom u periodu od 9 dana skladištenja. Koncentracije od 10 i 20 g/kg su dobile vrednosti koje su bile slične dejstvu BHA (0.2 g/kg), koji se koristi kao komercijalni sintetski antioksidans. Autorka je zaključila da su ekstrakti crnih ribizli dobri izvori prirodnih antioksidanasa i da se mogu koristiti kao zamena za BHA u zaštiti mesa od lipidne oksidacije. Naši uzorci su pokazali relativno dobru aktivnost zaštite od lipidne peroksidacije pomoću β -karoten/linolna kiselina sistema, s tim da ne može za svaku sortu izvesti zaključak da se bolja antioksidativna aktivnost dobija sa procentualnom količinom etanola, kao u radu Jia (2012b) i Cacaca i Mazza (2003). Naročito postoje razlike između godina, kao i samih sorti. Od naših uzoraka, se kao najbolji u zaštiti od lipidne peroksidacije, pokazao Tenah iz 2008. koji je u 70% etanolnom ekstraktu ostvario IC_{50} od 0.02 ± 0.004 mg/ml, s tim da su i metanolne frakcije istog uzorka imale iste vrednosti. Etanolni ekstrakti sorte Ben Sarek pokazali su dobru zaštitu od lipidne peroksidacije u istoj godini, dok je Ometa bolje vrednosti pokazala u 2009. i 2010. godini. Sorta Triton je imala najslabije vrednosti u sve tri godine. Sokovi su imali slabije vrednosti u poređenju sa ekstraktima iz istih godina, ali je to bilo i očekivano, s obzirom na njihovu hidrofilnost.

6.5. ANTIMIKROBNA AKTIVNOST SOKOVA I EKSTRAKTA PLODOVA

Ribes nigrum L.

Najveći broj publikovanih studija proučavao je antimikrobnu aktivnost ekstrakta ribizli, tako da su rezultati o dejstvu sokova crne ribizle limitirani.

Podaci o antimikrobnim i antifungalnim aktivnostima crnih ribizli su različiti. Krisch i saradnici (2008) su ispitivali inhibiciju rasta Gram (+) i Gram (-) bakterija dejstvom 21 soka različitog voća i pronašli da je sok crne ribizle pokazao najbolju inhibiciju na Gram (+) soj *B. cereus* i Gram (-) soj *E. coli*, sprečavajući rast navedenih bakterija.

Nohynek (2006) je ukazala na visoku antimikrobnu aktivnost ekstrakta crne ribizle na sojeve *B. cereus*, *H. pylori* (izazvao smrt kulture) i *S. aureus*. Ipak, nije bilo inhibitornog dejstva na *C. albicans*. Isti autor je istakao da antimikrobni efekti ekstrakta jagodičastog voća zavise od bakterijskog soja i testiranog uzorka, kao i metode koja se koristi. Suprotno ovim rezultatima, naše sorte su pokazale ne samo inhibitorne efekte, već kompletnu smrt i bakterijskih i fungalnih sojeva.

Werlein (2005) je dokazao da antocijani ne utiču značajno na rast bakterijskih sojeva i da antimikrobni efekat može poticati od drugih jedinjenja prisutnih u uzorcima.

Struktura, sastav i funkcije ćelijskog zida razlikuju Gram (+) od Gram (-) bakterija. Ćelijski zid Gram (-) bakterija je mnogo kompleksniji od Gram (+) i strukturno i hemijski. Prema istraživanjima Puupponen-Pimiä (2001) ekstrakti jagodastog voća su inhibirali rast Gram (-), a nisu imali uticaja na Gram (+) bakterije. Isti autor je pokazao da ekstrakt crne ribizle, pored 8 drugih analiziranih ekstrakta, nije inhibirao rast nijedne probiotske bakterije (Gram (+) bakterije) prisutne u ljudskim crevima, čak ni u većim koncentracijama, dok su drugi ekstrakti inhibirali njihov rast. Koncentracije MIC/MBC sokova analiziranih u našem istraživanju su bile skoro iste za Gram (+) i Gram (-) bakterije.

6.6. SPAZMOLITIČKA AKTIVNOST SOKOVA I EKSTRAKTA PLODOVA

Ribes nigrum L.

Pregledom literature, utvrđeno je da ne postoje literaturni podaci o dejstvu sokova i ekstrakta crnih ribizli na muskulaturu tankog creva. Kako je poznato da flavonoidi, kojima su

bogate crne ribizle, deluju spazmolitički na kontraktilnost ileuma, očekivano je bilo da će ispitivani uzorci pokazati ovaj efekat.

Kontraktilnost glatke muskulature uzrokovana je depolarizacijom membrane glatkih mišića visokim koncentracijama K^+ - jona, koja otvara voltažno zavisne Ca^{2+} - kanale, pa ekstracelularni Ca^{2+} ulazi u ćeliju i izaziva kontrakciju glatkih mišića (Godfrain i sar, 1986; Rang i sar, 2005). Kako su ekstrakti i sokovi crnih ribizli izazivali inhibiciju kontrakcija izazvanih K^+ , možemo zaključiti da je spazmolitičko dejstvo nastupilo blokadom Ca^{2+} - kanala. Na ovaj način dolazi do smanjenja Ca^{2+} i relaksacije mišića creva. Navedeni mehanizam predstavlja najčešći način delovanja biljnih ekstrakta (Gilani i sar, 2006; Brankovic i sar, 2009).

Acetilholin je neurotransmiter, koji se oslabđa stimulacijom parasimpatičkog nervnog sistema i ima značajnu fiziološku ulogu u regulisanju radu creva. Ach preko muskarinskih receptora dovodi do kontrakcija tankog creva pacova, preko dva mehanizma. Prvi mehanizam deluje aktiviranjem neselektivnih katjonskih kanala u ćelijskoj membrani, što dovodi do depolarizacije membrane, otvaranja voltažno - zavisnih Ca^{2+} - kanala i ulaska Ca^{2+} u ćeliju. Drugi mehanizam deluje oslobađanjem intracelularnog kalcijuma (Guata i sar, 2004).

Spazmolitički efekat ekstrakata može nastati kao posledica prisustva fenolnih jedinjenja. Flavonoidi i antocijani su najbrojnije grupe fenolnih jedinjenja. Poznato je da kvercetin *in vitro* izaziva relaksaciju tankog creva, kontrahovanog primenom KCl (Lozoya i sar, 1994). Ova jedinjenja su antagonisti kalcijuma i ispoljavaju antiholinergičku aktivnost (Revuelta i sar, 1997; Gilani i sar, 2006).

Na osnovu dobijenih rezultata, spazmolitička aktivnost vodenih ekstrakta crnih ribizli koje su ispitivane, može se povezati sa prisustvom flavonoida, kao i drugih fenolnih jedinjenja. Naime, najbolju inhibiciju spontanij kontrakcija ileuma pokazala je sorta Ometa iz 2009, koja u ekstraktu nije sadržala značajno veliku količinu flavonoida. Međutim, statistička analiza je ukazala, da za razliku od većeg broja ekstrakta, vodeni ekstrakt Omete iz 2010. godine pokazuje statistički značajnu pozitivnu korelaciju EC_{50} vrednosti i količine svih frakcija antocijana, ukupnih polifenola, ukupnih tanina i negativnu korelaciju kemferola i kvercetina sa statističkom značajnošću od 0.05, dok vodeni ekstrakt Omete iz 2009. godine, koji ima sledeću vrednost efektivne koncentracije inhibicije kontrakcija ileuma, pokazuje negativnu korelaciju sa ukupnim antocijanima i svim određenim flavonolima za isti nivo značajnosti. Na osnovu ovoga, smatramo

da možda postoji sinergističko dejstvo fenolnih jedinjenja, koje dovodi do značajnih bioloških efekata, u ovom slučaju do smanjenja tonusa kontrakcija muskulature tankog creva pacova.

Pored spontanijih, jako efikasnu relaksaciju muskulature ileuma, vodeni ekstrakt Omete je pokazao i u prisutvu acetilholina kao agonista holinergičkih receptora, sa EC_{50} od 5.79 ± 1.5 nM u 2008, 7.1 ± 1.4 nM u 2009. i 5.16 ± 0.83 nM u 2010. godini. Veoma dobro dejstvo na kontrakcije izazvane acetilholinom pokazali su i vodeni ekstrakti sorte Ben Sarek u 2008 (16.1 ± 1.29 nM) i 2010. godini ($5.4. \pm 0.7$ nM), ali i njihovi sokovi. Dobar efekat pokazala je i sorta Tenah iz 2009. godine sa EC_{50} od 29.12 ± 7.5 nM. Na osnovu ovoga možemo zaključiti da se sorta Ometa, bez obzira na spoljašnje uslove, od kojih zavisi produkcija fenolnih jedinjenja, ispoljava dobro relaksantno dejstvo na glatku muskulaturu i da bi se mogla koristiti u tretmanu gastrointestinalnih poremećaja.

6.7. HIPOTENZIVNO DELOVANJE I REDUKCIJA FREKVENCIJE SRČANOG RADA SOKOVA I EKSTRAKTA PLODOVA *Ribes nigrum* L.

Postoji veliki broj literaturnih podataka o dejstvu aktivnih jedinjenja crnih ribizli na kardiovaskularni sistem, ali uniformnost metoda i aplikacije ne postoji.

Sokovi sve četiri ispitivane sorte crne ribizle su pokazala kardio - inhibitorne efekte, tj. doveli su do dozno - zavisnog sniženja srednjeg arterijskog krvnog pritiska i frekvencije srčanog rada kod anesteziranih kunića. Ovi efekti su bili kratkotrajni i trajali su od 5 do 8 minuta, s tim da su veće koncentracije soka izazivale dugotrajnije hipotenzivne efekte. Fitohemijsko ispitivanje ovih biljnih sorti pokazala su da su oni bogati u sadržaju antocijana (D3R, D3G, C3R i C3G) i flavonoida (miricetina, kvercetina i kemferola). Statistička analiza efektivne koncentracije soka koji izaziva 50% sniženja krvnog pritiska je pokazala značajnu korelaciju sa količinom bioaktivnih jedinjenja u svim uzorcima.

Kod sorte Ben Sarek ustanovljen je visok stepen korelacije ($r = -0.99$) između EC_{50} vrednosti krvnog pritiska i ukupnih antocijana, $r = -0.965$ za D3G i $r = -0.988$ za C3G. Visoke vrednosti korelacije ustanovljene su između procenta sniženja krvnog pritiska i procenta frekvencije srčanog rada sa istim bioaktivnim jedinjenjima. Statistička analiza varijanse je pokazala da nema statistički značajne razlike između procenta sniženja krvnog pritiska kunića po godinama u ovoj sorti, dok su se EC_{50} vrednosti krvnog pritiska razlikovale u 2008. godini.

Naime, sok Ben Sareka iz 2008. godine, je imao najmanju količinu antocijana, pa se to odrazilo i na biološko dejstvo ovog soka, što se videlo kroz dobijene rezultate.

Za razliku od soka sorte Ben Sarek, sok sorte Ometa je pokazao visok stepen korelacije EC_{50} vrednosti krvnog pritiska sa ukupnim polifenolima ($r = 0.985$), taninima ($r = 0.997$) i svim identifikovanim flavonoidima ($r_{\text{miricetin}} = 0.997$, $r_{\text{kvercetin}} = 0.995$ i $r_{\text{kemferol}} = 0.988$). Procenti sniženja krvnog pritiska i frekvencije srčanog rada nisu pokazali visoke stepene korelacije sa sadržajem bioaktivnih jedinjenja. Kod sokova sorte Ometa, kao i kod sorte Ben Sarek, postoji statistički značajna razlika u vrednosti EC_{50} krvnog pritiska između 2008. i druge dve godine, dok kod sniženja krvnog pritiska i frekvencije srčanog rada ne postoji razlika između godina.

Kod soka sorte Tenah je primećena statistički značajna razlika u EC_{50} vrednostima krvnog pritiska i frekvencije po godinama, dok je statistički značajna razlika u procentu sniženju krvnog pritiska i frekvencije primećena samo u 2010. godini. Za razliku od 2008. i 2009. godine, ovu godinu je karakterisao veći sadržaj ukupnih polifenola i tanina. Na ovaj način se može objasniti i visok stepen korelacije između EC_{50} vrednosti krvnog pritiska ove sorte i količine ukupnih polifenola ($r = -0.881$) i tanina ($r = -0.857$).

Sok sorte Triton je pokazao visok stepen korelacije EC_{50} vrednosti krvnog pritiska sa dominantnim flavonolima ($r_{\text{miricetin}} = -0.891$, $r_{\text{kvercetin}} = -0.846$ i $r_{\text{kemferol}} = -0.949$). Kao i kod soka sorte Tenah, postoji statistički značajna razlika EC_{50} krvnog pritiska između godina, dok nema značajne razlike u procentu sniženja krvnog pritiska i frekvencije srčanog rada.

7. ZAKLJUČAK

Ispitivanja na sokovima i ekstraktima plodova sorti crnih ribizli (*Ribes nigrum* L.) Ben Sarek, Ometa, Triton i Tenah su pokazala da se svaka sorta razlikuje od ostalih po hemijskom sastavu i biološkim aktivnostima koje ispoljava. Na osnovu prikazanih rezultata, mogu se izvesti sledeći zaključci:

1. Najveću količinu vitamina C imao je sok sorte Tenah iz 2010. godine (211.64 ± 17.7 mg/100g). Najbolja ekstrakcija vitamina C postignuta je etanolom (etanolni ekstrakt), a najbogatiji u sadržaju vitamina C bio je etanolni ekstrakt sorte Tenah iz 2010. godine (771.48 ± 29.36 mg/100g).
2. Najmanja količina vitamina C kod svih sorti je bila u 2009. godini, koju je karakterisala izrazito velika količina padavina (854.6 mm/godini), i velika varijacija u padavinama u mesecima kada se plod razvijao (od 5.1 u aprilu, 40.6 u maju, 119.5 u junu i 137.3 mm/m² u julu).
3. Ekstrakti svih sorti su ispoljili bolju stabilnost vitamina C (mala razlika između oksidovanog i redukovanog oblika) u poređenju sa sokovima, kod kojih je ta razlika bila oko 50%.
4. Sok Ometa iz 2009. godine imao je najveću količinu antocijana, kao i sok i metanolni ekstrakti sorte Triton iz 2008. godine, što ukazuje da sorti Ometa za produkciju antocijana odgovaraju vremenski uslovi sa većom količinom padavina, dok sorti Triton odgovaraju umerene padavine i temperature.
5. U svim uzorcima su detektovani flavonoli miricetin, kvercetin i kemferol. Dominantan flavonol je miricetin, a u 2008. godini je njegova količina bila najveća. Ovu godinu karakterišu nešto veće temperature u maju i junu, mesecima razvoja i sazrevanja plodova, u odnosu na druge dve godine.
6. Postoji statistički značajna razlika u sadržaju miricetina, kvercetina i kemferola istih uzoraka između godina. Veća količina flavonola ekstrahovana je etanolnim rastvaračima, u poređenju sa metanolnim.
7. Sokovi sorte Ometa iz 2008. i 2009. godine, kao i sorte Tenah iz 2009. godine ispoljili su najbolju antioksidativnu aktivnost mehanizmom hvatanja slobodnih radikala. Vrednost

- IC₅₀ antioksidativne aktivnosti sokova sorte Ometa je u visokoj negativnoj korelaciji sa sadržajem ukupnih polifenola, delfinidin-3-*O*-rutinozida, delfinidin-3-*O*-glukozida i cijanidin-3-*O*-rutinozida.
8. Najbolju inhibiciju lipidne peroksidacije u emulziji β -karoten/linolna kiselina je pokazao sok sorte Ometa iz 2009. godine (0.08 ± 0.01 mg/ml), a od ekstrakta svi metanolni i 70% etanolni ekstrakt Tenaha iz 2008. godine ($IC_{50} = 0.02 \pm 0.004$ mg/ml).
 9. Antimikrobna aktivnost ispitivanih sokova i ekstrakta je veoma slaba. Sorta Ometa je pokazala najbolju antimikrobnu aktivnost. Najosetljiviji sojevi mikroorganizama na dejstvo sokova i ekstrakta sorti crnih ribizli su *L. monocytogenes* i *P. aeruginosa*.
 10. Svi sokovi i ekstrakti su ispoljili spazmolitičko dejstvo na spontane i stimulisane (KCl i Ach) kontrakcije ileuma pacova. Najbolje dejstvo na spontane kontrakcije imao je vodeni ekstrakt sorte Ometa iz 2010. godine ($EC_{50} = 1.24 \pm 0.21$), koji je u koncentraciji od 1 mg/ml inhibirao kontrakcije ileuma za $52.08 \pm 4.71\%$. Vrednosti EC_{50} inhibicije kontrakcija muskulature ileuma vodenog ekstrakta sorte Ometa za istu godinu, pokazale su statistički značajnu negativnu korelaciju sa ukupnim antocijanima i svim flavonolima. Dobre efekte ispoljili su i vodeni ekstrakti sorti Ben Sarek ($64.64 \pm 2.57\%$) i Ometa iz 2009. godine ($59.36 \pm 1.79\%$) u koncentraciji od 3 mg/ml. Od sokova je najbolju aktivnost ispoljio sok sorte Ben Sarek iz 2010. godine koji je u koncentraciji od 1 mg/ml inhibirao kontrakcije tankog creva za $57.81 \pm 6.49\%$.
 11. Inhibiciju kontrakcija indukovanih KCl najbolje su izazvali vodeni ekstrakti sorte Triton iz 2008. godine ($47.27 \pm 9.95\%$) i Ben Sareka iz 2009. godine ($41.2 \pm 11.79\%$) i 2010. godine ($42.51 \pm 0.6\%$). Ovi vodeni ekstrakti su inhibiciju kontrakcija ispoljili u koncentraciji od 3 mg/ml. Od sokova je najbolju aktivnost ispoljio sok sorte Tenah iz 2010. godine, koji je u količini od 1 mg/ml doveo do smanjenja tonusa muskulature ileuma za $53.82 \pm 4.38\%$.
 12. Kontrakcije izazvane acetilholinom najbolje su inhibirane dejstvom vodenih ekstrakta sorte Tenah iz 2009. godine, Ben Sareka iz 2009. godine i Omete iz sve tri godine. Vodeni ekstrakt Tenaha iz 2010. godine je u koncentraciji od 3 mg/ml inhibirao kontrakcije indukovane Ach za $74.21 \pm 3.21\%$. Od sokova su dobre efekte pokazali sorte Ben Sarek iz 2010. godine ($65.31 \pm 12.76\%$) u koncentraciji od 1mg/ml, i Tenah iz 2010. godine ($69.52 \pm 5.8\%$) u koncentraciji od 3mg/ml.

13. Sokovi sve četiri sorte crnih ribizli Tenah, Triton, Ben Sarek i Ometa dovele su do značajnog sniženja srednjeg arterijskog krvnog pritiska i frekvencije srčanog rada anesteziranih kunića. Najbolje hipotenzivno dejstvo pokazali su sokovi sorti Ben Sarek iz 2009. i 2010. godine, koji su u količini od 166.5 mg/ml doveli do smanjenja krvnog pritiska od 36.99 ± 4.52 i 40.52 ± 2.95 , respektivno. Treba naglasiti da kod sokova sorte Ben Sarek ne postoji statistički značajna razlika u procentu sniženja krvnog pritiska, kao i procenta frekvencije srčanog rada između godina. Dobro dejstvo su imali i sokovi sorti Triton iz 2008. godine ($35.12 \pm 1.54\%$) i Ometa iz 2009. godine ($33.48 \pm 3.32\%$), u koncentraciji od 166.5 mg/ml.
14. Sorte Ben Sarek i Ometa se preporučuju kao sorte sa najboljim biološkim dejstvom na kardiovaskularni i gastrointestinalni sistem.
15. Sorta Ometa se ističe najboljim karakteristikama među svim testiranim sokovima i ekstraktima.
16. Na osnovu dobijenih rezultata, vidi se da sokovi i ekstrakti sorte crne ribizle Triton, Tenah, Ben Sarek i Ometa ispoljavaju dobru antioksidativnu i biološku aktivnost i da se mogu koristiti za unapređenje zdravlja i prevenciju bolesti kod ljudi, kao i za poboljšanje funkcionalnih karakteristika odgovarajućih proizvoda.
17. Pored funkcionalnog dejstva, mogu se izvući značajne smernice za selekciju sirovina i mesta za sadnju (proizvodnju, uzgoj) crnih ribizli za dalju komercijalnu upotrebu.

LITERATURA

Andersen OM, Jordheim M. 2010. Anthocyanins. U: Encyclopedia of life sciences (ELS). Chichester: John Wiley & Sons.

Antal DS, Garban G, Garban Z. 2003. The anthocyanins: biologically active substances of food and pharmaceutical interest. The Annals of the University Dunarea de Jos of Galati, Fascicle VI - Food Technol 26:106–15.

Antonnen MJ, Karjalainen RO. 2006. High-performance liquid chromatography analysis of black currant (*Ribes nigrum* L.) fruit phenolics grown either conventionally or organically. J Agr Food Chem 54:7530–8.

Apostolidis E, Kwon YI, Shetty K. 2008. Inhibition of *Listeria monocytogenes* by oregano, cranberry and sodium lactate combination in broth and cooked ground beef systems and likely mode of action through proline metabolism. Int J Food Microbiol 128:317–24.

Assmann G, Buono P, Daniele A, Della Valle E, Farinaro E, Ferns G, Krogh V, Kromhout D, Masana L, Merino J, Misciagna G, Panico S, Riccardi G, Rivellese AA, Rozza F, Salvatore F, Salvatore V, Stranges S, Trevisan M, Trimarco B, Vetrani C. 2014. Functional foods and cardiometabolic diseases *International task force for prevention of cardiometabolic diseases. Nutr Metab Cardiovasc Dis 24:1272–300.

Aquila S, Santoro M, De Amicis F, Guido C, Bonofiglio D, Lanzino M, Cesario MG, Perrotta I, Sisci D, Morelli C. 2013. Red wine consumption may affect sperm biology: the effects of different concentrations of the phytoestrogen myricetin on human male gamete function. Mol Reprod Dev 80:155–65.

Badejo AA, Fujikawa Y, Esaka M. 2009. Gene expression of ascorbic acid biosynthesis related enzymes of the Smirnoff–Wheeler pathway in acerola (*Malpighia glabra*). J Plant Physiol 166:652–60.

Bakowska-Barczak MA, Kolodziejczyk PP. 2011. Black currant polyphenols: their storage stability and microencapsulation. Ind Crops Prod 34:1301–9.

Bandaruk Y, Mukai R, Terao J. 2014. Cellular uptake of quercetin and luteolin and their effect on monoamine oxidase-A in human neuroblastoma SH-SY5Y cells. Toxicol Rep 1:639–49.

Basu A, Fu DX, Wilkinson M, Simmons B, Wu M, Betts NM, Du M, Lyons TJ. 2010. Strawberries decrease atherosclerotic markers in subjects with metabolic syndrome. Nutr Res 30:462–9.

Bautista–Ortín AB, Rodríguez–Rodríguez P, Gil–Munoz R, Jimenez–Pascual E, Busse–Valverde N, Martínez–Cutillas A, López–Roca JM, Gomez–Plaza E. 2012. Influence of berry ripeness on

concentration, qualitative composition and extractability of grape seed tannins. Aust J Grape Wine R 18:123–30.

Benkovic V, Horvat Knezevic A, Dikic D, Lisicic D, Orsolcic N, Basic I, Kosalec I, Kopjar N. 2008. Radioprotective effects of propolis and quercetin in γ -irradiated mice evaluated by the alkaline comet assay. Phytomedicine 15:851–8.

Breed RS, Murray EGD, Smith NR. 1957. Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. Baltimore: The Williams & Wilkins Company.

Brenner DJ, Krieg NR, Staley JT. 2005. U: Garrity G, editor. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Vol. 2. Berlin: Springer.

Besco E, Braccioli E, Vertuani S, Ziosi P, Brazzo F, Bruni R, Sacchetti G, Manfredini S. 2007. The use of photochemiluminescence for the measurement of the integral antioxidant capacity of baobab products. Food Chem 102:1352–6.

Bigović D. 2013. Karakterizacija suvih ekstrakata cvasti smilja *Helichrysum plicatum* DC. i ispitivanje njihove antioksidativne, citotoksične, spazmolitičke i antimikrobne aktivnosti. Doktorska disertacija. Beograd: Univerzitet u Beogradu, Farmaceutski fakultet.

Bishayee A, Mbimba T, Thoppila JR, Haznagay-Radnaib E, Siposc P, Darvesha SA, Folkessond GH, Hohmann J. 2011. Anthocyanin-rich black currant (*Ribes nigrum* L.) extract affords chemoprevention against diethylnitrosamine-induced hepatocellular carcinogenesis in rats. J Nutr Biol 22:1035–46.

Bordonaba JG, Crespo G, Terry LA. 2010. A new acetonitrile-free mobile phase for HPLC–DAD determination of individual anthocyanins in blackcurrant and strawberry fruits: A comparison and validation study. Food Chem 129: 1265–73.

Bordonaba JG, Terry LA. 2008. Biochemical profiling and chemometric analysis of seventeen UK-grown black currant (*Ribes nigrum* L.) cultivars. J Agr Food Chem 56:7422–30.

Borges G, Degeneve A, Mullen W, Crozier A. 2009. Identification of flavonoid and phenolic antioxidants in black currants, blueberries, raspberries, red currants, and cranberries. J Agr and Food Chem 58:3901–9.

Bottone JE. 2010. *Bacillus cereus*, a volatile human pathogen. Clin Microbiol Rev 23:382–98.

Brennan RM. 1996. Currants and goosenberries. U: Janick J, Moore JN, editori. Fruit breeding. Vol. II. Vine and small fruits. Chichester: John Wiley & Sons.

Brankovic S, Kitic D, Radenkovic M, Veljkovic S, Golubovic T. 2009. Calcium blocking activity as a mechanism of the spasmolytic effect the essential oil of *Calamintha glandulosa* Silic on isolated rat ileum. Gen Physiol Biophys 174–8.

Brooks GF, Carrol KC, Butel JS, Morse SA. 2007. Jawetz, Melnick & Adelberg's medical microbiology. 24. izdanje. New York: The McGraw-Hill Companies.

Brubacher G, Müller-Mulot W, Southgate DDT. 1985. Methods for determination of vitamins in foods. London: Elsevier.

Buchanan BB, Gruissem W, Jones RL. 2000. Biochemistry and molecular biology of plants. Maryland: The American Society of Plant Physiologists.

Cacace EJ, Mazza G. 2002. Extraction of anthocyanins and other phenolics from black currants with sulfured water. J Agric Food Chem 50:5939–46.

Cacace EJ, Mazza G. 2003. Optimization of extraction of anthocyanins from black currants with aqueous ethanol. J Food Sci 68: 240–8.

Cassidy A, Mukamal KJ, Liu L, Franz M, Eliassen AH, Rimm EB. 2013. High anthocyanin intake is associated with a reduced risk of myocardial infarction in young and middle-aged women. Circulation 127:188–96.

Caris-Veyrat C, Amiot MJ, Tyssandier V, Grasselly D, Buret M, Mikolajczak M, Guillard JC, Bouteloup-Demange C, Borel P. 2004. Influence of organic versus conventional agricultural practice on the antioxidant microconstituent content of tomatoes and derived purees; consequences on antioxidant plasma status in humans. J Agric Food Chem 52:6503–9.

Castaneda-Ovando A, Pacheco-Hernandez MdL, Paez-Hernández ME, Rodríguez JA, Galán-Vidal CA. 2009. Chemical studies of anthocyanins: A review. Food Chem 113:859–71.

Catel-Ferreira M, Tnani H, Hellio C, Cosette P, Lebrun L. 2015. Antiviral effects of polyphenols: Development of bio-based cleaning wipes and filters. J Virol Methods 212:1–7.

Cavanagh HM, Hipwell M, Wilkinson JM. 2003. Antibacterial activity of berry fruits used for culinary purposes. J Med Food 1:57–61.

Chang YY, Yang DJ, Chiu CH, Lin YL, Chen JW, Chen YC. 2013. Antioxidative and anti-inflammatory effects of polyphenol-rich litchi (*Litchi chinensis* Sonn.) –flower–water–extract on livers of high-fat-diet fed hamsters. J Funct Food 5:44–53.

Conner DE. 1993. Naturally occurring compounds. U: Davidson P, Branen AL, editori. Antimicrobials in foods. New York: Marcel Dekker, Inc.

Cruz-Rus E, Botella MA, Valpuesta V, Gomez-Jimenez MC. 2010. Analysis of genes involved in L-ascorbic acid biosynthesis during growth and ripening of grape berries. J Plant Physiol 167:739–48.

Crespo I, Garcia-Mediavilla MV, Gutierrez B, Sanchez-Campos S, Tunon MJ, Gonzalez-Gallego J. 2008. A comparison of the effects of kaempferol and quercetin on cytokine induced pro-inflammatory status of cultured human endothelial cells. Br J Nutr 100:968–76.

Curry EA. 1997. Temperatures for optimal anthocyanin accumulation in apple tissue. *J Hort Sci* 72:723–9.

Czyzowska A, Pogorzelski E. 2004. Changes to polyphenols in the process of production of must and wines from blackcurrants and cherries. Part II: Anthocyanins and flavanols. *Eur Food Res Technol* 218:355–9.

da-Silva WS, Harney JW, Kim BW, Li J, Bianco SD, Crescenzi A, Christoffolete MA, Huang SA, Bianco AC. 2007. The small polyphenolic molecule kaempferol increases cellular energy expenditure and thyroid hormone activation. *Diabetes* 56:767–76.

Dai J, Mumper RJ. 2010. Plant phenolics: extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties. *Molecules* 15: 7313–52.

Davey MW, Auwerkerken A, Keulemans J. 2007. Relationship of apple vitamin C and antioxidant contents to harvest date and postharvest pathogen infection. *J Sci Food Agric* 87:802–13.

Davey MW, Montagu MV, Inze D, Sanmartin M, Kanellis A, Smirnoff N, Benzie IJJ, Strain JJ, Favell D, Fletcher J. 2000. Plant L-ascorbic acid: chemistry, function, metabolism, bioavailability and effects of processing. *J Sci Food Agr* 80:825–60.

Day AJ, Canada FJ, Diaz JC, Kroon PA, McLauchlan R, Faulds CB, Plumb GW, Morgan MR, Williamson G. 2000. Dietary flavonoid and isoflavone glycosides are hydrolysed by the lactase site of lactase phlorizin hydrolase. *FEBS Lett* 468:166–70.

Del Rio D, Borges G, Crozier A. 2010. Berry flavonoids and phenolics: bioavailability and evidence of protective effects. *Br J Nutr* 104:S67–90.

Del Rio D, Rodriguez-Mateos A, Spencer JP, Tognolini M, Borges G, Crozier A. 2013. Dietary (poly)phenolics in human health: structures, bioavailability, and evidence of protective effects against chronic diseases. *Antioxid Redox Signal* 18:1818–92.

Dikbas N, Kotan R, Dadasoglu F, Sahin F. 2008. Control of *Aspergillus flavus* with essential oil and methanol extract of *Satureja hortensis*. *Int J Food Microbiol* 124:179–82.

Dixon RA, Paiva NL. 1995. Stress-induced phenylpropanoid metabolism. *Plant Cell* 7:1085–97.

Dohadwala MM, Holbrook M, Hamburg NM, Shenouda SM, Chung WB, Titas M, Kluge MA, Wang N, Palmisano J, Milbury PE, Blumberg JB, Vita JA. 2011. Effects of cranberry juice consumption on vascular function in patients with coronary artery disease. *Am J Clin Nutr* 93:934–40.

Donovan JL, Manach C, Faulks RM. 2006. Absorption and metabolism of dietary secondary metabolites. U: Crozier A, Clifford MN, Ashihara H, editori. *Plant secondary metabolites. Occurrence, structure and role in the human diet*. Oxford: Blackwell Publishing.

Dorman HJD, Deans SG. 2000. Antimicrobial agents from plants:antibacterial activity of plant volatile oils. J Appl Microbiol 88:308–16.

Droge W. 2002. Free radicals in the physiological control of cell function. Physiol Rev 82: 47–95.

Drossman DA. 2006. The functional gastrointestinal disorders and the Rome III process. Gastroenterology 130:1377–90.

Đorđević B. 2012. Proizvodna, nutritivna i antioksidativna svojstva sorti ribizle (*Ribes* cv.) Doktorska disertacija. Beograd: Univerzitet u Beogradu, Poljoprivredni fakultet.

Đukić M, Ninković M, Jovanović M. 2008. Oxidative stress: Clinical diagnostic significance. J Med Biochem 27:409–25.

Ebrahimi A, Schluesener H. 2012. Natural polyphenols against neurodegenerative disorders: potentials and pitfalls. Ageing Res Rev 11:329–45.

El-Nekeety AA, Abdel-Azeim SH, Hassan AM, Hassan NS, Aly SE, Abdel-Wahhab MA. 2014. Quercetin inhibits the cytotoxicity and oxidative stress in liver of rats fed aflatoxin-contaminated diet. Toxicol Rep 1:319–29.

European Pharmacopoeia 6.0. 2008. Department for the Quality of Medicines within the Council of Europe. Strasbourg Cedex, France.

European commission. Functional foods. www.cordis.europa.eu/pub/fp7/kbbe/docs/functional-foods_en.pdf

Faragher JD. 1983. Temperature regulation of anthocyanin accumulation in apple skin. J Exp Bot 34:1291–8.

FDA–www.fda.gov/Food/FoodborneIllnessContaminants/CausesOfIllnessBadBugBook/ucm070492.htm

Felicetti E, Mattheis JP. 2010. Quantification and histochemical localization of ascorbic acid in ‘Delicious’, ‘Golden Delicious’ and ‘Fuji’ apple fruit during on–tree development and cold storage. Postharvest Biol Tec 56:56–63.

Firuzi O, Mladenka P, Petrucci R, Marrosu G, Saso L. 2004. Hypochlorite scavenging activity of flavonoids. J Pharm Pharmacol 56:801–7.

Foyer CH, Noctor G. 2003. Redox sensing and signaling associated with reactive oxygen in chloroplasts, peroxisomes and mitochondria. Physiol Plantarum 119:355–64.

Frankel EN, Meyer AS. 2000. The problems of using one-dimensional methods to evaluate multifunctional food and biological antioxidants. J Sci Food Agric 80:1925–41.

Gamet–Payrastre L, Manenti S, Gratacap MP, Tulliez J, Chap H, Payrastre B. 1999. Flavonoids and the inhibition of PKC and PI 3-kinase. *Gen Pharmacol* 32:279–86.

Gautier H, Lopez–Lauri F, Massot C, Murshed R, Marty I, Sallanon H, Genard M. 2010. Impact of ripening and salinity on tomato fruit ascorbate content and enzymatic activities related to ascorbate recycling. *Funct Plant Sci Biotechnol* 4:66–75.

Gee JM, DuPont SM, Day AJ, Plumb GW, Williamson G, Johnson IT. 2000. Intestinal transport of quercetin glycosides in rats involves both deglycosylation and interaction with the hexose transport pathway. *J Nutr* 130:2765–71.

Gilani A, Khan A, Ghayur M, Ali S, Herzig J. 2006. Antispasmodic effects of Rooibos tea (*Aspalathus linearis*) is mediated predominantly through K^+ -channel activation. *Basic Clin Pharmacol Toxicol* 99:365–73.

Geleijnse JM, Hollman PCH. 2008. Flavonoids and cardiovascular health: which compound, what mechanisms. *Am J Clin Nutr* 88:12–3.

Golubović T. 2010. Sekundarni metabolite odabranih biljnih vrsta roda *Acinos* Miller. Doktorska disertacija. Niš: Univerzitet u Niš, Prirodno-matematički fakultet.

Gonzalez–Gallego J, Garcia–Mediavilla MV, Sanchez–Campos S, Tunon MJ. 2014. Anti-inflammatory and immunomodulatory properties of dietary flavonoids. U: Watson R, Preedy VR, Zibadi S, editori. *Polyphenols in human health and disease* Vol. 1. London: Elsevier.

Guard–Petter J. 2001. The chicken, the egg and *Salmonella enteritidis*. *Environ Microbiol* 3:421–30.

Guata Y, Aminata S, Amadou M, Babacar F. 2004. Myorelaxant and antispasmodic effects of the aqueous extract of *Mitragyna inermis* barks on Wistar rat ileum. *Fitoterapia* 75:447–50.

Guo M, Perez C, Wei Y, Rapoza E, Su G, Bou-Abdallah F, Chasteen ND. 2007. Iron binding properties of plant phenolics and cranberry's bio effects. *Dalton T* 43:4951–61.

Habauzit V, Milenkovic D, Morand C. 2014. Vascular protective effects of fruit polyphenols. U: Watson R, Preedy VR, Zibadi S, editori. *Polyphenols in human health and disease* Vol. 2. London: Elsevier.

Hagerman A, Mueller–Harvey I, Makkam HPS. 2000. Quantification of tannins in tree foliage—a laboratory manual. Vienna: FAO/IAEA Working document IAEA.

Hakimuddin F, Paliyath G. 2011. Cancer prevention by polyphenols: influence on signal transduction and gene expression. U: Paliyath G, Bakovic M, Shetty K, editori. *Functional foods, nutraceuticals and degenerative disease prevention*. Oxford: John Wiley & Sons.

- Hakkinen SH, Karenlampi SO, Heinonen IM, Mykkanen HM, Torronen AR. 1999a. Content of the flavonols quercetin, myricetin, and kaempferol in 25 edible berries. *J Agr Food Chem* 47:2274–9.
- Hakkinen S, Heinonen M, Karenlampi S, Mykkanen H, Ruuskanen J, Torronen R. 1999b. Screening of selected flavonoids and phenolic acids in 19 berries. *Food Res Int* 32:345–53.
- Hall IV, Stark R. 1972. Anthocyanin production in cranberry leaves and fruit, related to cool temperatures at a low light intensity. *Hort Res* 12:183–6.
- Halliwell B. 1996. Antioxidants in human health and disease. *Annu Rev Nutr* 16:33–50.
- Haminiuk CWI, Maciel GM, Plata-Oviedo MSV, Peralta RM. 2012. Phenolic compounds in fruits – an overview. *Int J Food Sci Technol* 47:2023–44.
- Han X, Shen T, Lou H. 2007. Dietary polyphenols and their biological significance. *Int J Mol Sci* 8:950–88.
- Hancock RD, Walker PG, Pont SDA, Marquis N, Vivera S, Gordon SL, Brennan RM, Viola R. 2007. L-Ascorbic acid accumulation in fruit of *Ribes nigrum* occurs by *in situ* biosynthesis via the L-galactose pathway. *Funct Plant Biol* 34:1080–91.
- Hanlin RL, Hrmova MM, Harbertson JF, Downey MO. 2010. Review: Condensed tannin and grape cell wall interactions and their impact on tannin extractability into wine. *Aust J Grape Wine R* 16:173–88.
- Hatier JH, Gould K. 2009. Anthocyanin function in vegetative organs. U: Gould K, Davies K, Winefield C, editors. *Anthocyanins biosynthesis, functions, and applications*. New York: Springer.
- Heinonen M. 2007. Antioxidant activity and antimicrobial effect of berry phenolics – a finnish perspective. *Mol Nutr Food Res* 51:684–91.
- Hong V, Wrolstad RE. 1986. Cranberry juice composition. *J AOAC Int* 69:199–207.
- Holt HE, Francis IL, Field JJ, Herderic, MJ, Iland PG. 2008. Relationships between berry size, berry phenolic composition and wine quality scores for cabernet Sauvignon (*Vitis vinifera* L.) from different pruning treatments and different vintages. *Austr J Grape Wine R* 14:191–202.
- Holton TA, Cornish EC. 1995. Genetics and biochemistry of anthocyanin biosynthesis. *Plant Cell* 7:1071–83.
- House WA. 1999. Trace element bioavailability as exemplified by iron and zinc. *Field Crop Res* 60:115–41.

Huang DJ, Ou BX, Prior RL. 2005. The chemistry behind antioxidant capacity assays. *J Agric Food Chem* 53:1841–56.

Huang WW, Chiu YJ, Fan MJ, Lu HF, Yeh HF, Li KH, Chen PY, Chung JG, Yang JS. 2010. Kaempferol induced apoptosis via endoplasmic reticulum stress and mitochondria-dependent pathway in human osteosarcoma U-2 OS cells. *Mol Nutr Food Res* 54:1585–95.

Iriti M, Varoni EM. 2014. Cardioprotective effects of moderate red wine consumption: Polyphenols vs. ethanol. *J Appl Biomed* 12:193–202.

Ishikawa T, Dowdle J, Smirnoff N. 2006. Progress in manipulating ascorbic acid biosynthesis and accumulation in plants. *Physiol Plantarum* 126:343–55.

Jalas J, Suominen J, Lampinen R, Kurtto A, editori. 1999. *Atlas Florae Europaeae*. Distribution of vascular plants in Europe. 12. Helsinki: The Committee for Mapping the Flora of Europe Societas Biologica Fennica Vanamo.

Janićijević HS, Kenić J, Arsić–Komljenović G. 2008. Antioksidantni potencijal biljke matočina (*Mellitis melisophyllum*). *Praxis Medica* 36:083–7.

Jančić R. 2002. *Botanika farmaceutika*. Beograd: Službeni list SFRJ.

Jia N, Kong B, Liu Q, Diao X, Xia X. 2012a. Antioxidant activity of black currant (*Ribes nigrum* L.) extract and its inhibitory effect on lipid and protein oxidation of pork patties during chilled storage. *Meat Sci* 91:533–9.

Jia N, Xiong Y, Kong B, Liu Q, Xia X. 2012b. Radical scavenging activity of black currant (*Ribes nigrum* L.) extract and its inhibitory effect on gastric cancer cell proliferation via induction of apoptosis. *J Funct Foods* 4:382–90.

Jimenez–Garcia SN, Guevara–Gonzalez RG, Miranda–Lopez R, Feregrino–Perez AA, Torres–Pacheco I, Vazquez–Cruz MA. 2013. Functional properties and quality characteristics of bioactive compounds in berries: Biochemistry, biotechnology, and genomics. *Food Res Int* 54: 1195–207.

Jin Y, Alimbetov D, George T, Gordon MH, Lovegrove JA. 2011. A randomised trial to investigate the effects of acute consumption of a blackcurrant juice drink on markers of vascular reactivity and bioavailability of anthocyanins in human subjects. *Eur J Clin Nutr* 65:849–56.

Jing P. 2006. Purple corn anthocyanins: chemical structure, chemopreventive activity and structure/function relationships. PhD thesis. The Ohio State University, USA.

Jennings A, Welch AA, Fairweather-Tait SJ, Kay C, Minihaue AM, Chowienczyk P, Jiang B, Cecelja M, Spector T, Macgregor A, Cassidy A. 2012. Higher anthocyanin intake is associated with lower arterial stiffness and central blood pressure in women. *Am J Clin Nutr* 96:781–8.

Jung CH, Cho I, Ahn J, Jeon TI, Ha TY. 2013. Quercetin reduces highfatdiet-induced fat accumulation in the liver by regulating lipidmetabolism genes. *Phytother Res* 27:139–43.

Jung SK, Lee KW, Kim HY, Oh MH, Byun S, Lim SH, Heo YS, Kang NJ, Bode AM, Dong Z, Lee HJ. 2010. Myricetin suppresses UVB-induced wrinkle formation and MMP-9 expression by inhibiting Raf. *Biochem Pharmacol* 79:1455–61.

Justesen U, Knuthsen P, Leth T. 1998. Quantitative analysis of flavonols, flavones, and flavanones in fruits, vegetables and beverages by high-performance liquid chromatography with photodiode array and mass spectrometric detection. *J Chromatogr A* 799:101–10.

Kahkonen MP, Heinonen M. 2003. Antioxidant activity of anthocyanins and their aglycons. *J Agric Food Chem* 51:628–33.

Kang NJ, Jung SK, Lee KW, Lee HJ. 2011. Myricetin is a potent chemopreventive phytochemical in skin carcinogenesis. *Ann N Y Acad Sci* 1229:124–32.

Karakašević B. 1977. *Mikrobiologija i parazitologija*. Beograd–Zagreb: Medicinska knjiga.

Karjalainen R, Anttonen M, Saviranta N, Stewart D, McDougall GJ, Hilz H, Mattila P, Torronen R, Hanke MV, Dunemann F, Flachowsky H. 2009. A review on bioactive compounds in black currants (*Ribes nigrum* L.) and their potential health-promoting properties. *Acta Hort* 839:301–7.

Kay C. 2004. Analysis of the bioactivity, metabolism, and pharmacokinetics of anthocyanins in humans. PhD thesis. Ontario: University of Guelph.

Kliewer WM. 1970. Effect of time and severity of defoliation on growth and composition of ‘Thompson Seedless’ grapes. *Am J Enol Vitic* 21:37–47.

Knekt P, Järvinen R, Reunanen A, Maatela J. 1996. Flavonoid intake and coronary mortality in Finland: a cohort study. *Br Med J* 312:478–81.

Kobori M. 2014. Dietary quercetin and other polyphenols: attenuation of obesity. U: Watson RR, Preedy VR, Zibadi S, editori. *Polyphenols in human health and disease* Vol. 1. London: Elsevier.

Koleva II, Van Beek TA, Linssen JPH, Groot A, Evstatieva LN. 2002. Screening of plant extracts for antioxidant activity: a comparative study on three testing methods. *Phytochem Anal* 13:8–17.

Konić-Ristić A, Šavikin K, Zdunić G, Janković T, Juranić Z, Menković N, Stanković I. 2011. Biological activity and chemical composition of different berry juices. *Food Chem* 125:1412–7.

Kottra G, Daniel H. 2007. Flavonoid glycosides are not transported by the human Na⁺/glucose transporter when expressed in *Xenopus laevis* oocytes, but effectively inhibit electrogenic glucose uptake. *J Pharmacol Exp Ther* 322:829–35.

Kovačević N. 2004. Osnovi farmakognozijske. Beograd: Srpska školska knjiga.

Krisch J, Galgoczy L, Papp T, Vagvolgyi C. 2009. Antimicrobial and antioxidant potential of waste products remaining after juice pressing. *Annals of the Faculty of Engineering Hunedoara-Journal of engineering* 8:131–4.

Krisch J, Galgoczy L, Tölgyesi M, Papp T, Vagvolgyi C. 2008. Effect of fruit juices and pomace extracts on the growth of Gram-positive and Gram-negative bacteria. *Acta Biologica Szegediensis* 52:267–70.

Kuzmanov B. 2012. Saxifragaceae Juss. U: Jordanov D, editor. *Flora na Narodna Republika B'lgaria* 4. Sofija: B'lgarskata Akademiya na Naukite.

Laaksonen O, Makila L, Tahvonen R, Kallio H, Yang B. 2013. Sensory quality and compositional characteristics of blackcurrant juices produced by different processes. *Food Chem* 138:2421–9.

Grujić–Injac B, Lajšić S. 1983. Hemija prirodnih proizvoda. Niš: Filozofski fakultet.

Lee JM, Rennaker C, Wrolstad RE. 2008. Correlation of two anthocyanin quantification methods: HPLC and spectrophotometric methods. *Food Chem* 110:782–6.

Lee KS, Kader AA. 2000. Preharvest and postharvest factors influencing vitamin C content of horticultural crops. *Postharvest Biol Tec* 20: 207–20.

Lee YJ, Suh KS, Choi MC, Chon S, Oh S, Woo JT, Kim SW, Kim JW, Kim YS. 2010. Kaempferol protects HIT-T15 pancreatic beta cells from 2-deoxy-D-ribose induced oxidative damage. *Phytother Res* 24:419–23.

Leitao DPS, Polozello ACM, Ito IY, Spadaro AC. 2005. Antibacterial screening of anthocyanic and proanthocyanic fractions from cranberry juice. *J Med Food* 8:36–40.

Li M, Ma F, Shang P, Zhang M, Hou C, Liang D. 2009. Influence of light on ascorbate formation and metabolism in apple fruits. *Planta* 230:39–51.

Li Y, Ding Y. 2012. Minireview: Therapeutic potential of myricetin in diabetes mellitus. *Food Science and Human Wellness* 1:19–25.

Lilamand M, Kelaiditi E, Guyonnet S, Antonelli Incalzi R, Raynaud-Simon A, Vellas B, Cesari M. 2014. Flavonoids and arterial stiffness: promising perspectives. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 24:698–704.

Lin SY, Wang YY, Chen WY, Chuang YH, Pan PH, Chen CJ. 2014. Beneficial effect of quercetin on cholestatic liver injury. *J Nutr Biochem* 25:1183–95.

Lin YT, Labbe RG, Shetty K. 2005. Inhibition of *Vibrio parahaemolyticus* in seafood systems using oregano and cranberry phytochemical synergies and lactic acid. *Innov Food Sci Emerg* 6:453–8.

Liškova J, Douglas TE, Beranová J, Skwarczyńska A, Božič M, Samal SK, Modrzejewska Z, Gorgieva S, Kokol V, Bačáková L. 2015. Chitosan hydrogels enriched with polyphenols: Antibacterial activity, cell adhesion and growth and mineralization. *Carbohydr Polymer* 129:135–42.

Liu M, Li X, Liu Y, Cao B. 2013. Regulation of flavanone 3-hydroxylase gene involved in the flavonoid biosynthesis pathway in response to UV-B radiation and drought stress in the desert plant, *Reaumuria soongorica*. *Plant Physiol Biochem* 73:161–7.

Lobo V, Patil A, Phatak A, Chandra N. 2010. Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. *Phcog Rev* 4:118–26.

Loizzo MR, Said A, Tundis R, Rashed K, Statti GA, Hufner A, Menichini F. 2007. Inhibition of angiotensin converting enzyme (ACE) by flavonoids isolated from *Ailanthus excelsa* (Roxb) (Simaroubaceae). *Phytother Res* 21:32–6.

Lorence A, Chevone BI, Mendes P, Nessler CL. 2004. *myo*-Inositol oxygenase offers a possible entry point into plant ascorbate biosynthesis. *Plant Physiol* 134:1200–5.

Maatta KR, Kamal-Eldin A, Torronen R. 2003. High-performance liquid chromatography (HPLC) analysis of phenolic compounds in berries with diode array and electrospray ionization mass spectrometric (MS) detection: *Ribes* species. *J Agr Food Chem* 51:6736–44.

Manach C, Scalbert A, Morand C, Remesy C, Jimenez L. 2004. Polyphenols: food sources and bioavailability. *Am J Clin Nutr* 79:727–47.

Mattila PH, Hellström J, McDougall G, Dobson G, Pihlava JM, Tiirikka T, Stewart D, Karjalainen R. 2011. Polyphenol and vitamin C contents in European commercial blackcurrant juice products. *Food Chem* 127: 1216–23.

Middleton E. 1986. The role of hydrogen peroxide in basophil histamine release and the effect of selected flavonoids. *J Allergy Clin Immun* 78:321–8.

Miguel M.G. 2010. Antioxidant activity of medicinal and aromatic plants. A review. *Flavour Fragr J* 25:291–312.

Milivojevic J, Slatnar A, Mikulic-Petkovsek M, Stampar F, Nikolic M, Veberic R. 2012. The influence of early yield on the accumulation of major taste and health-related compounds in black and red currant cultivars (*Ribes* spp.). *J Agric Food Chem* 60:2682–91.

Mikkonen TP, Maatta KR, Hukkanen AT, Kokko HI, Torronen AR, Karenlampi SO, Karjalainen RO. 2001. Flavonol content varies among black currant cultivars. *J Agric Food Chem* 49:3274–7.

Mikulic–Petkovsek M, Slatnar A, Schmitzer V, Stampar F, Veberic R, Koron D. 2013. Chemical profile of black currant fruit modified by different degree of infection with black currant leaf spot. *Sci Hortic–Amsterdam* 150:399–409.

Mikulic-Petkovsek M, Stampar F, Veberic R. 2010. The influence of organic/integrated production on the content of phenolic compounds in apple leaves and fruits in four different varieties over 2–year period. *J Sci Food Agric* 90:2366–78.

Min B, Ahn DU. 2005. Mechanism of lipid peroxidation in meat and meat products — A review. *Food Sci Biotechnol* 14:152–63.

Mirić M, Šobajić S. 2002. *Zdravstvena ispravnost namirnica*. Beograd: Zavod za izdavanje udžbenika.

Mink PJ, Scrafford CG, Barraj LM, Harnack L, Hong CP, Nettleton JA, Jacobs DR Jr. 2007. Flavonoid intake and cardiovascular disease mortality: a prospective study in postmenopausal women. *Am J Clin Nutr* 85:895–909.

Mihajilov-Krstev T. 2009. Hemijski sastav i antimikrobna aktivnost etarskih ulja biljnih vrsta roda *Satureja* L. Doktorska disertacija. Novi Sad: Univerzitet u Novom Sadu, Prirodno–matematički fakultet.

Mladěnka P, Zatloukalová L, Filipský T, Hrdina R. 2010. Cardiovascular effects of flavonoids are not caused only by direct antioxidant activity. *Free Radic Biol Med* 49:963–75.

Moretti CL, Sargent SA, Huber D, Calbo AG, Puschmann R. 1998. Chemical composition and physical properties of pericarp, locule, and placental tissues of tomatoes with internal bruising. *J Am Soc Hortic Sci* 123:656–60.

Mozafar A. 1993. Nitrogen fertilizers and the amount of vitamins in plants: a review. *J Plant Nutr* 16:2479–506.

Mulvihill EE, Huff MW. 2010. Antiatherogenic properties of flavonoids: Implications for cardiovascular health. *Can J Cardiol* 26:17A–21A.

Nagy S. 1980. Vitamin C contents of citrus fruit and their products: a review. *J Agric Food Chem* 28:8–18.

Naruszewicz M, Laniewska I, Millo B, Dluzniewski M. 2007. Combination therapy of statin with flavonoids rich extract from chokeberry fruits enhanced reduction in cardiovascular risk markers in patients after myocardial infarction (MI). *Atherosclerosis* 194:e179–84.

National Food Institute –Technical University of Denmark –file:///F:/vit%20C/fcdb_details.asp.htm

National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). 2003. Performance standards for anti-microbial susceptibility testing: eleventh informational supplement. Document M100–S11. Wayne, Pa.: National Committee for Clinical Laboratory Standard.

Naumann WD, Wittenburg U. 1980. Anthocyanins, soluble solids, and titrable acidity in blackberries as influenced by preharvest temperatures. *Acta Horticulturae* 112:183–90.

Nguyen TT, Tran E, Ong CK, Lee SK, Do PT, Huynh TT, Nguyen TH, Lee JJ, Tan Y, Ong CS, Huynh H. 2003. Kaempferol-induced growth inhibition and apoptosis in A549 lung cancer cells is mediated by activation of MEK–MAPK. *J Cell Physiol* 197:110–21.

NIH - <http://www.nhlbi.nih.gov/health/health-topics/topics/hbp>

Nielsen ILF, Haren GR, Magnussen EL, Dragsted LO, Rasmussen SE. 2003. Quantification of anthocyanins in commercial black currant juices by simple high-performance liquid chromatography. Investigation of their pH stability and antioxidative potency. *J Agric Food Chem* 51:5861–66.

Nikolić D, Keserovic Z, Magazin N, Paunović S, Miletić R, Nikolić M, Milivojević J. 2012. Conditions and development prospects of fruit growing in Serbia. *Zbornik radova i apstrakata. 14. Kongres voćara i vinogradara Srbije sa međunarodnim učešćem; Vrnjačka banja, Srbija, 9–12 Oktobar, 2012.* Beograd: Univerzitet u Beogradu, Poljoprivredni fakultet. Čačak: Naučno voćarsko društvo Srbije.

Nikolić M, Milivojević J. 2010. *Jagodaste voćke – Tehnologija gajenja.* Čačak: Naučno voćarsko društvo Srbije.

Nohynek JL, Alakomi HL, Kähkönen PM, Heinonen M, Helander MI, Oksman-Caldentey KM, Puupponen-Pimiä HR. 2006. Berry phenolics: antimicrobial properties and mechanisms of action against severe human pathogens. *Nutr Cancer* 54:18–32.

Nohynek L, Hartmann-Schmidlin S, Kähkönen M, Heinonen M, Määtä-Riihinen K, Puupponen-Pimiä R. 2005. Berry phenolics selectively inhibit the growth of intestinal pathogens. *Journal of Appl Microbiol* 98:991–1000.

Nour V, Stampar F, Veberic R, Jakopic J. 2013. Anthocyanins profile, total phenolics and antioxidant activity of black currant ethanolic extracts as influenced by genotype and ethanol concentration. *Food Chem* 141:961–6.

Nour V, Trandafir I, Cosmulescu S. 2014. Antioxidant capacity, phenolic compounds and minerals content of blackcurrant (*Ribes nigrum* L.) leaves as influenced by harvesting date and extraction method. *Ind Crop Prod* 53:133–9.

Novakova L, Solich P, Solichova D. 2008. HPLC methods for simultaneous determination of ascorbic and dehydroascorbic acids. *TRAC–Trend Anal Chem* 27:942–58.

Ohta K, Harada K. 1996. Studies on the measurement of ascorbic acid and dehydroascorbic acid in tea plants. *J Agric Chem Soc Jpn* 70:873–82.

Okawa M, Kinjo J, Nohara T, Ono M. 2001. DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) radical scavenging activity of flavonoids obtained from some medicinal plants. *Biol Pharm Bull* 24:1202–5.

Olszanecki R, Bujak-Gizycka B, Madej J, Suski M, Wolkow PP, Jawien J, Korbut R. 2008. Kaempferol, but not resveratrol inhibits angiotensin converting enzyme. *J Physiol Pharmacol* 59:387–92.

Ostertag ML, O’Kennedy N, Kroon AP, Duthie GG, de Roos B. 2009. Impact of dietary polyphenols on human platelet function – a critical review of controlled dietary intervention studies. *Mol Nutr Food Res* 54:60–81.

Oszmiański J, Wojdyło A. 2009. Comparative study of phenolic content and antioxidant activity of strawberry puree, clear, and cloudy juices. *Eur Food Res Technol* 228:623–31.

Pandareesh MD, Mythri R, Bharath MMS. 2015. Bioavailability of dietary polyphenols: Factors contributing to their clinical application in CNS diseases. *Neurochem Int*: In press.

Parisi OI, Pucci F, Restuocia D, Farina G, Iemma F, Pioci N. 2014. Polyphenols and their formulations: Different strategies to overcome the drawbacks associated with their poor stability and bioavailability. U: Watson R, Preedy VR, Zibadi S, editori . *Polyphenols in human health and disease*. Vol. 1. London: Elsevier.

Park HH, Lee S, Son HY, Park SB, Kim MS, Choi EJ, Singh TS, Ha JH, Lee MG, Kim JE, Hyun MC, Kwon TK, Kim YH, Kim SH. 2008. Flavonoids inhibit histamine release and expression of proinflammatory cytokines in mast cells. *Arch Pharm Res* 31:1303–11.

Parkman HP, Doma S. 2006. Importance of gastrointestinal motility disorders. *Pract Gastroenterol* 30:23–40.

Perez A, Gonzalez–Manzano S, Jimenez R, Perez–Abud R, Haro JM, Osuna A, Santos Buelga C, Duarte J, Perez–Vizcaino F. 2014. The flavonoid quercetin induces acute vasodilator effects in healthy volunteers: correlation with beta–glucuronidase activity. *Pharmacol Res* 89:11–8.

Prior RL, Cao GH. 1999. *In vivo* total antioxidant capacity: comparison of different analytical methods. *Free Radic Biol Med* 27:1173–81.

Puska P, Tuomilehto J, Nissinen A, Vartiainen E, editori. 1995. *The North Karelia project: 20 year results and experiences*. Helsinki: Helsinki University Press.

Puupponen-Pimiä R, Nohynek L, Meier C, Kähkönen M, Heinonen M, Hopia A, Oksman-Caldentey KM. 2001. Antimicrobial properties of phenolic compounds from berries. *J Appl Microbiol* 90:494–507.

Puupponen-Pimiä R, Nohynek L, Alakomi HL, Oksman-Caldentey KM. 2005. The action of berry phenolics against human intestinal pathogens. *Biofactors* 23:243–51.

Qin Y, Xia M, Ma J, Hao Y, Liu J, Mou H, Cao L, Ling W. 2009. Anthocyanin supplementation improves serum LDL–and HDL cholesterol concentrations associated with the inhibition of cholesteryl ester transfer protein in dyslipidemic subjects. *Am J Clin Nutr* 90:485–92.

Rahman MM, Ichiyanagi T, Komiyama T, Hatano Y, Konishi T. 2006. Superoxide radical– and peroxynitrite–scavenging activity of anthocyanins; structure–activity relationship and their synergism. *Free Radic Res* 40:993–1002.

Rendeiro C, Guerreiro JD, Williams CM, Spencer JP. 2012. Flavonoids as modulators of memory and learning: molecular interactions resulting in behavioural effects. *Proc Nutr Soc* 71:246–62.

Richard T, Lefeuvre D, Descendit A, Quideau S, Monti JP. 2006. Recognition characters in peptide–polyphenol complex formation. *Biochim Biophys Acta* 1760:951–8.

Robards K, Prenzler PD, Tucker G, Swatsitang P, Glover W. 1999. Phenolic compounds and their role in oxidative processes in fruits. *Food Chem* 66:401–36.

Rodrigues AD, Scheffel TB, Scola G, Santos MT, Fank B, de Freitas SC, Dani C, Vanderlinde R, Henriques JA, Coitinho AS, Salvador M. 2012. Neuroprotective and anticonvulsant effects of organic and conventional purple grape juices on seizures in Wistar rats induced by pentylenetetrazole. *Neurochem Int* 60:799–805.

Rodriguez–Mateos A, Rendeiro C, Bergillos–Meca T, Tabatabaee S, George T, Heiss C, Spencer JP. 2013. Intake and time dependence of blueberry flavonoid–induced improvements in vascular function: a randomized, controlled, double–blind, crossover intervention study with mechanistic insights into biological activity. *Am J Clin Nutr* doi: 10.3945/ajcn.113.066639.

Rodriguez–Mateos A, Heiss C, Borges G, Crozier A. 2014. Berry (poly)phenols and cardiovascular health. *J Agric Food Chem* 62:3842–51.

Roowi S, Mullen W, Edwards CA, Crozier A. 2009. Yoghurt impacts on the excretion of phenolic acids derived from colonic breakdown of orange juice flavanones in humans. *Mol Nutr Food Res* 53:S68–75.

Ruiz E, Padilla E, Redondo S, Gordillo-Moscoso A, Tejerina T. 2006. Kaempferol inhibits apoptosis in vascular smooth muscle induced by a component of oxidized LDL. *Eur J Pharmacol* 529:79–83.

Rumpunen K, Vagiri M, Ekholm A. 2011. Polyphenolic compounds in blackcurrants. *Acta Hort* 946:113–8.

Ryu SD, Park CS, Baek HM, Baek SH, Hwang SY, Chung WG. 2004. Anti-diarrheal and spasmolytic activities and acute toxicity study of Soonkijangquebo, a herbal anti-diarrheal formula. *J Ethnopharmacol* 91:75–80.

Sakurai T, Kitadate K, Nishioka H, Fujii H, Kizaki T, Kondoh Y, Izawa T, Ishida H, Radák Z, Ohno H. 2010. Oligomerized grape seed polyphenols attenuate inflammatory changes due to antioxidative properties in coculture of adipocytes and macrophages. *J Nutr Biochem* 21:47–54

Salminen S, Saxelin M. 1996. Comparison of successful probiotic strains. *Nutrition Today* 31.

Sartoratto A, Machado ALM, Delarmelina C, Figueira GM, Duarte MCT, Rehder VLG. 2004. Composition and antimicrobial activity of essential oils from aromatic plants used in Brazil. *Braz J Microbiol* 35:275–80.

Savić D. 1993. Hemijsko ispitivanje etarskog ulja, alkana i masnih kiselina *Satureja fukarekii* Šilić i *Satureja adamovicii* Šilić. Magistarska teza. Niš: Univerzitet u Nišu, Filozofski fakultet.

Scalbert A, Manach C, Morand C, Rémésy C. 2005. Dietary polyphenols and the prevention of diseases. *Crit Rev in Food Sci* 45:287–306.

Shahzad M, Sherry L, Rajendran R, Edwards CA, Combet E, Ramage G. 2014. Utilising polyphenols for the clinical management of *Candida albicans* biofilms. *Int J Antimicrob Ag* 44:269–73.

Sharma V, Joseph C, Ghosh S, Agarwal A, Mishra MK, Sen E. 2007. Kaempferol induces apoptosis in glioblastoma cells through oxidative stress. *Mol Cancer Ther* 6:2544–53.

Shiba Y, Kinoshita T, Chuman H, Taketani Y, Takeda E, Kato Y, Naito M, Kawabata K, Ishisaka A, Terao J, Kawai Y. 2008. Flavonoids as substrates and inhibitors of myeloperoxidase: molecular actions of aglycone and metabolites. *Chem Res Toxicol* 21:1600–9.

Slimestad R, Solheim H. 2002. Anthocyanins from black currants (*Ribes nigrum* L.). *J Agric Food Chem* 50:3228–31.

Stanisavljevic M, Tesovic M, Pavlovic K. 1999. New small fruit cultivars from Cacak: 2. the new black currant (*Ribes nigrum* L.) cultivar ‘Cacanska Crna’. *Acta Hort* 505:297–302.

Stintzing FC, Carle R. 2004. Functional properties of anthocyanins and betalains in plants, food, and in human nutrition. *Trends Food Sci Tech* 15:19–38.

Steyn WJ. 2009. Prevalence and functions of anthocyanins in fruits. U: Gould K, Davies K, Winefield C, editors. *Anthocyanins, biosynthesis, functions, and applications*. New York: Springer.

Steyn WJ, Holcroft DM, Wand SJE, Jacobs G. 2004a. Regulation of pear color development in relation to activity of flavonoid enzymes. *J Amer Soc Hort Sci* 129:6–12.

Steyn WJ, Holcroft DM, Wand SJE, Jacobs G. 2004b. Anthocyanin degradation in detached pome fruit with reference to preharvest red color loss and pigmentation patterns of blushed and fully red pears. *J Amer Soc Hort Sci* 129:13–19.

Steyn WJ, Wand SJE, Holcroft DM, Jacobs G. 2002. Anthocyanin in vegetative tissues: a proposed unified function in photoprotection. *New Phytol* 155:349–61.

Strohl AW, Rouse H, Fisher DB. 2001. *Microbiology*. Philadelphia: Lipincott Williams and Wilkins.

Šavikin K, Mikulič-Petkovšek M, Djordjević B, Zdunić G, Janković T, Djurović D, Veberič R. 2013. Influence of shading net on polyphenol profile and radical scavenging activity indifferent varieties of black currant berries. *Sci Hortic-Amsterdam* 160:20–8.

Šutić D. 1970. Virozni atavizam crne ribizle (*Ribes nigrum* L.) u Jugoslaviji. *Jugoslovensko voćarstvo* 4:223–6.

Tabart J, Kevers C, Pincemail J, Defraigne JO, Dommes J. 2006. Antioxidant capacity of black currant varies with organ, season, and cultivar. *J Agr Food Chem* 54:6271–6.

Tabart J, Franck T, Kevers C, Pincemail J, Serceyn D, Defraigne JO, Dommesa J. 2012. Antioxidant and anti-inflammatory activities of *Ribes nigrum* extracts. *Food Chem* 131:1116–22.

Tabart J, Kevers C, Evers D, Dommes J. 2011. Ascorbic acid, phenolic acid, flavonoid and carotenoid profiles of selected extracts from *Ribes nigrum*. *J Agric Food Chem* 59:4763–70.

Talley NJ. 2008. Functional gastrointestinal disorders as a public health problem. *Neurogastroenterol Motil* 20:121–9.

Tamir M, Alumot E. 2006. Inhibition of digestive enzymes by condensed tannins from green and ripe carobs. *J Sci Food Agr* 20:119–202.

Terry LA, Chope GA, Bordonaba JG. 2007. Effect of water deficit irrigation and inoculation with *Botrytis cinerea* on strawberry (*Fragaria x ananassa*) fruit quality. *J Agric Food Chem* 55:10812–9.

Tiwari KB, O'Donnell PC, Patras A, Cullen JP. 2008. Anthocyanin and ascorbic acid degradation in sonicated strawberry juice. *J Agric Food Chem* 56:10071–7.

Törrönen R, Sarkkinen E, Tapola N, Hautaniemi E, Kilpi K, Niskanen L. 2010. Berries modify the postprandial plasma glucose response to sucrose in healthy subjects. *Br J Nutr* 103:1094–7.

Tsiotou AG, Sakorafas GH, Anagnostopoulos G, Bramis J. 2005. Septic shock; current pathogenetic concepts from clinical perspective. *Med Sci Monit* 11:RA76–85.

Tsuda T, Shiga K, Ohshima K, Kawakishi S, Osawa T. 1996. Inhibition of lipid peroxidation and the active oxygen radical scavenging effect of anthocyanin pigments isolated from *Phaseolus vulgaris* L. *Biochem Pharmacol* 52: 1033–9.

USDA National Nutrient Database for Standard Reference. 2015. Basic Report 09083, Currants, european black, raw.

Vagiri M, Ekholm A, Andersson SC, Johansson E, Rumpunen K. 2012. An optimized method for analysis of phenolic compounds in buds, leaves, and fruits of black currant (*Ribes nigrum* L.). *J Agric Food Chem* 60:10501–10.

Vagiri M, Ekholm A, Oberg E, Johansson E, Andersson SC, Rumpunen K. 2013. Phenols and ascorbic acid in black currants (*Ribes nigrum* L.): variation due to genotype, location, and year. *J Agric Food Chem* 61:9298–06.

Valavanidis A, Vlachogianni T. 2013. Plant polyphenols: Recent advances in epidemiological research and other studies on cancer prevention. *Studies in Natural Products Chemistry*. U: Rahman Au, editor. *Studies in Natural Products Chemistry Vol 39*. London: Elsevier.

Viola R, Brennan RM, Davies HV, Somerville L. 2000. Accumulation of ascorbic acid in berries of *Ribes nigrum* L. *J Hortic Sci Biotech* 75: 409–12.

<http://mycology.adelaide.edu.au/>

Walker PG, Viola R, Woodhead M, Jorgensen L, Gordon SL, Brennan RM, Hancock RD. 2010. Ascorbic acid content of blackcurrant fruit is influenced by both genetic and environmental factors. *Func Plant Sci Biotech* 4:40–52.

Wang H, Cao G, Prior RL. 1997. Oxygen radical absorbing capacity of anthocyanins. *J Agric Food Chem* 45:304–9.

Werlein HD, Küttemeyer C, Schatton G, Hubbermann EM, Schwarz K. 2005. Influence of elderberry and blackcurrant concentrates on the growth of microorganisms. *Food Control* 16:729–33.

Wheeler GL, Jones MA, Smirnoff N. 1998. The biosynthetic pathway of vitamin C in higherplants. *Nature* 393:365–9.

WHO, 2013. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs330/en/>

Williamson G, Clifford MN. 2010. Colon metabolites of berry polyphenolics: the missing link to biological activity? *Br J Nutr* 104:S48–66.

Wu VCH, Qiu XJ, Bushway A, Harper L. 2008. Antibacterial effects of American cranberry (*Vaccinium macrocarpon*) concentrate on foodborne pathogens. *LWT-Food Sci Technol* 41:1834–41.

Wu VCH, Qiu XJ, de los Reyes BG, Lin CS, Pan YP. 2009. Application of cranberry concentrate (*Vaccinium macrocarpon*) to control *Escherichia coli* O157:H7 in ground beef and its antimicrobial mechanism related to the downregulated *slp*, *hdeA* and *cfa*. Food Microbiol 26: 32–8.

Wolucka BA, Van Montagu M. 2003. GDP-mannose3',5'-epimerase forms GDP-L-gulose, a putative intermediate for the *de novo* biosynthesis of vitamin C in plants. J Biol Chem 278: 47483–90.

Xia EQ, Deng GF, Guo YJ, Li HB. 2010. Biological activities of polyphenols from grapes. Int J Mol Sci 11:622–46.

Xu Z. 2012. Important antioxidant phytochemicals in agricultural food products. U: Xu Z, Howard LR, editori. Analysis of antioxidant-rich phytochemicals. Oxford: John Wiley& Sons, Inc.

Ying X, Chen X, Feng Y, Xu HZ, Chen H, Yu K, Cheng S, Peng L. 2014. Myricetin enhances osteogenic differentiation through the activation of canonical Wnt/ β -catenin signaling in human bone marrow stromal cells. Eur J Pharmacol 738:22–30.

Yu SF, Shun CT, Chen TM, Chen YH. 2006. 3-O-beta-D-glucosyl-(1→6)-beta-D-glucosyl-kaempferol isolated from *Sauropus androgenus* reduces body weight gain in Wistar rats. Biol Pharm Bull 29:2510–13.

Zhang Y, Liu D. 2011. Flavonol kaempferol improves chronic hyperglycemia-impaired pancreatic beta-cell viability and insulin secretory function. Eur J Pharmacol 670:325–32.

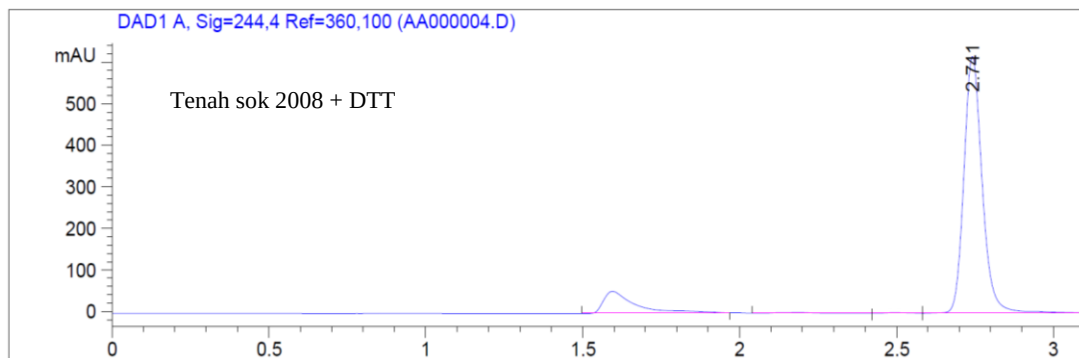
Zheng J, Yang B, Tuomasjukka S, Ou S, Kallio H. 2009. Effects of latitude and weather conditions on contents of sugars, fruit acids, and ascorbic acid in black currant (*Ribes nigrum* L.) juice. J Agric Food Chem 57:2977–87.

Zheng J, Yang B, Ruusunen V, Laaksonen O, Tahvonen R, Hellsten J, Kallio H. 2012. Compositional differences of phenolic compounds between black currant (*Ribes nigrum* L.) cultivars and their response to latitude and weather conditions. J Agric Food Chem 60:6581–93.

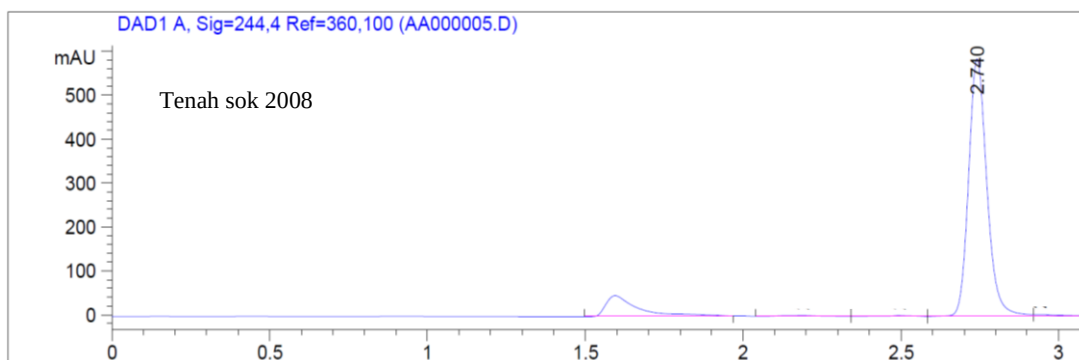
Zhu Y, Xia M, Yang Y, Liu F, Li Z, Hao Y, Mi M, Jin T, Ling W. 2011. Purified anthocyanin supplementation improves endothelial function via NO-cGMP activation in hypercholesterolemic individuals. Clin Chem 57:1524–33.

PRILOG I

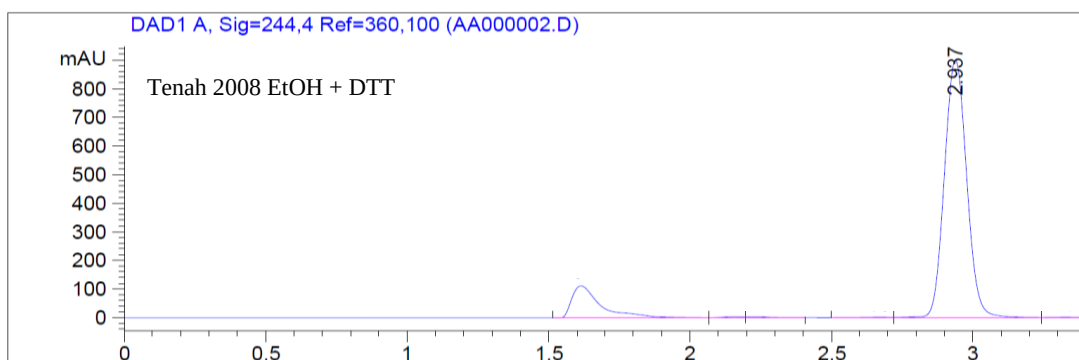
HPLC hromatogrami ukupnog vitamina C (askorbinska i dehidroaskorbinska kiselina) i askorbinske kiseline u sokovima i ekstraktima plodova crnih ribizli (*Ribes nigrum* L.)



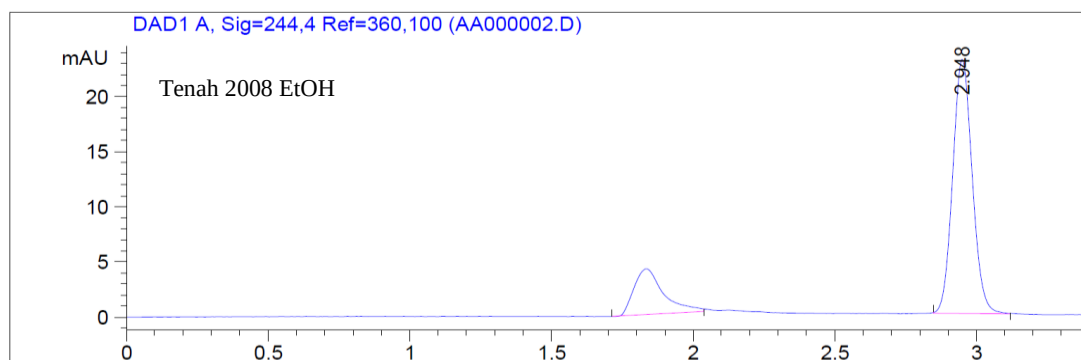
Slika 1. HPLC hromatogram ukupnog vitamina C ($r_t=2.74$) soka sorte Tenah iz 2008. godine



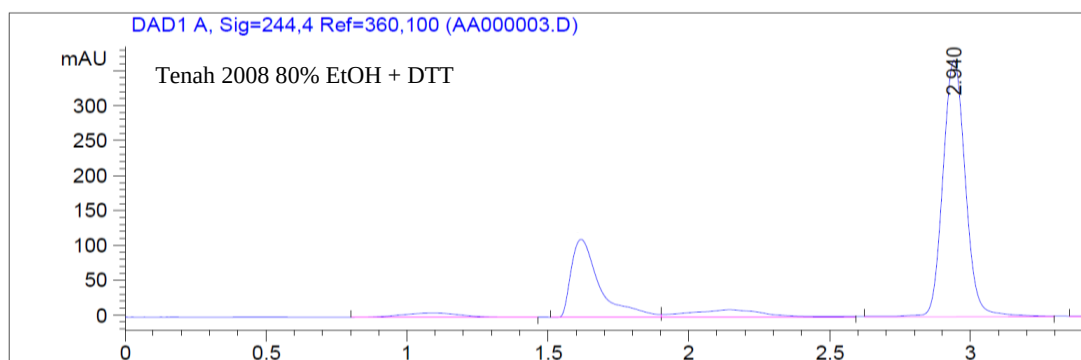
Slika 2. HPLC hromatogram vitamina C ($r_t=2.74$) soka sorte Tenah iz 2008. godine



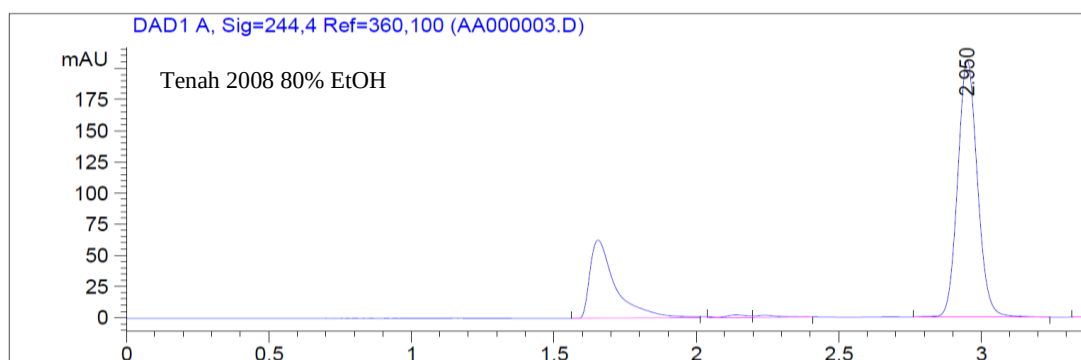
Slika 3. HPLC hromatogram ukupnog vitamina C ($r_t=2.94$) etanolnog ekstrakta sorte Tenah iz 2008. godine



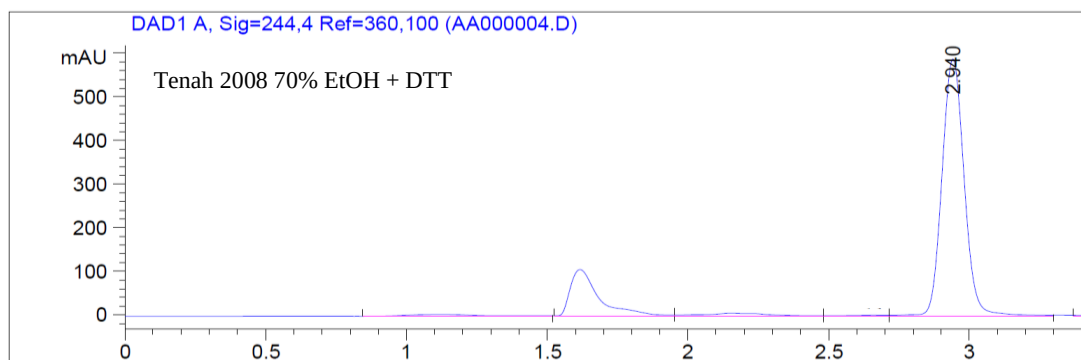
Slika 4. HPLC hromatogram vitamina C ($r_t=2.95$) etanolnog ekstrakta sorte Tenah iz 2008. godine



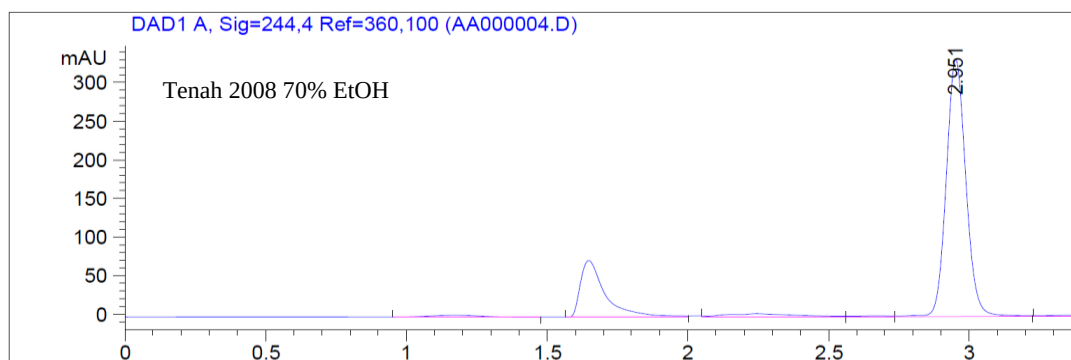
Slika 5. HPLC hromatogram ukupnog vitamina C ($r_t=2.94$) 80% etanolnog ekstrakta sorte Tenah iz 2008. godine



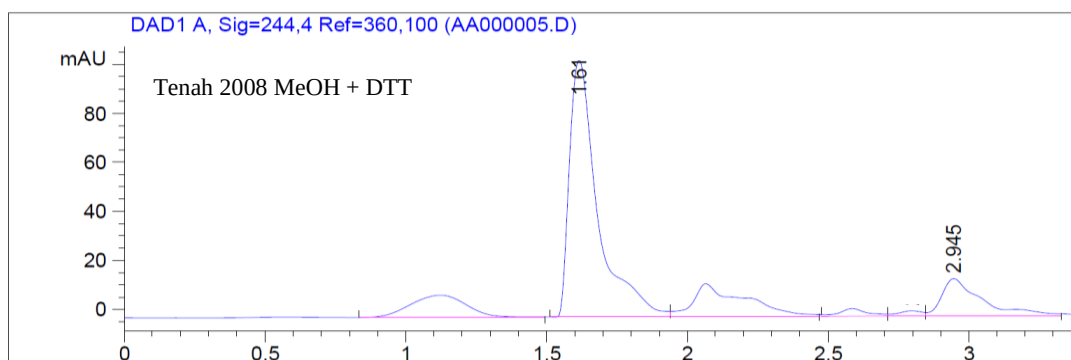
Slika 6. HPLC hromatogram vitamina C ($r_t=2.95$) 80% etanolnog ekstrakta sorte Tenah iz 2008. godine



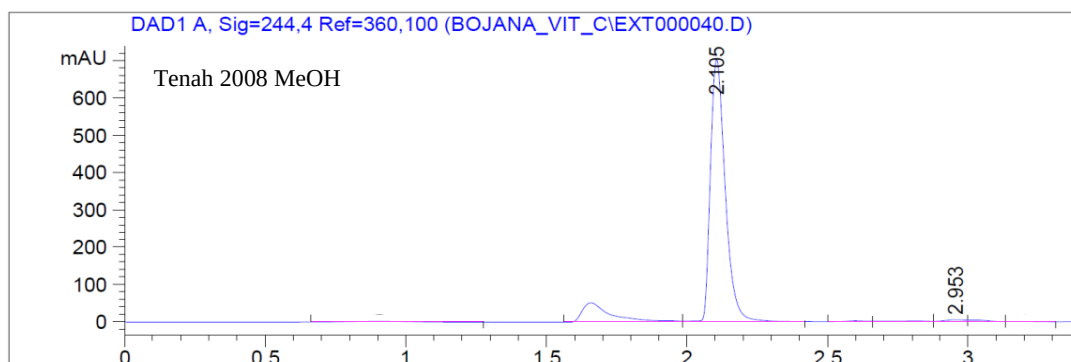
Slika 7. HPLC hromatogram ukupnog vitamina C ($r_t=2.94$) 70% etanolnog ekstrakta sorte Tenah iz 2008. godine



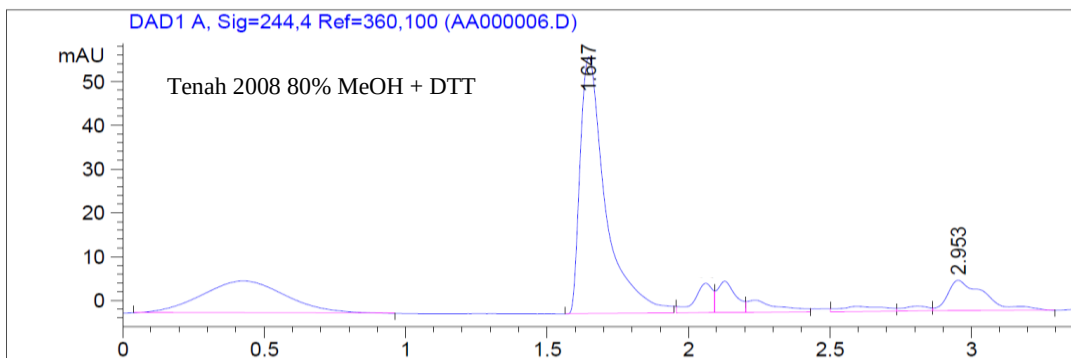
Slika 8. HPLC hromatogram vitamina C ($r_t=2.95$) 70% etanolnog ekstrakta sorte Tenah iz 2008. godine



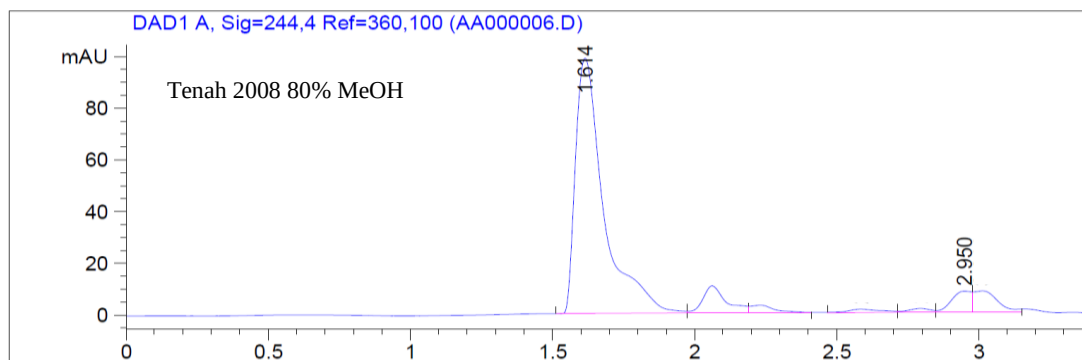
Slika 9. HPLC hromatogram ukupnog vitamina C ($r_t=2.95$) metanolnog ekstrakta sorte Tenah iz 2008. godine



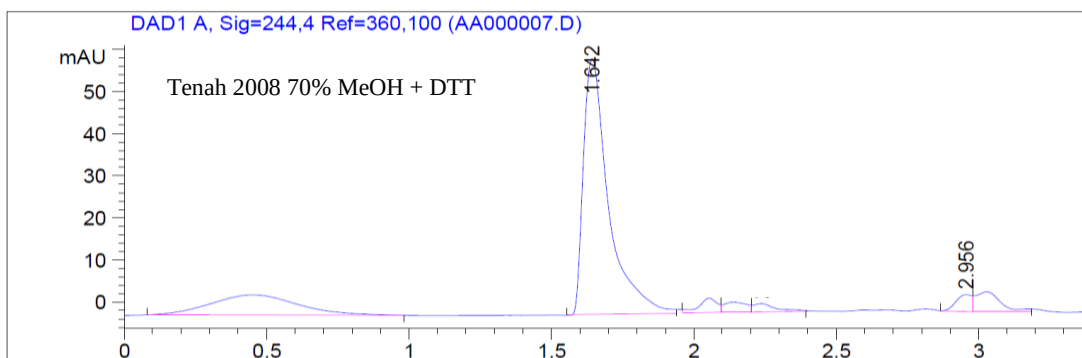
Slika 10. HPLC hromatogram vitamina C ($r_t=2.95$) metanolnog ekstrakta sorte Tenah iz 2008. godine



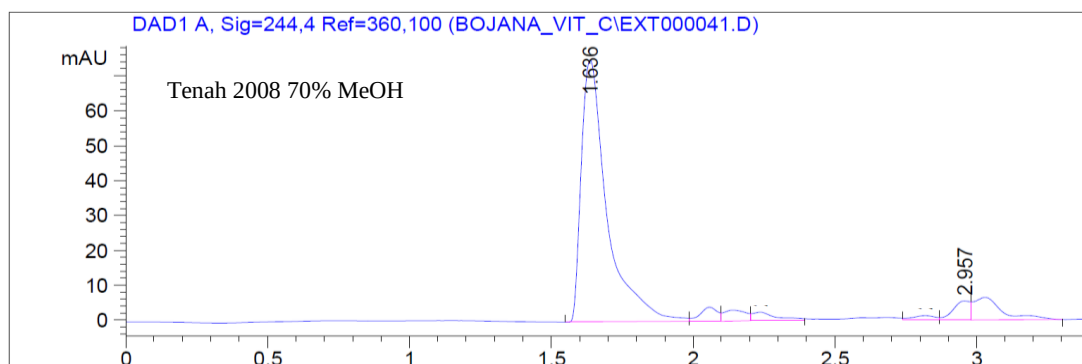
Slika 11. HPLC hromatogram ukupnog vitamina C ($r_t=2.95$) 80% metanolnog ekstrakta sorte Tenah iz 2008. godine



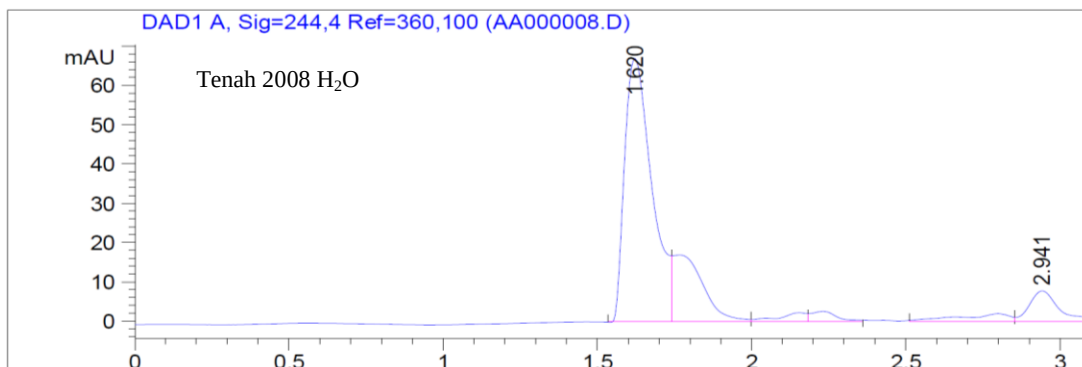
Slika 12. HPLC hromatogram vitamina C ($r_t=2.95$) 80% metanolnog ekstrakta sorte Tenah iz 2008. godine



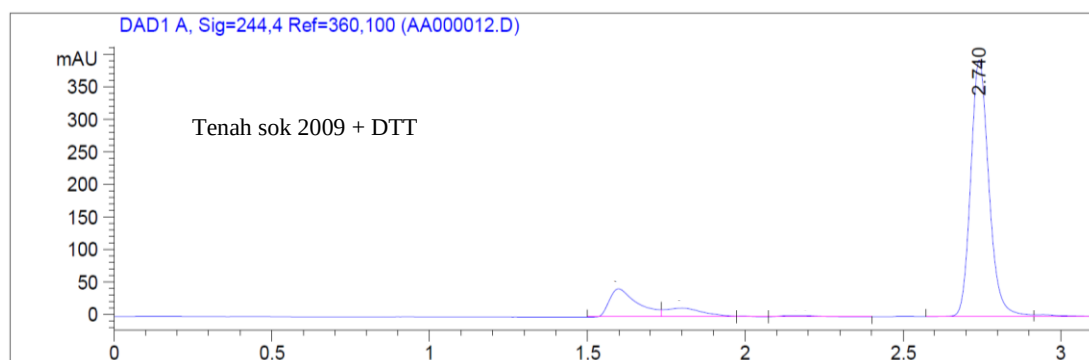
Slika 13. HPLC hromatogram ukupnog vitamina C ($r_t=2.95$) 70% metanolnog ekstrakta sorte Tenah iz 2008. godine



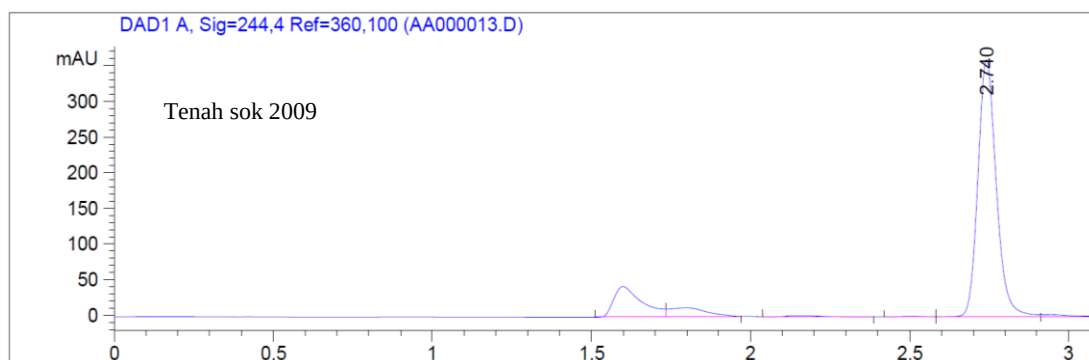
Slika 14. HPLC hromatogram vitamina C ($r_t=2.95$) 70% metanolnog ekstrakta sorte Tenah iz 2008. godine



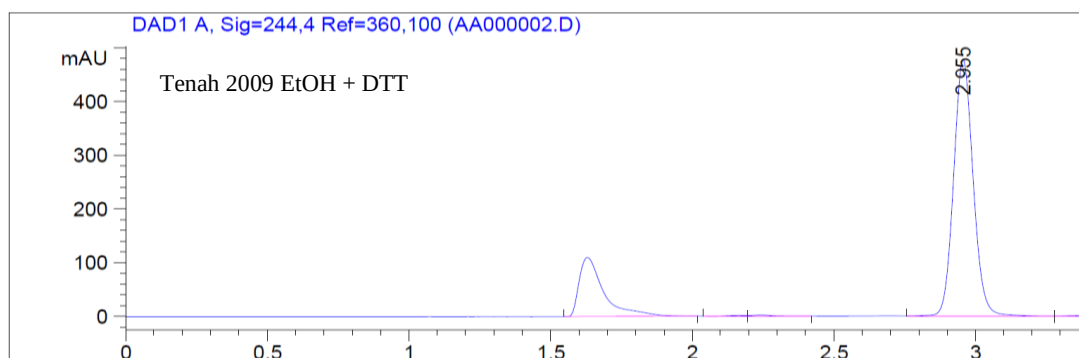
Slika 15. HPLC hromatogram vitamina C ($r_t=2.95$) vodenog ekstrakta sorte Tenah iz 2008. godine



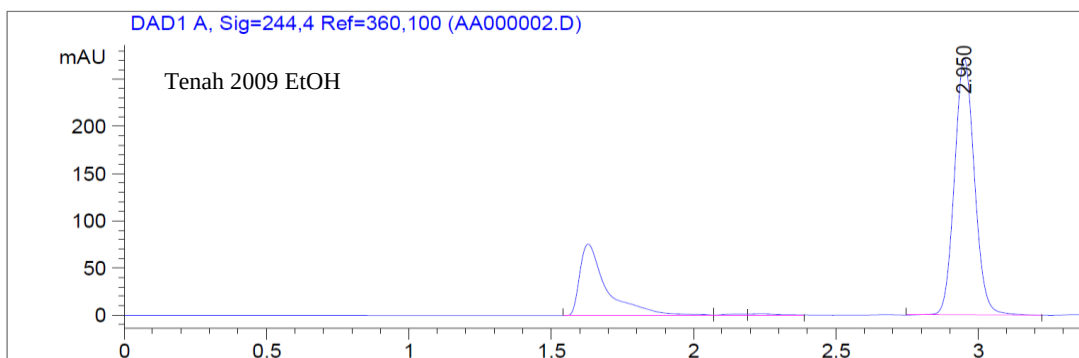
Slika 16. HPLC hromatogram ukupnog vitamina C ($r_t=2.74$) soka sorte Tenah iz 2009. godine



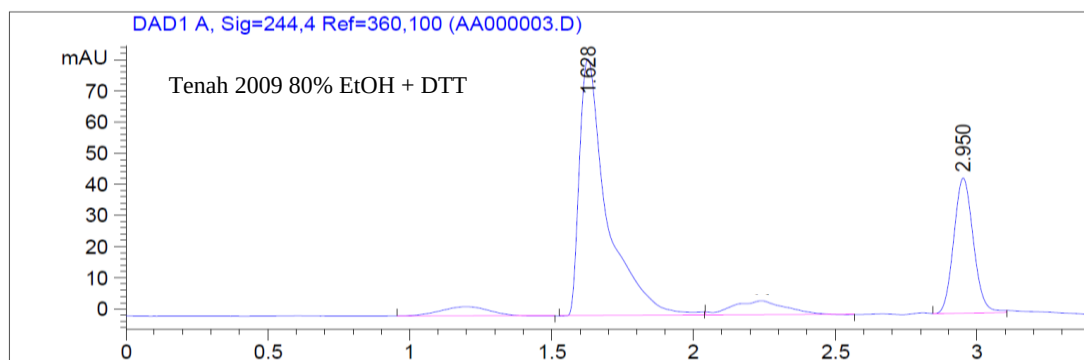
Slika 17. HPLC hromatogram vitamina C ($r_t=2.74$) soka sorte Tenah iz 2009. godine



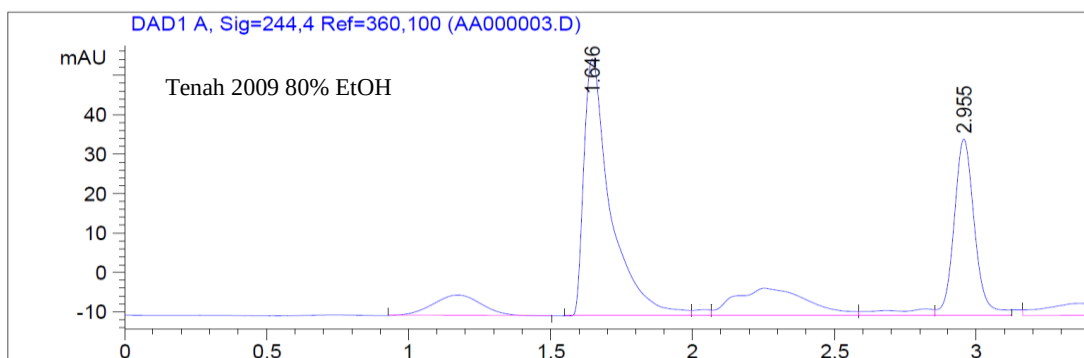
Slika 18. HPLC hromatogram ukupnog vitamina C ($r_t=2.95$) etanolnog ekstrakta sorte Tenah iz 2009. godine



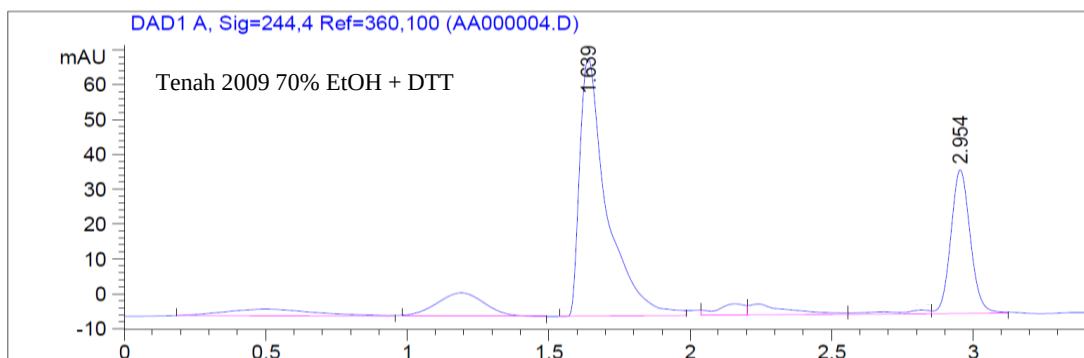
Slika 19. HPLC hromatogram vitamina C ($r_t=2.95$) etanolnog ekstrakta sorte Tenah iz 2009. godine



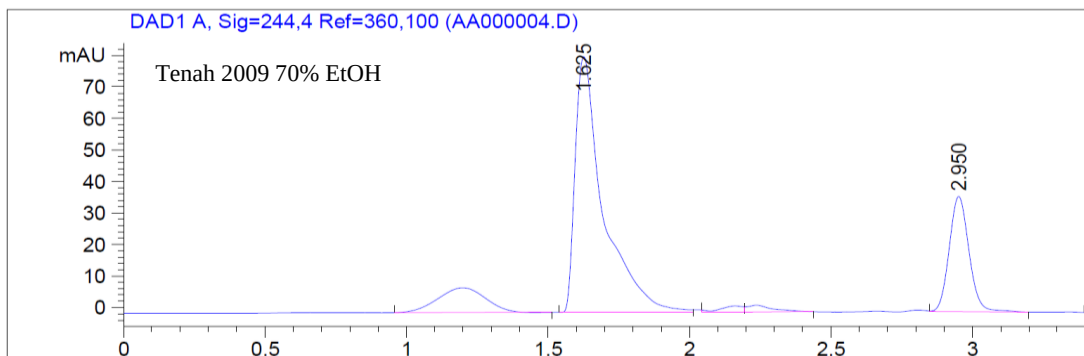
Slika 20. HPLC hromatogram ukupnog vitamina C ($r_t=2.95$) 80% etanolnog ekstrakta sorte Tenah iz 2009. godine



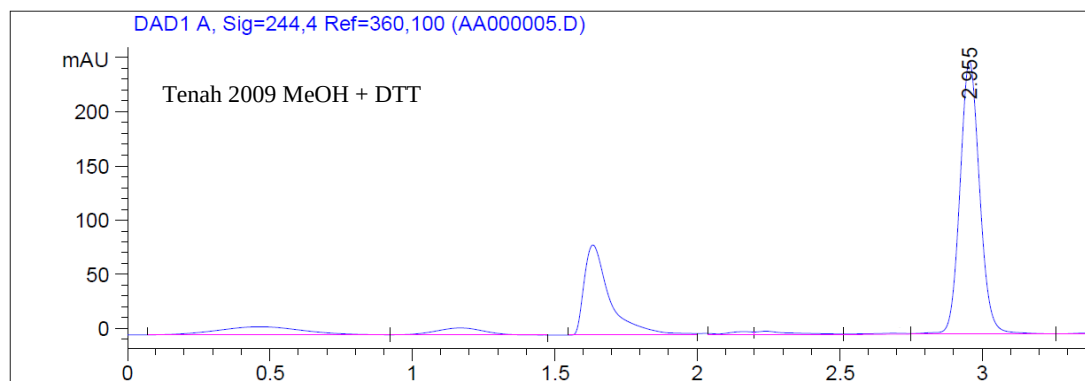
Slika 21. HPLC hromatogram vitamina C ($r_t=2.95$) 80% etanolnog ekstrakta sorte Tenah iz 2009. godine



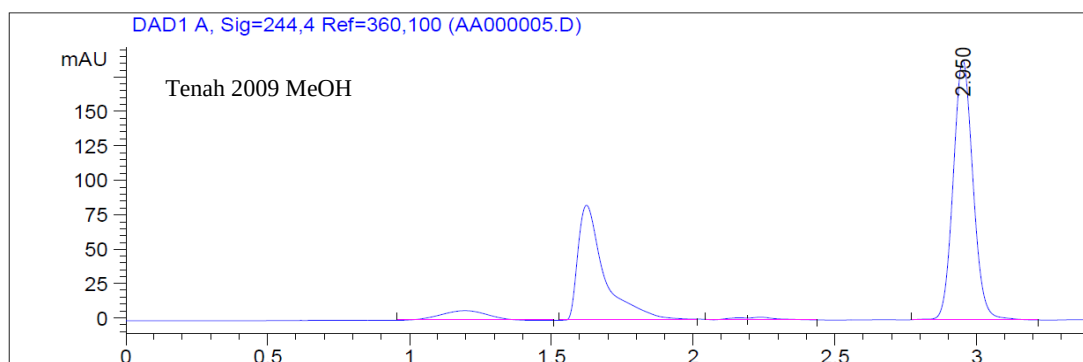
Slika 22. HPLC hromatogram ukupnog vitamina C ($r_t=2.95$) 70% etanolnog ekstrakta sorte Tenah iz 2009. godine



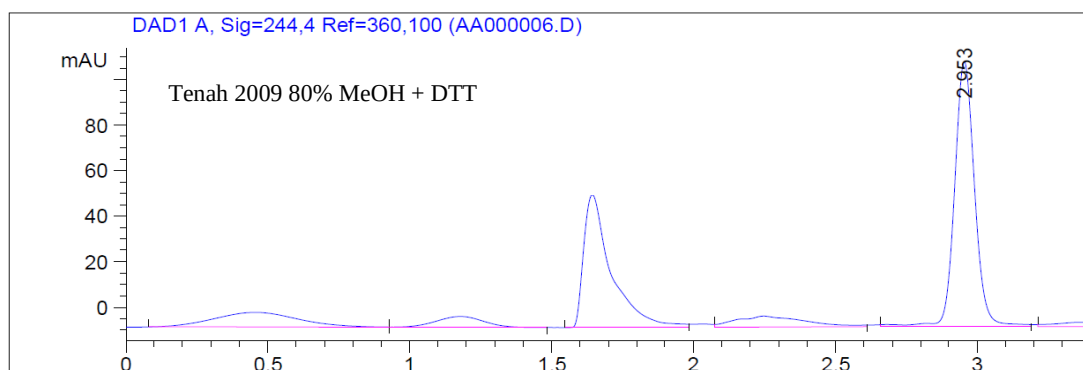
Slika 23. HPLC hromatogram vitamina C ($r_t=2.95$) 70% etanolnog ekstrakta sorte Tenah iz 2009. godine



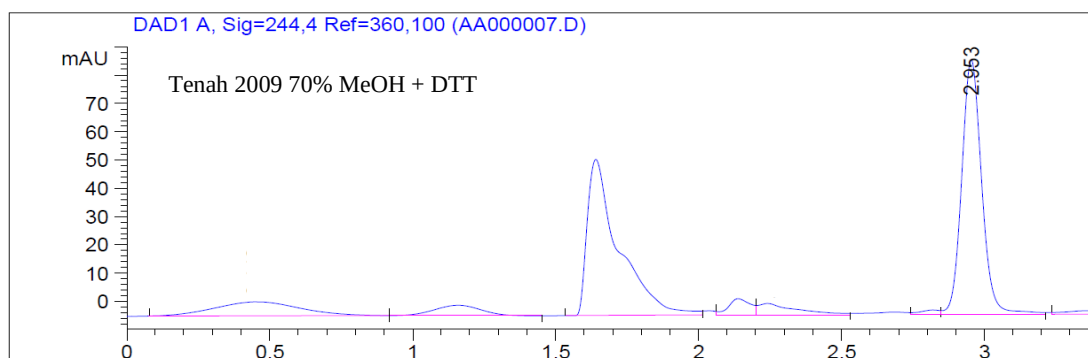
Slika 24. HPLC hromatogram ukupnog vitamina C ($r_t=2.95$) metanolnog ekstrakta sorte Tenah iz 2009. godine



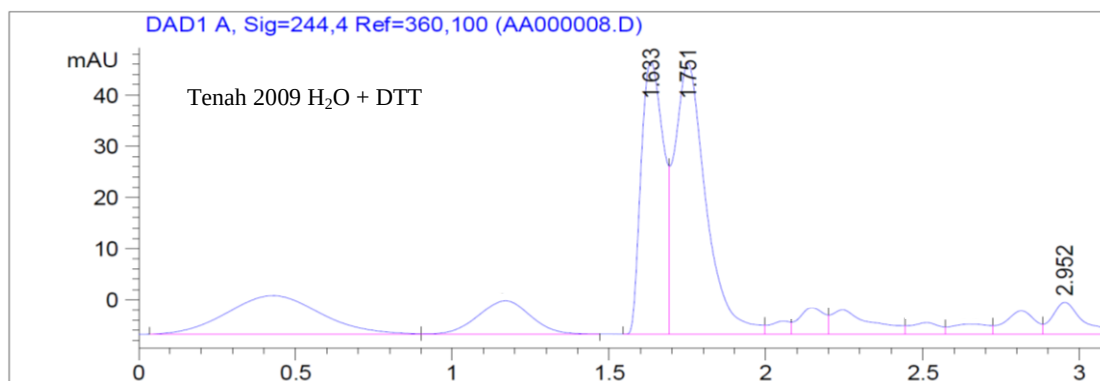
Slika 25. HPLC hromatogram vitamina C ($r_t=2.95$) metanolnog ekstrakta sorte Tenah iz 2009. godine



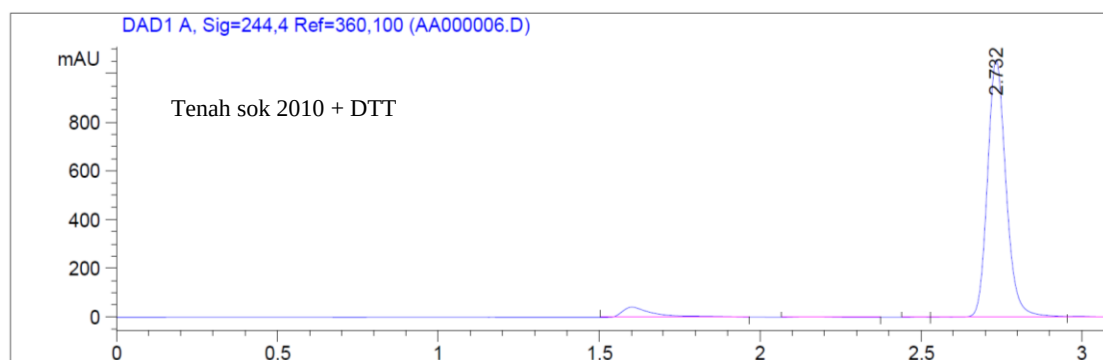
Slika 26. HPLC hromatogram ukupnog vitamina C ($r_t=2.95$) 80% metanolnog ekstrakta sorte Tenah iz 2009. godine



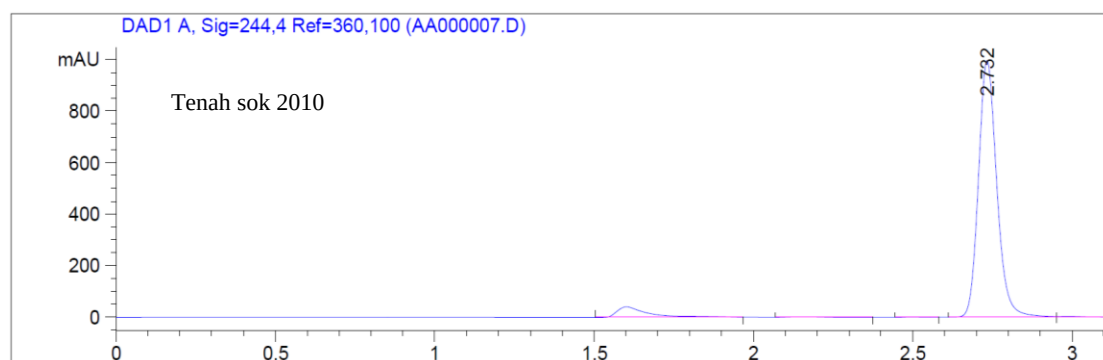
Slika 27. HPLC hromatogram ukupnog vitamina C ($r_t=2.95$) 70% metanolnog ekstrakta sorte Tenah iz 2009. godine



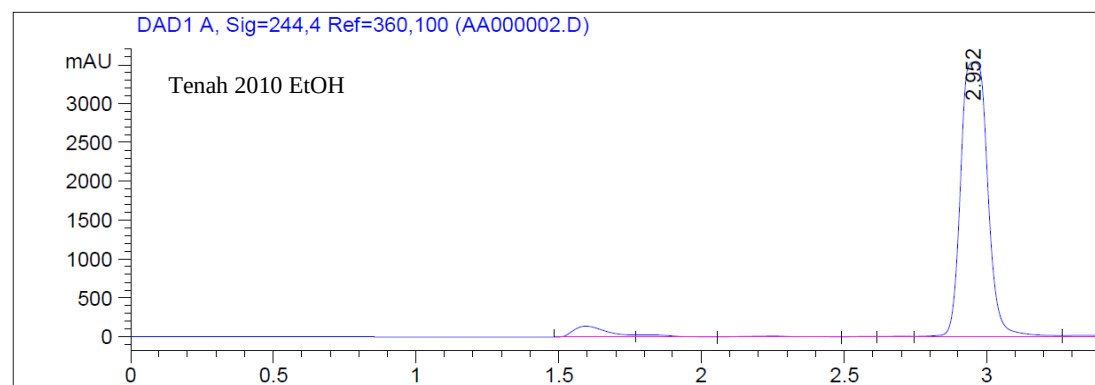
Slika 28. HPLC hromatogram ukupnog vitamina C ($r_t=2.95$) vodenog ekstrakta sorte Tenah iz 2009. godine



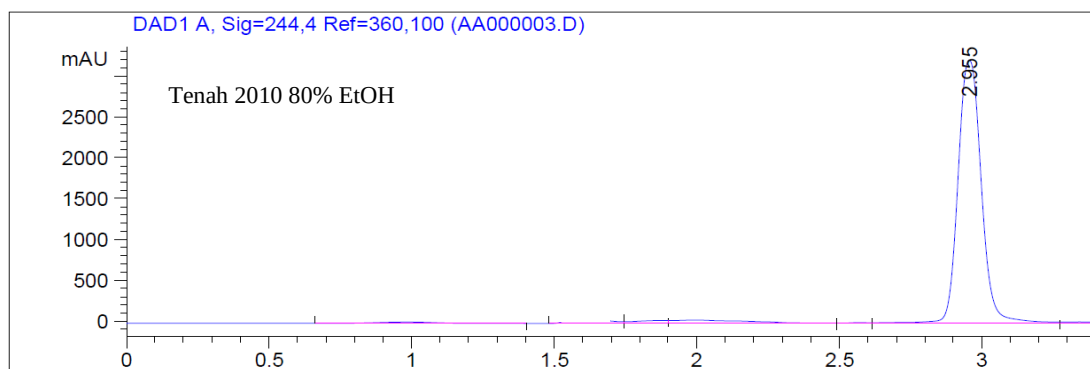
Slika 29. HPLC hromatogram ukupnog vitamina C ($r_t=2.73$) soka sorte Tenah iz 2010. godine



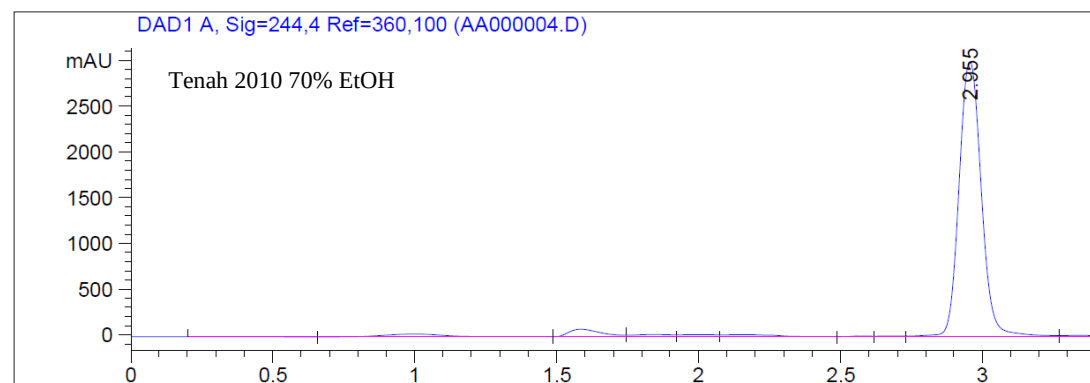
Slika 30. HPLC hromatogram vitamina C ($r_t=2.73$) soka sorte Tenah iz 2010. godine



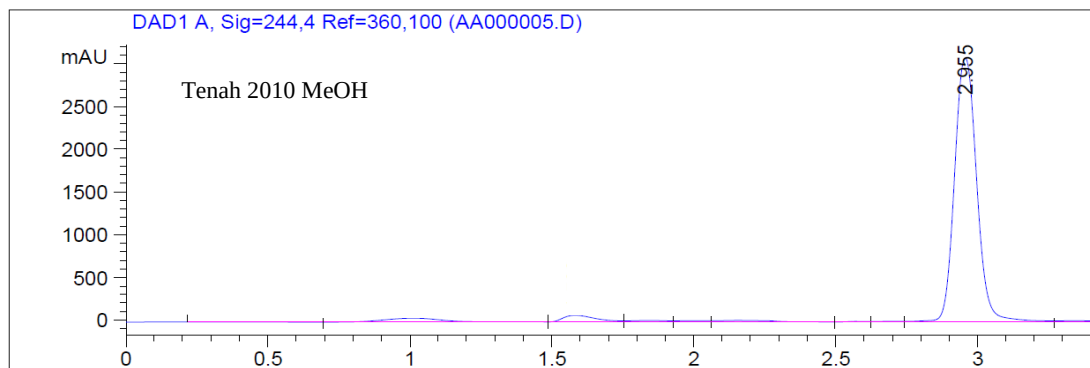
Slika 31. HPLC hromatogram ukupnog vitamina C ($r_t=2.95$) 70% etanolnog ekstrakta sorte Tenah iz 2010. godine



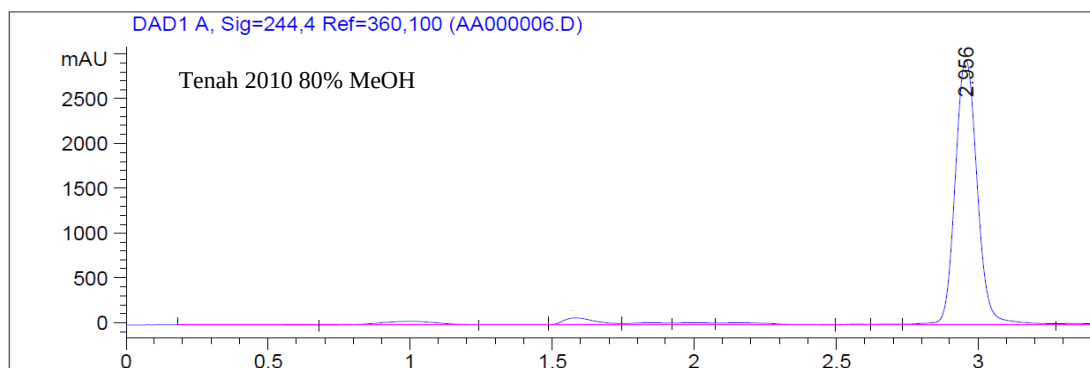
Slika 32. HPLC hromatogram vitamina C ($r_t=2.95$) 80% etanolnog ekstrakta sorte Tenah iz 2010. godine



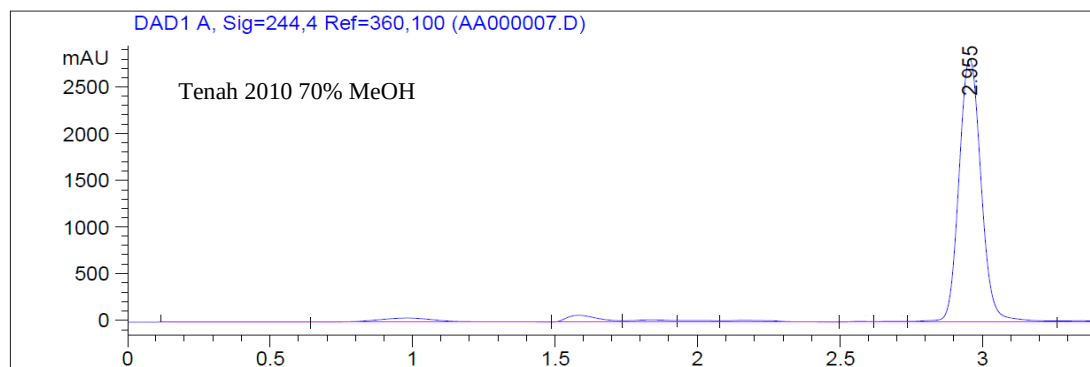
Slika 33. HPLC hromatogram vitamina C ($r_t=2.95$) 70% etanolnog ekstrakta sorte Tenah iz 2010. godine



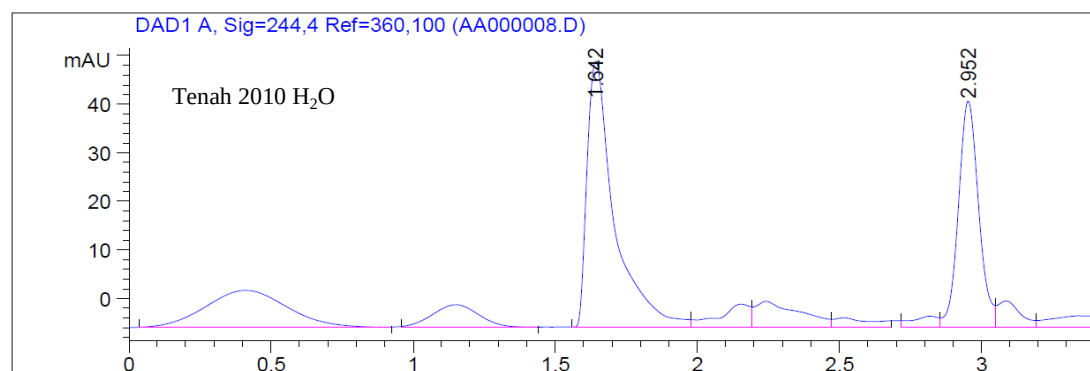
Slika 34. HPLC hromatogram vitamina C ($r_t=2.95$) metanolnog ekstrakta sorte Tenah iz 2010. godine



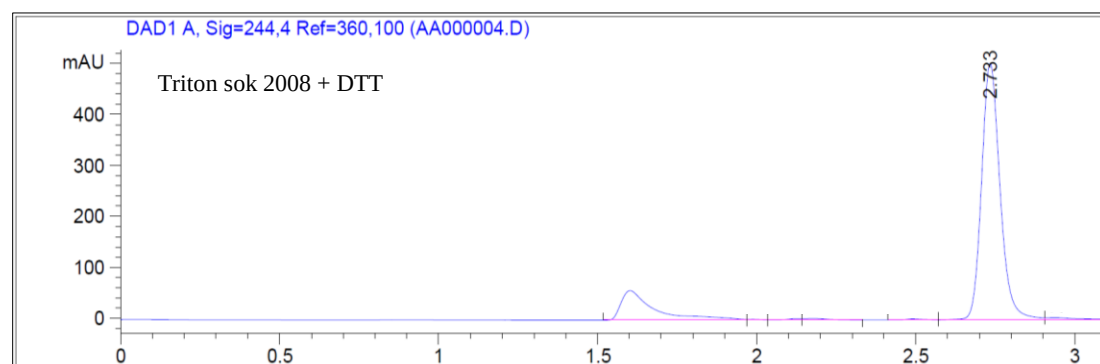
Slika 35. HPLC hromatogram vitamina C ($r_t=2.95$) 80% metanolnog ekstrakta sorte Tenah iz 2010. godine



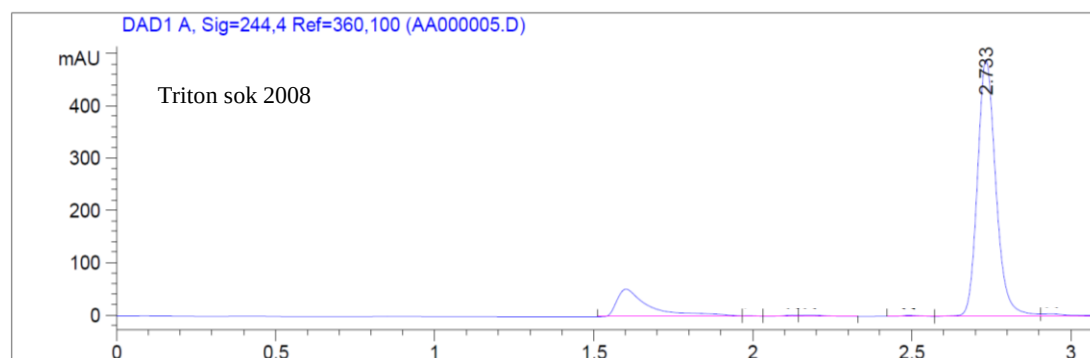
Slika 36. HPLC hromatogram vitamina C ($r_t=2.95$) 70% metanolnog ekstrakta sorte Tenah iz 2010. godine



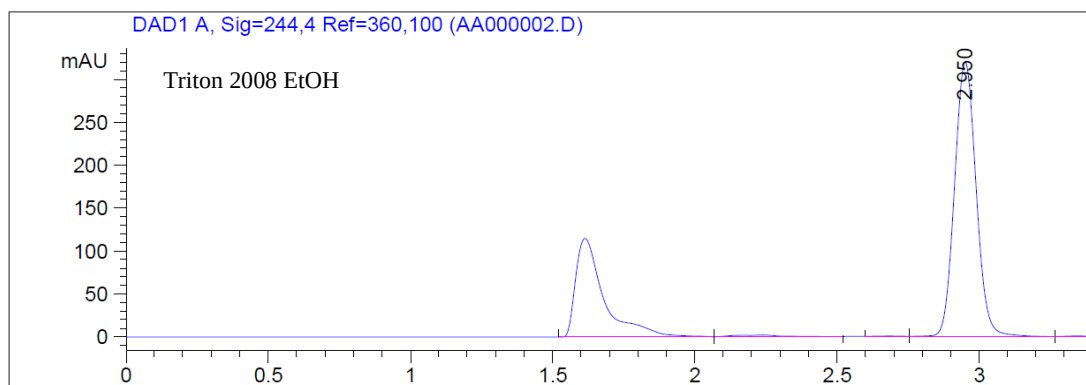
Slika 37. HPLC hromatogram ukupnog vitamina C ($r_t=2.95$) vodenog ekstrakta sorte Tenah iz 2010. godine



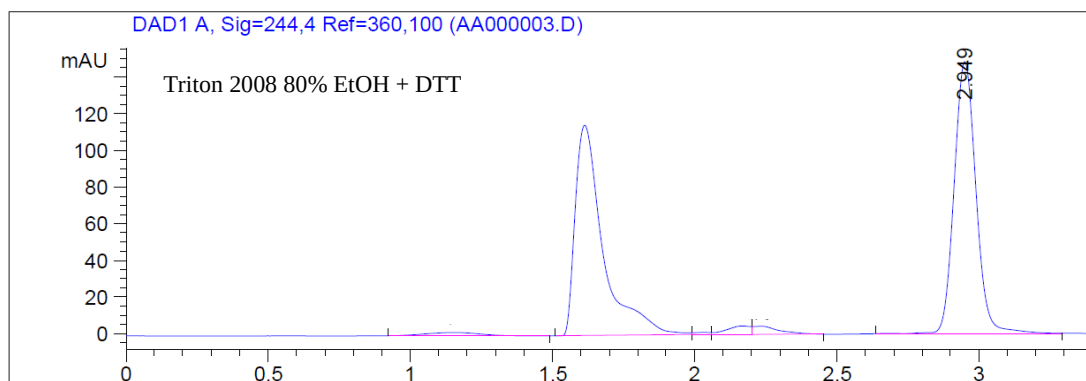
Slika 38. HPLC hromatogram ukupnog vitamina C ($r_t=2.73$) soka sorte Triton iz 2008. godine



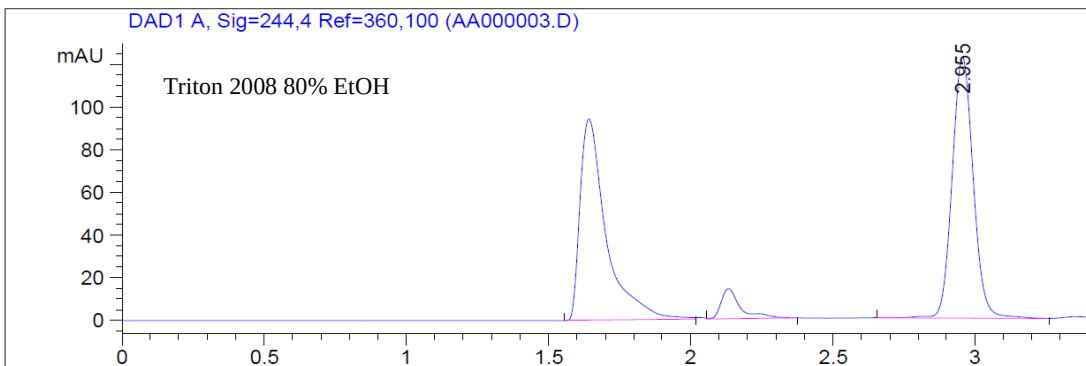
Slika 39. HPLC hromatogram vitamina C ($r_t=2.73$) soka sorte Triton iz 2008. godine



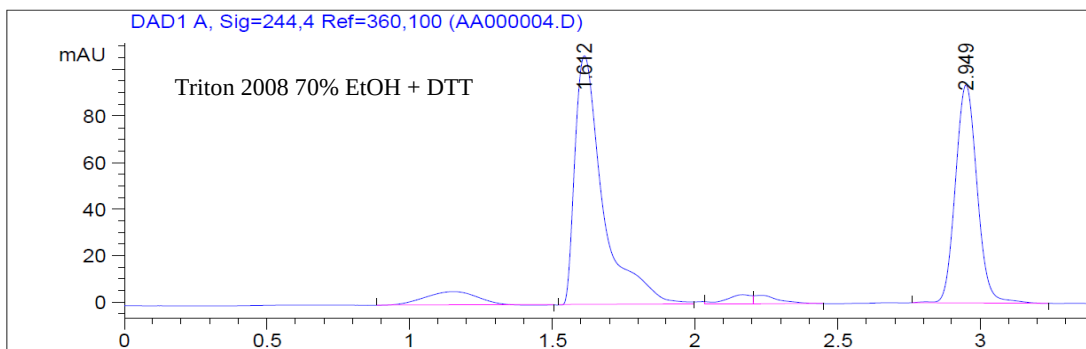
Slika 40. HPLC hromatogram vitamina C ($r_t=2.95$) etanolnog ekstrakta sorte Triton iz 2008. godine



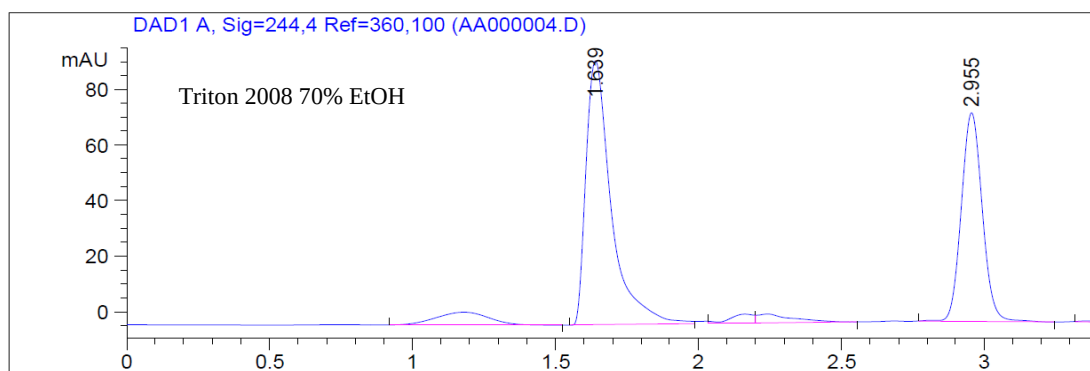
Slika 41. HPLC hromatogram ukupnog vitamina C ($r_t=2.95$) etanolnog ekstrakta sorte Triton iz 2008. godine



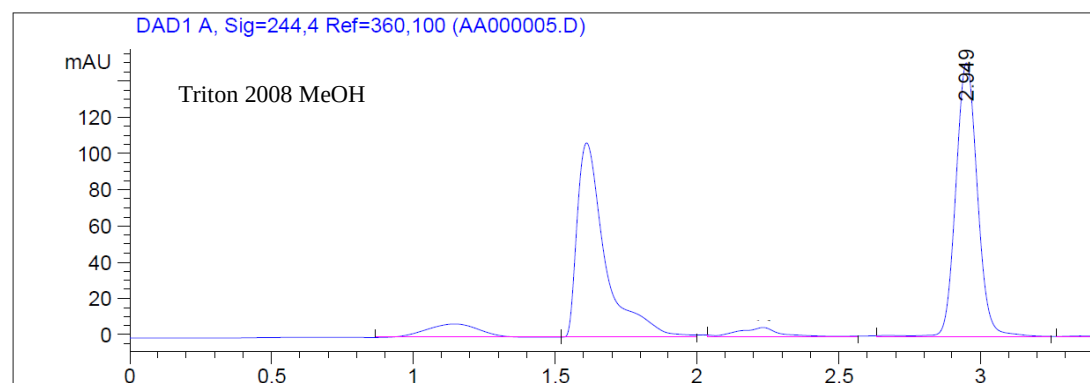
Slika 42. HPLC hromatogram vitamina C ($r_t=2.95$) 80% etanolnog ekstrakta sorte Triton iz 2008. godine



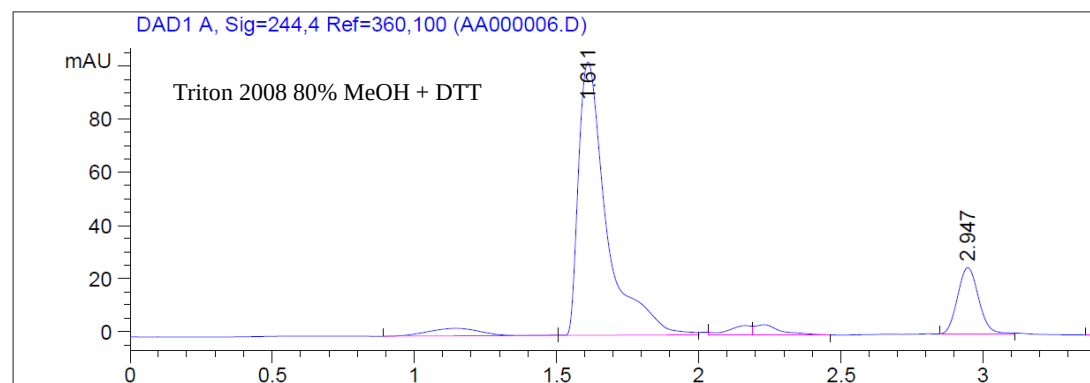
Slika 43. HPLC hromatogram ukupnog vitamina C ($r_t=2.95$) 70% etanolnog ekstrakta sorte Triton iz 2008. godine



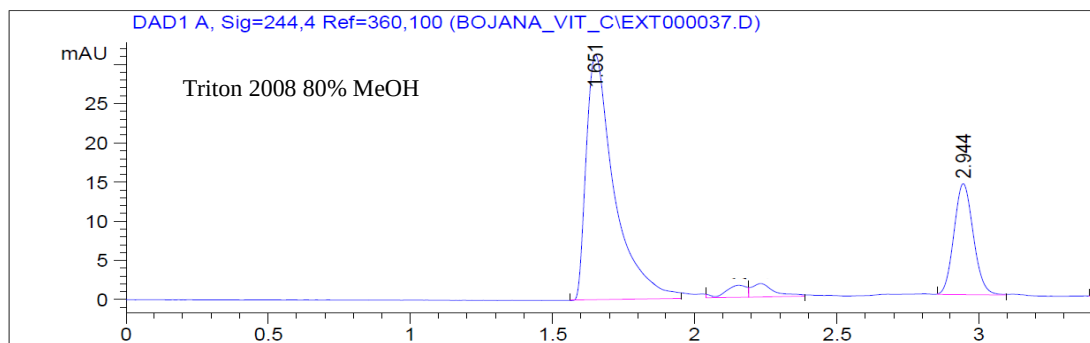
Slika 44. HPLC hromatogram vitamina C ($r_t=2.95$) 70% etanolnog ekstrakta sorte Triton iz 2008. godine



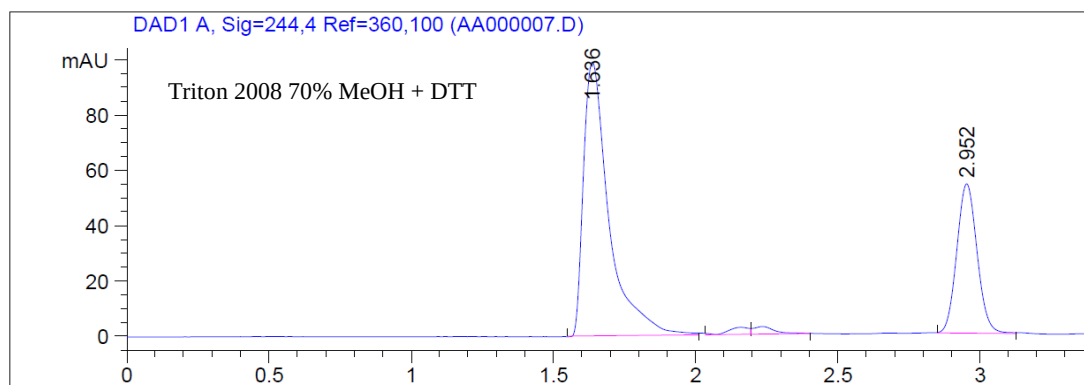
Slika 45. HPLC hromatogram vitamina C ($r_t=2.95$) metanolnog ekstrakta sorte Triton iz 2008. godine



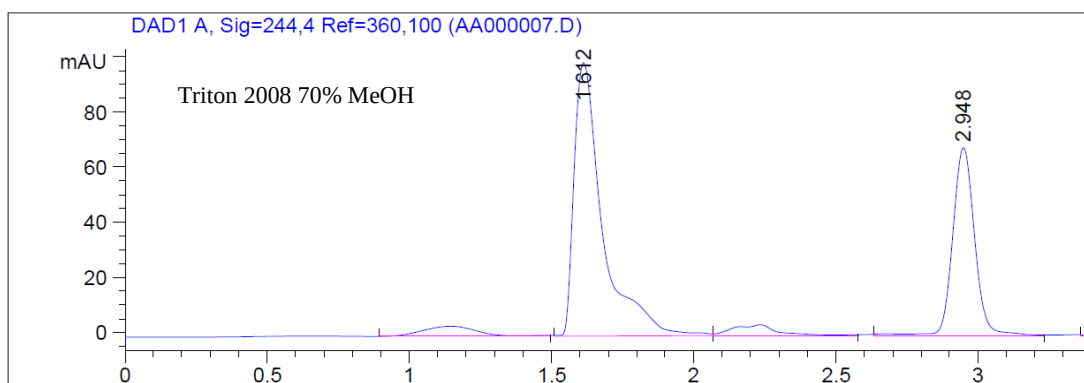
Slika 46. HPLC hromatogram ukupnog vitamina C ($r_t=2.95$) 80% metanolnog ekstrakta sorte Triton iz 2008. godine



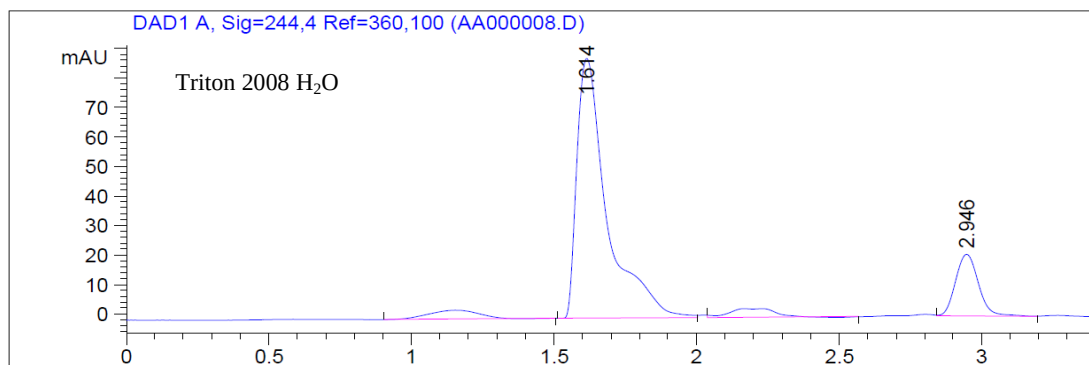
Slika 47. HPLC hromatogram vitamina C ($r_t=2.95$) 80% metanolnog ekstrakta sorte Triton iz 2008. godine



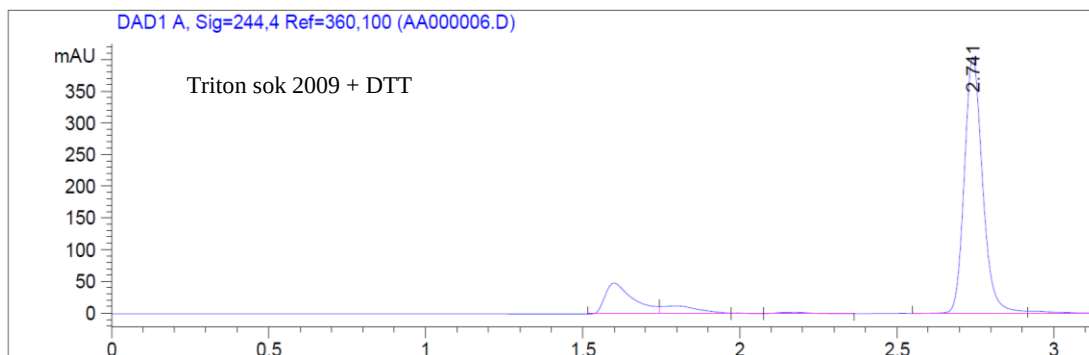
Slika 48. HPLC hromatogram ukupnog vitamina C ($r_t=2.95$) 70% metanolnog ekstrakta sorte Triton iz 2008. godine



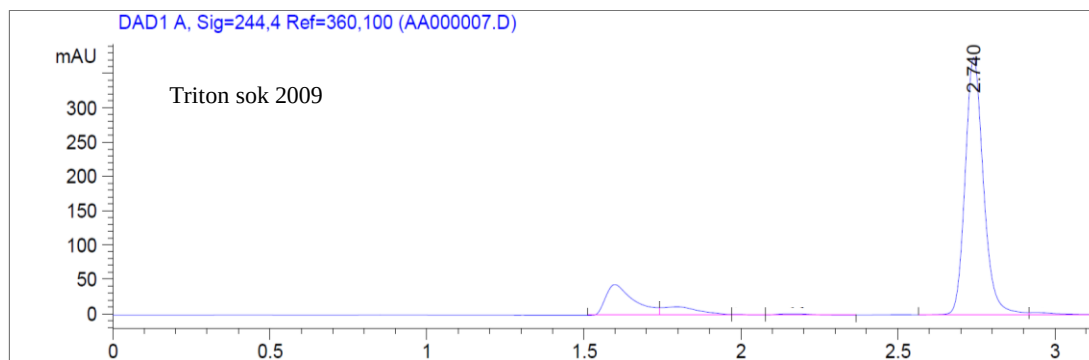
Slika 49. HPLC hromatogram vitamina C ($r_t=2.95$) 70% metanolnog ekstrakta sorte Triton iz 2008. godine



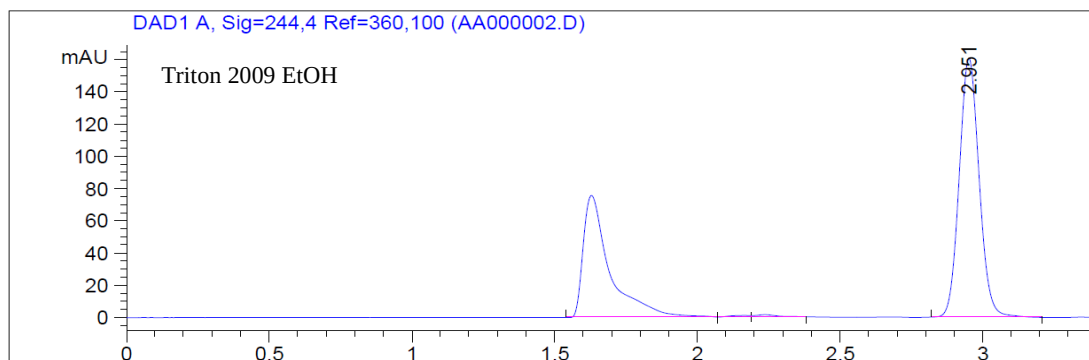
Slika 50. HPLC hromatogram vitamina C ($r_t=2.95$) vodenog ekstrakta sorte Triton iz 2008. godine



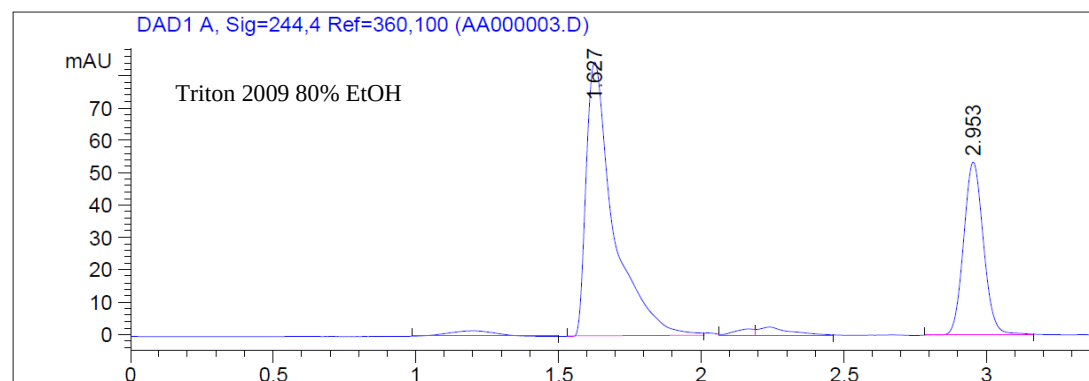
Slika 51. HPLC hromatogram ukupnog vitamina C ($r_t=2.74$) soka sorte Triton iz 2009. godine



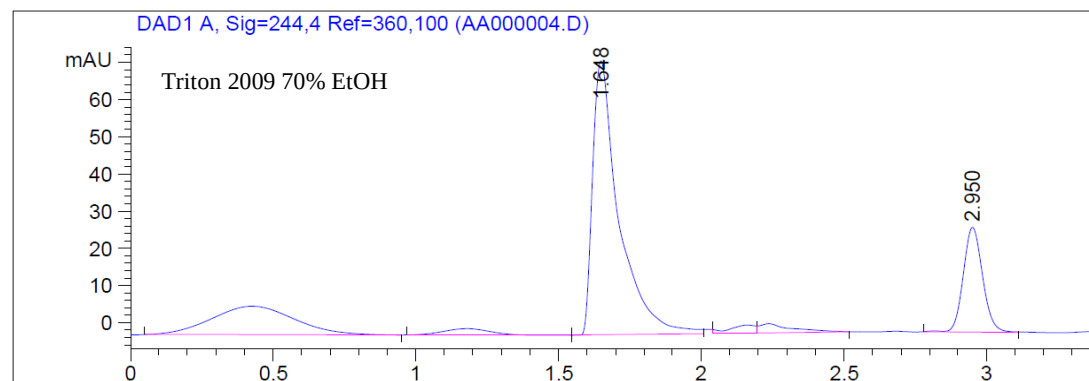
Slika 52. HPLC hromatogram vitamina C ($r_t=2.74$) soka sorte Triton iz 2009. godine



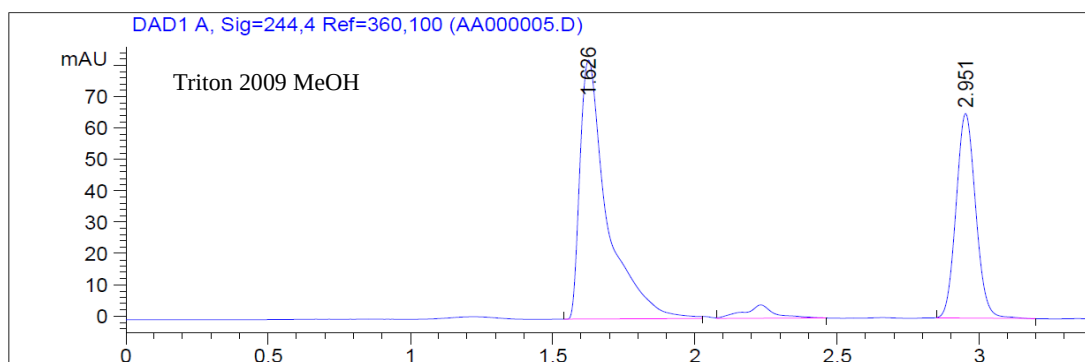
Slika 53. HPLC hromatogram vitamina C ($r_t=2.95$) etanolnog ekstrakta sorte Triton iz 2009. godine



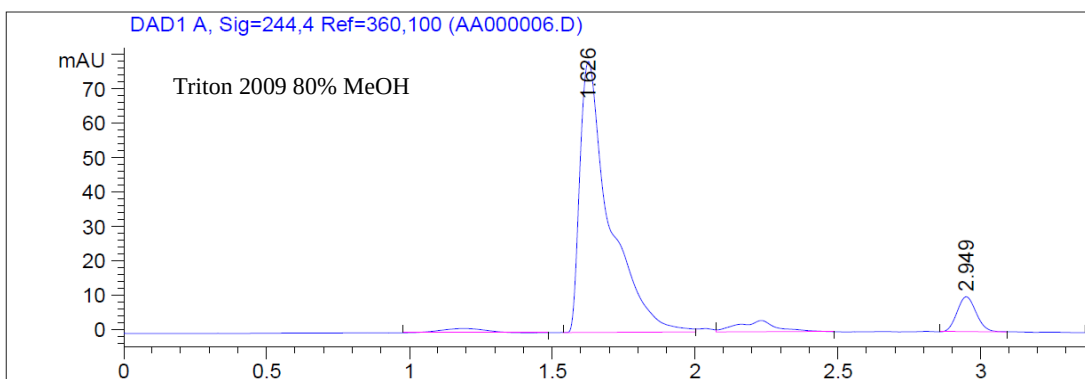
Slika 54. HPLC hromatogram vitamina C ($r_t=2.95$) 80% etanolnog ekstrakta sorte Triton iz 2009. godine



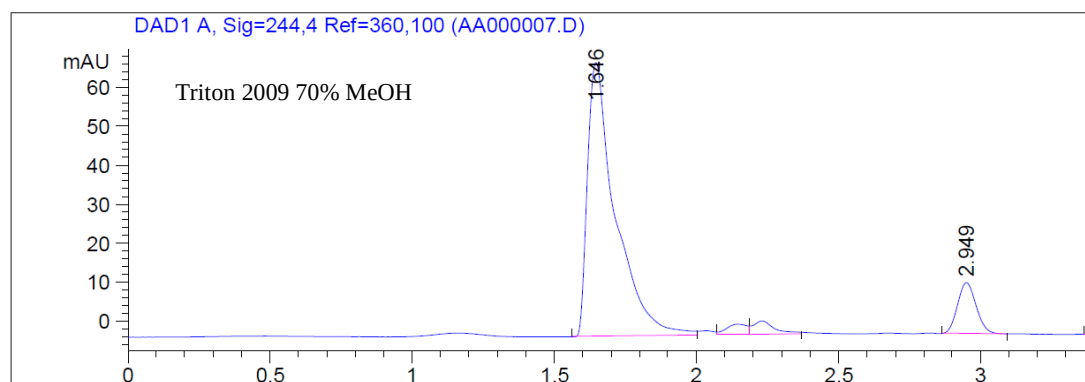
Slika 55. HPLC hromatogram vitamina C ($r_t=2.95$) 70% etanolnog ekstrakta sorte Triton iz 2009. godine



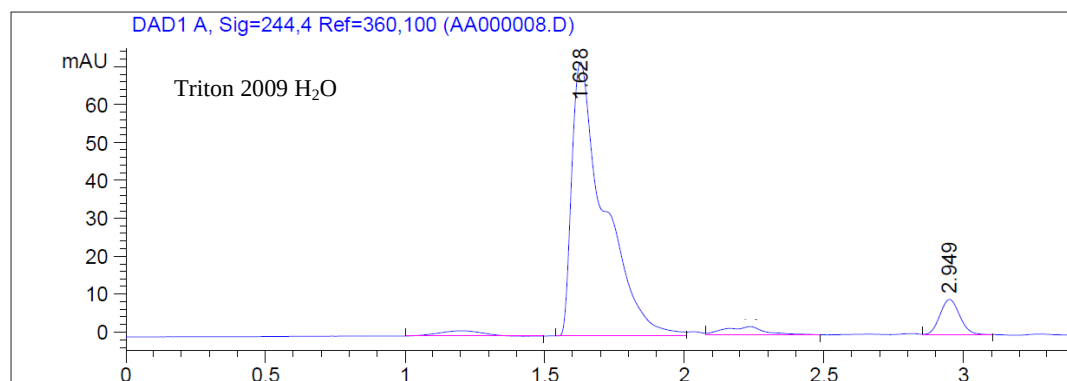
Slika 56. HPLC hromatogram vitamina C ($r_t=2.95$) metanolnog ekstrakta sorte Triton iz 2009. godine



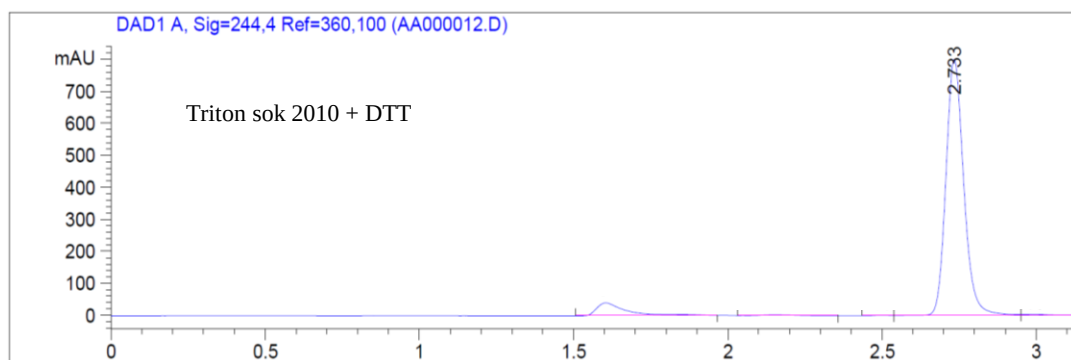
Slika 57. HPLC hromatogram vitamina C ($r_t=2.95$) 80% metanolnog ekstrakta sorte Triton iz 2009. godine



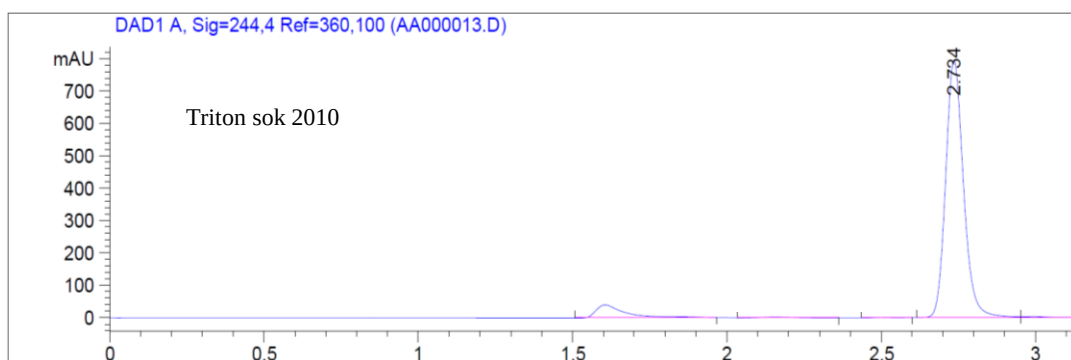
Slika 58. HPLC hromatogram vitamina C ($r_t=2.95$) 70% metanolnog ekstrakta sorte Triton iz 2009. godine



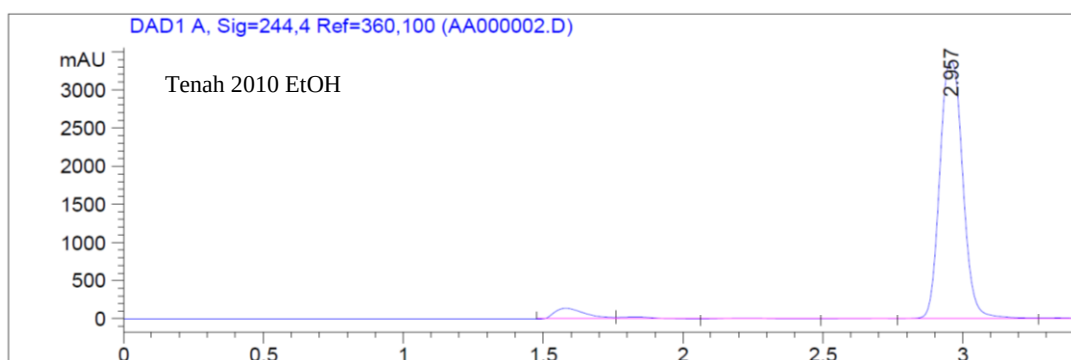
Slika 59. HPLC hromatogram vitamina C ($r_t=2.95$) vodenog ekstrakta sorte Triton iz 2009. godine



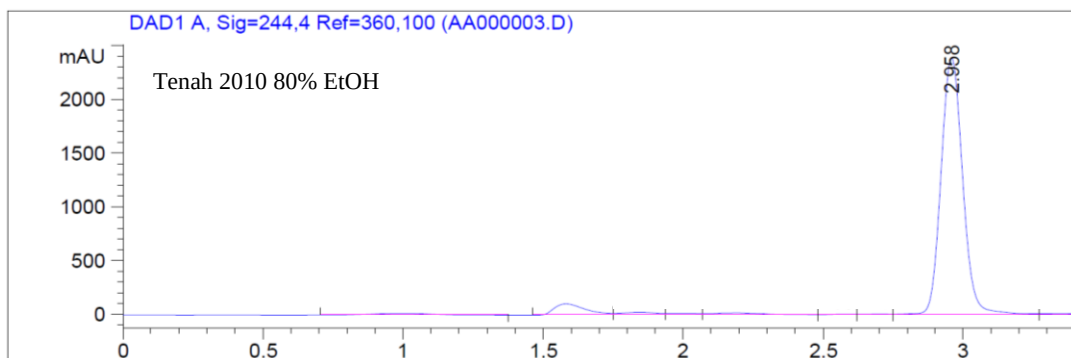
Slika 60. HPLC hromatogram ukupnog vitamina C ($r_t=2.73$) soka sorte Triton iz 2010. godine



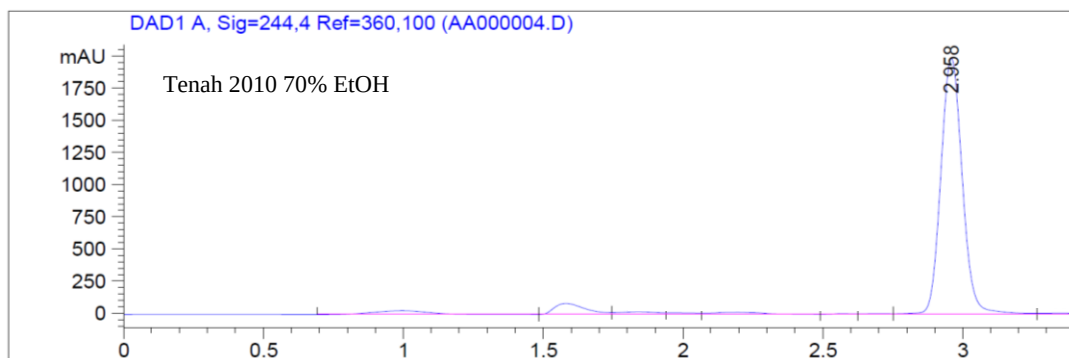
Slika 61. HPLC hromatogram vitamina C ($r_t=2.73$) soka sorte Triton iz 2010. godine



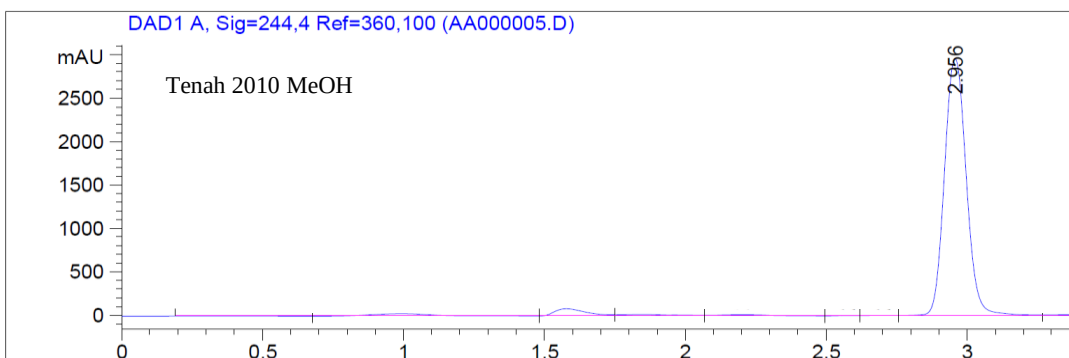
Slika 62. HPLC hromatogram vitamina C ($r_t=2.95$) etanolnog ekstrakta sorte Triton iz 2010. godine



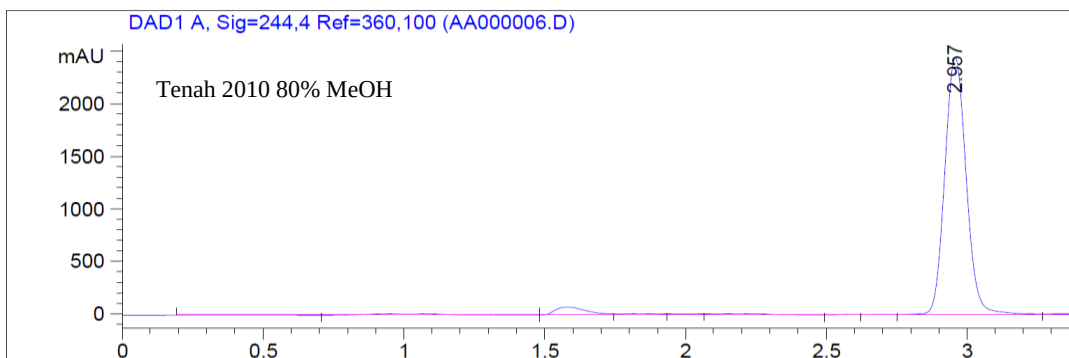
Slika 63. HPLC hromatogram vitamina C ($r_t=2.95$) 80% etanolnog ekstrakta sorte Triton iz 2010. godine



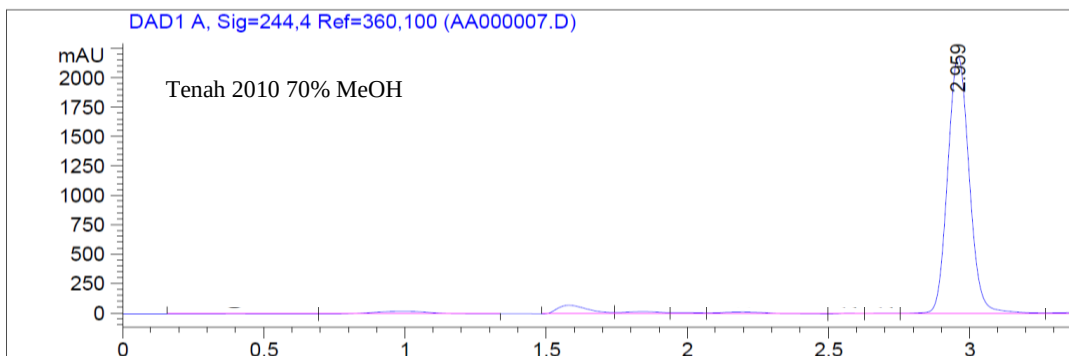
Slika 64. HPLC hromatogram vitamina C ($r_t=2.95$) 70% etanolnog ekstrakta sorte Triton iz 2010. godine



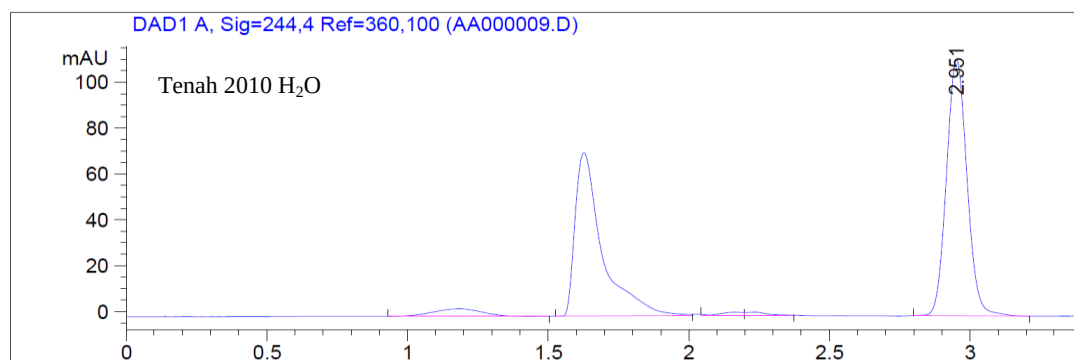
Slika 65. HPLC hromatogram vitamina C ($r_t=2.95$) metanolnog ekstrakta sorte Triton iz 2010. godine



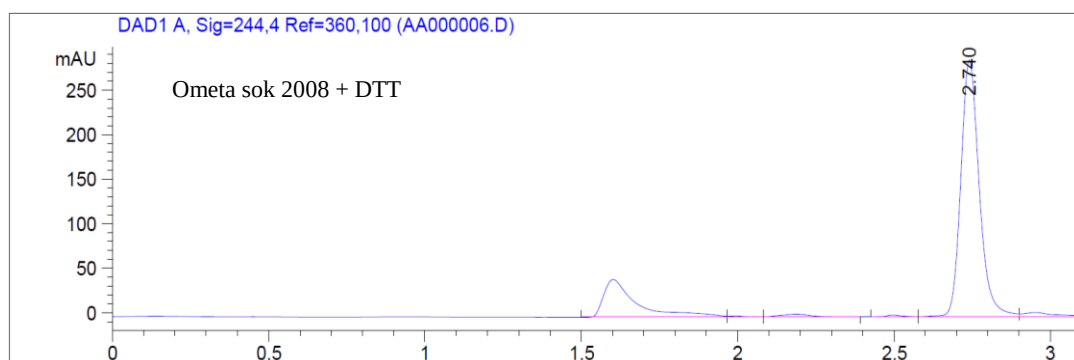
Slika 66. HPLC hromatogram vitamina C ($r_t=2.95$) 80% metanolnog ekstrakta sorte Triton iz 2010. godine



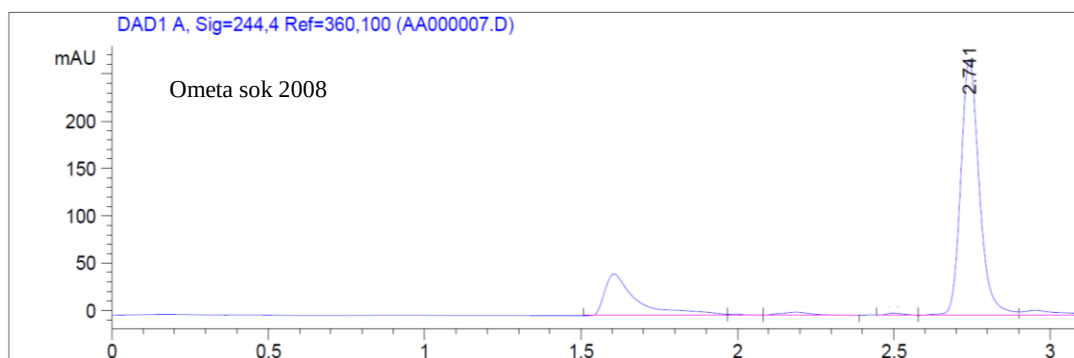
Slika 67. HPLC hromatogram vitamina C ($r_t=2.95$) 70% metanolnog ekstrakta sorte Triton iz 2010. godine



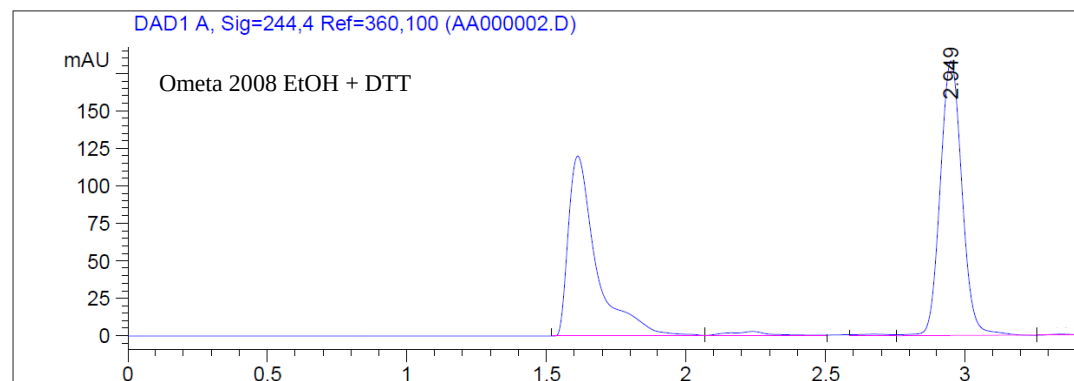
Slika 68. HPLC hromatogram vitamina C ($r_t=2.95$) vodenog ekstrakta sorte Triton iz 2010. godine



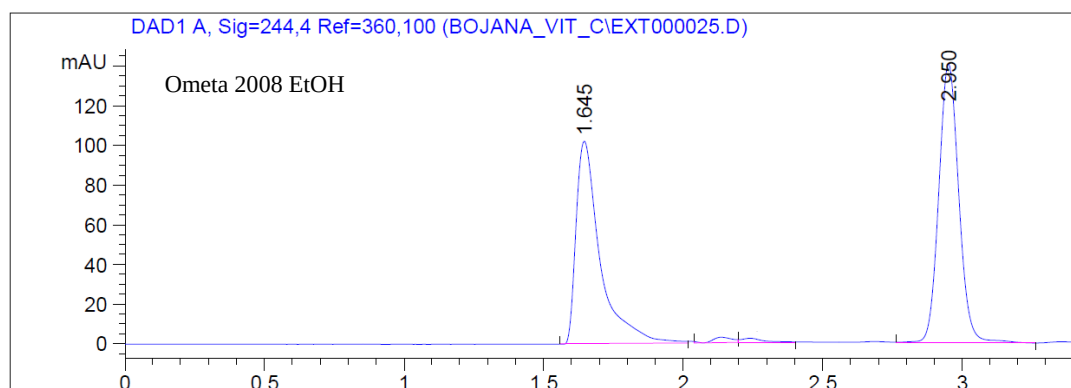
Slika 69. HPLC hromatogram ukupnog vitamina C ($r_t=2.74$) soka sorte Ometa iz 2008. godine



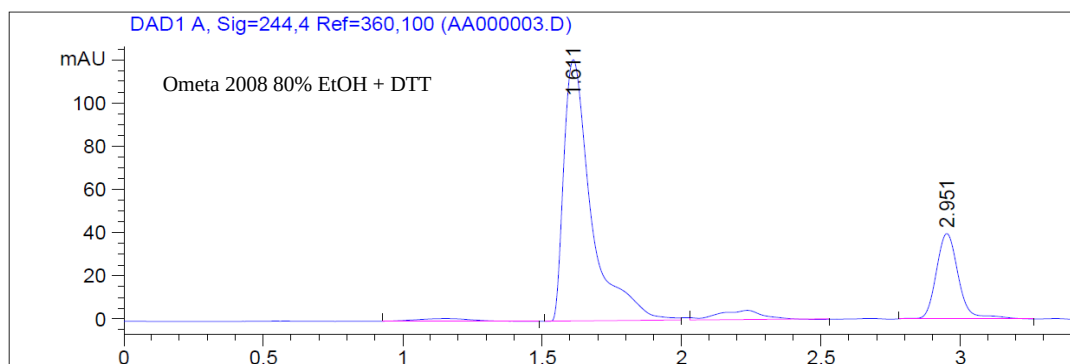
Slika 70. HPLC hromatogram vitamina C ($r_t=2.74$) soka sorte Ometa iz 2008. godine



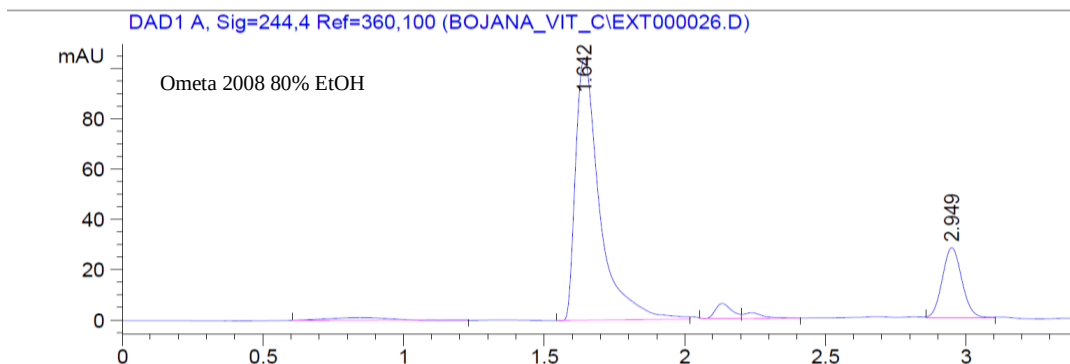
Slika 71. HPLC hromatogram ukupnog vitamina C ($r_t=2.95$) etanolnog ekstrakta sorte Ometa iz 2008. godine



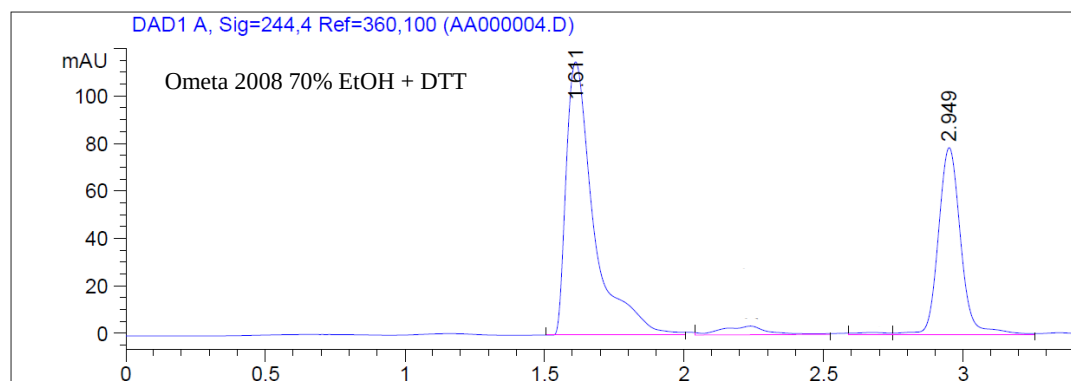
Slika 72. HPLC hromatogram vitamina C ($r_t=2.95$) etanolnog ekstrakta sorte Ometa iz 2008. godine



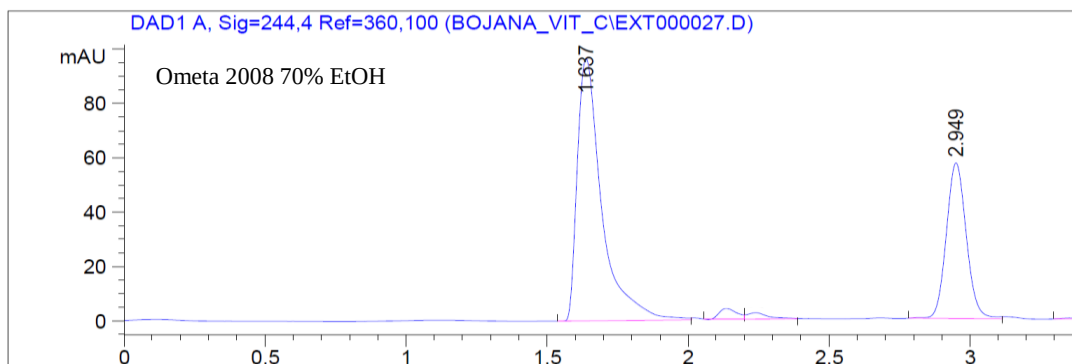
Slika 73. HPLC hromatogram ukupnog vitamina C ($r_t=2.95$) 80% etanolnog ekstrakta sorte Ometa iz 2008. godine



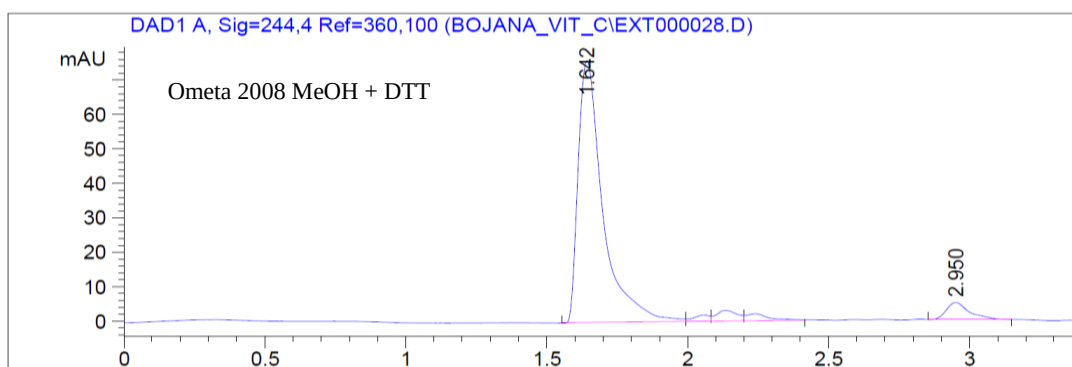
Slika 74. HPLC hromatogram vitamina C ($r_t=2.95$) 80% etanolnog ekstrakta sorte Ometa iz 2008. godine



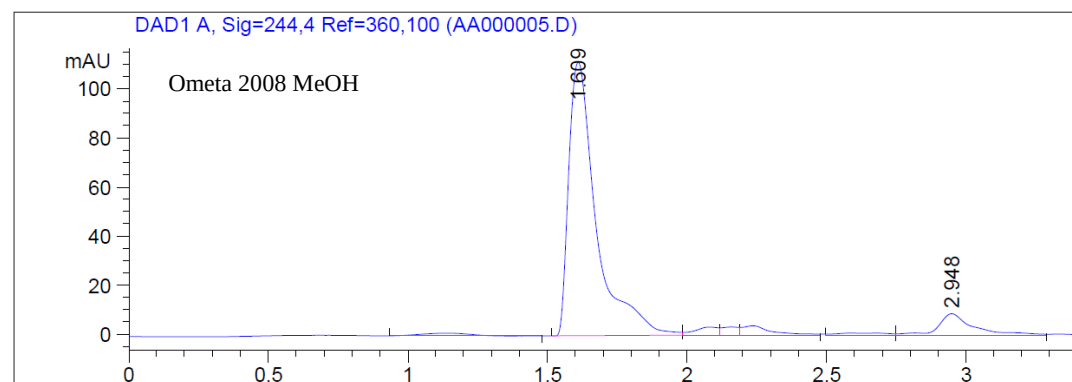
Slika 75. HPLC hromatogram ukupnog vitamina C 70% etanolnog ekstrakta sorte Ometa iz 2008. godine



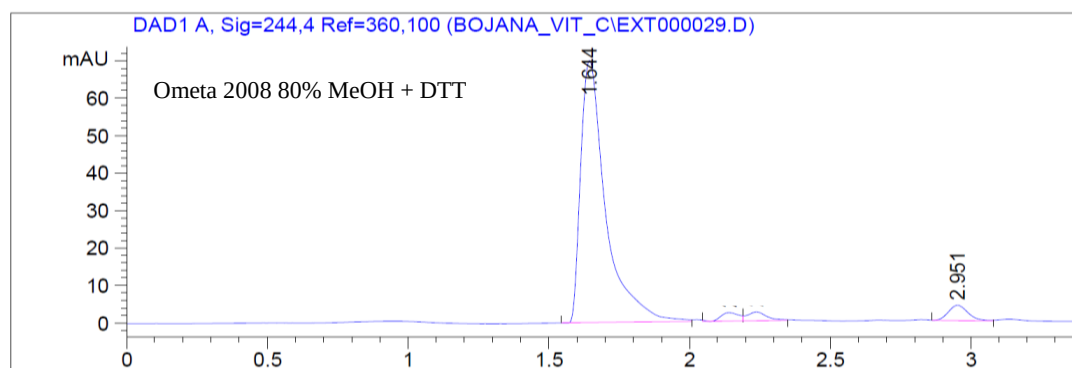
Slika 76. HPLC hromatogram vitamina C ($r_t=2.95$) 70% etanolnog ekstrakta sorte Ometa iz 2008. godine



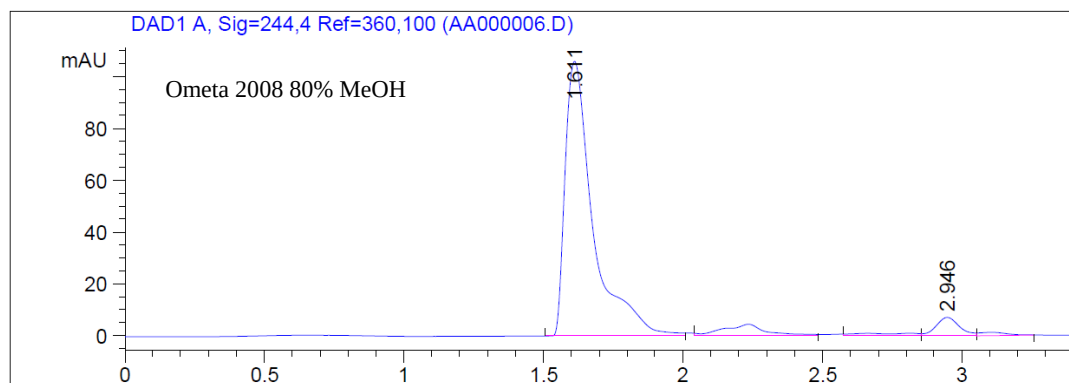
Slika 77. HPLC hromatogram ukupnog vitamina C ($r_t=2.95$) metanolnog ekstrakta sorte Ometa iz 2008. godine



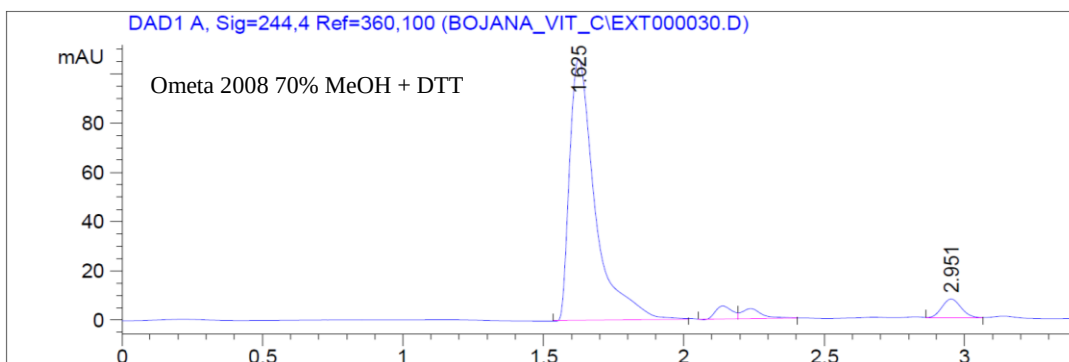
Slika 78. HPLC hromatogram vitamina C ($r_t=2.95$) metanolnog ekstrakta sorte Ometa iz 2008. godine



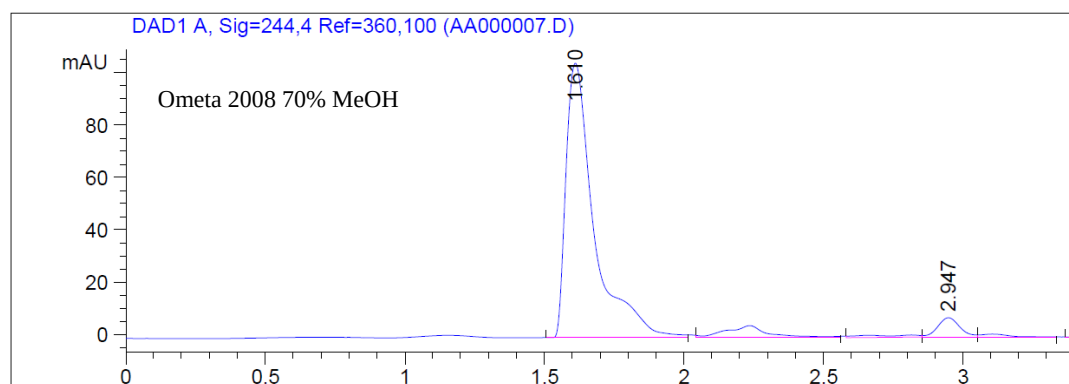
Slika 79. HPLC hromatogram ukupnog vitamina C ($r_t=2.95$) 80% metanolnog ekstrakta sorte Ometa iz 2008. godine



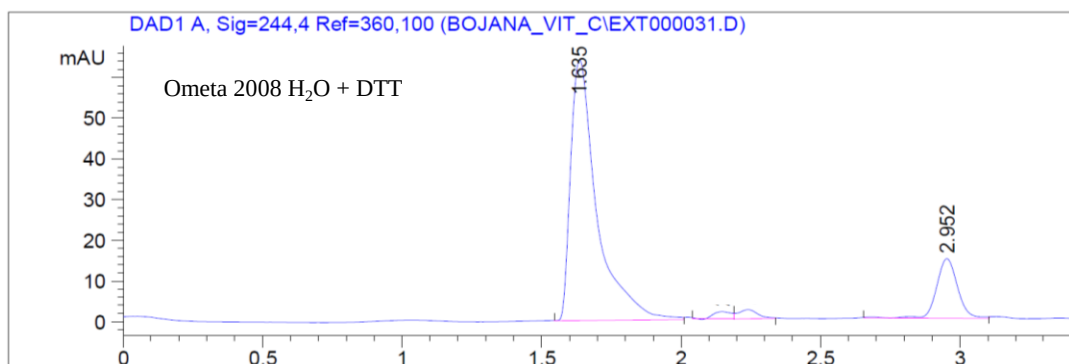
Slika 80. HPLC hromatogram vitamina C ($r_t=2.95$) 80% metanolnog ekstrakta sorte Ometa iz 2008. godine



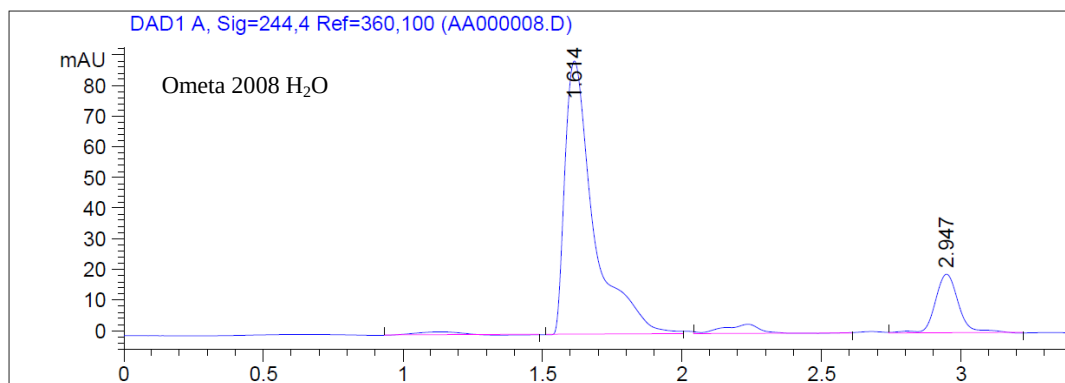
Slika 81. HPLC hromatogram ukupnog vitamina C ($r_t=2.95$) 70% metanolnog ekstrakta sorte Ometa iz 2008. godine



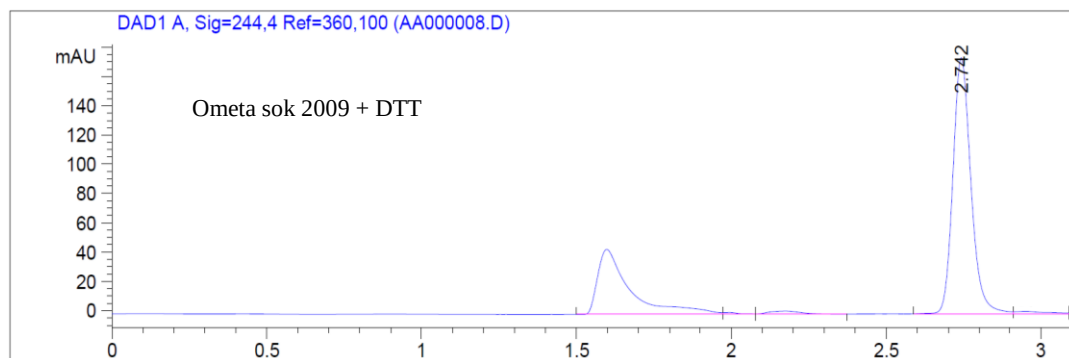
Slika 82. HPLC hromatogram vitamina C ($r_t=2.95$) 70% metanolnog ekstrakta sorte Ometa iz 2008. godine



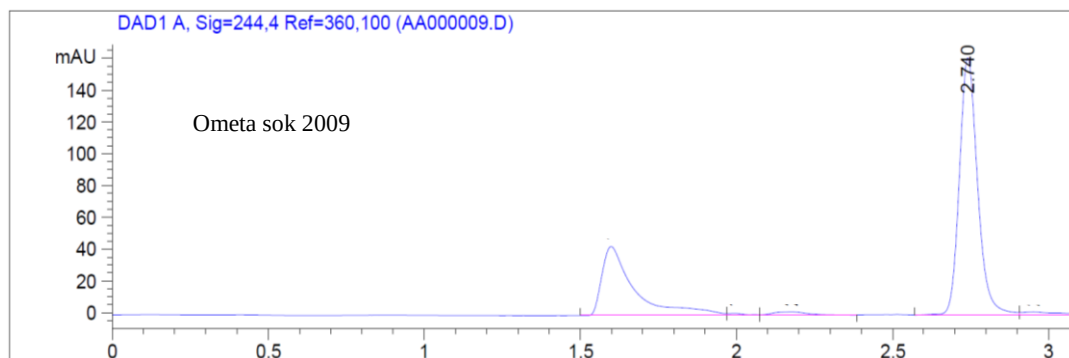
Slika 83. HPLC hromatogram ukupnog vitamina C ($r_t=2.95$) vodenog ekstrakta sorte Ometa iz 2008. godine



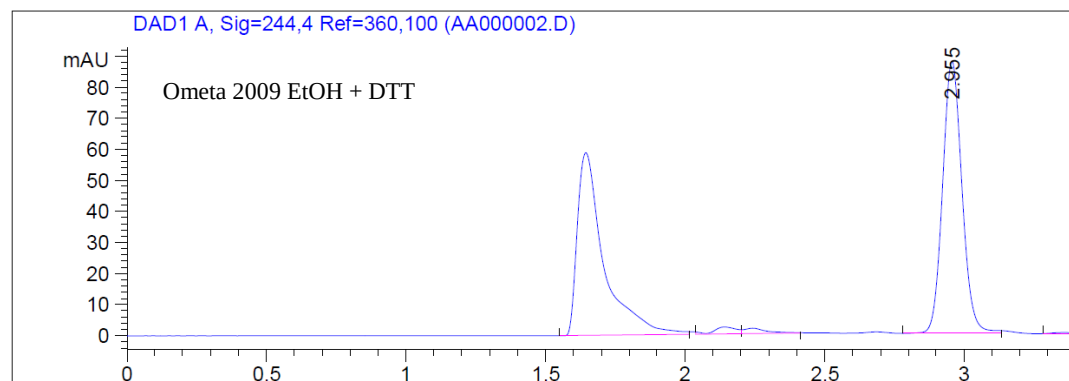
Slika 84. HPLC hromatogram vitamina C ($r_t=2.95$) vodenog ekstrakta sorte Ometa iz 2008. godine



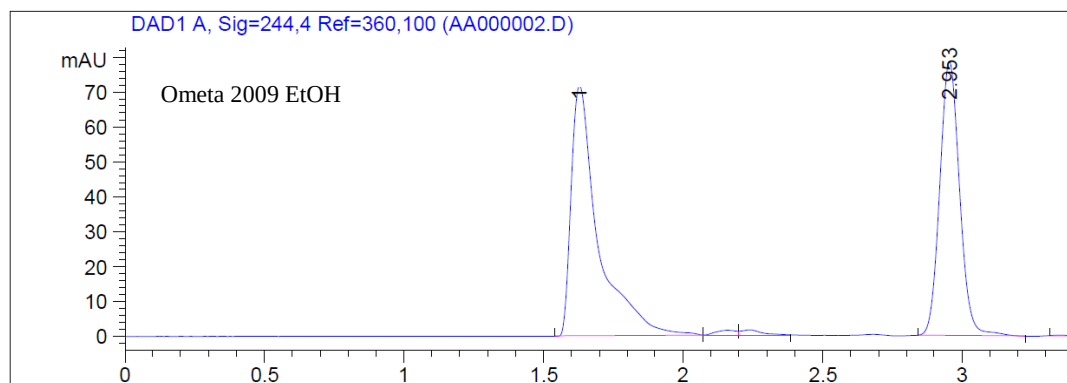
Slika 85. HPLC hromatogram ukupnog vitamina C ($r_t=2.74$) soka sorte Ometa iz 2009. godine



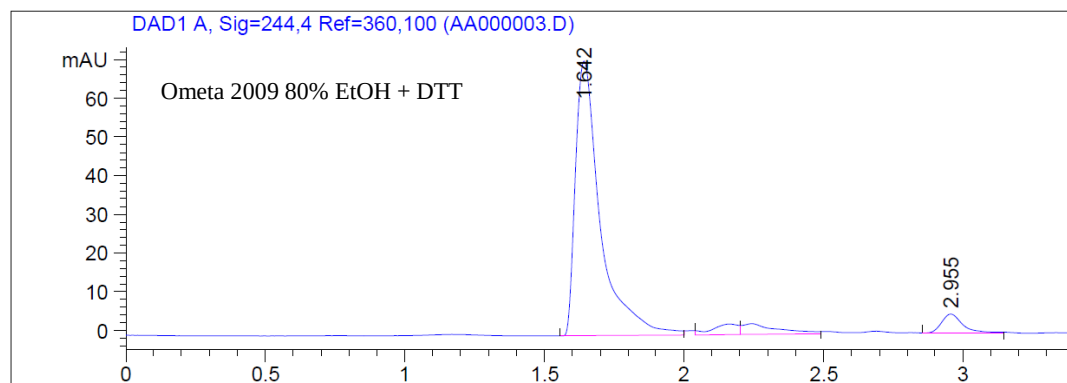
Slika 86. HPLC hromatogram vitamina C ($r_t=2.74$) soka sorte Ometa iz 2009. godine



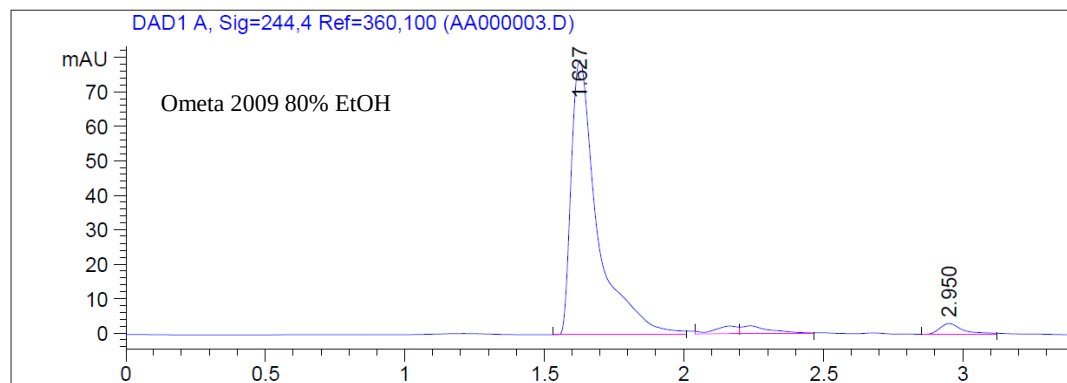
Slika 87. HPLC hromatogram vitamina C ($r_t=2.95$) etanolnog ekstrakta sorte Ometa iz 2009. godine



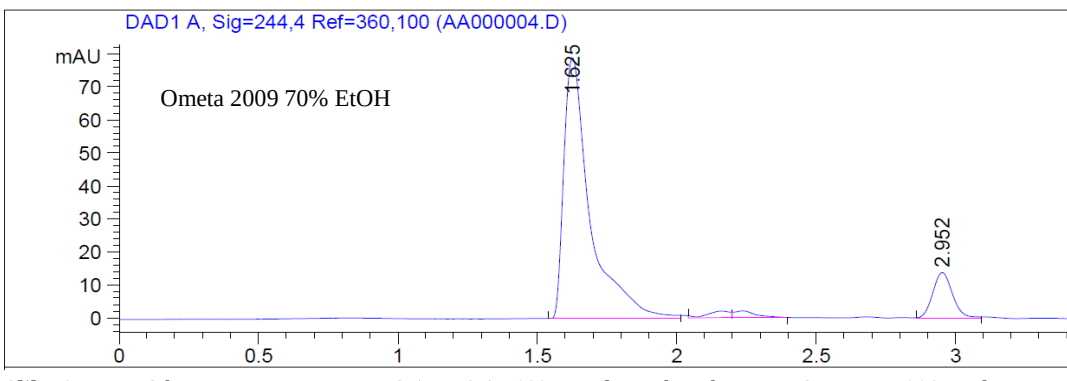
Slika 88. HPLC hromatogram vitamina C ($r_t=2.95$) etanolnog ekstrakta sorte Omata iz 2009. godine



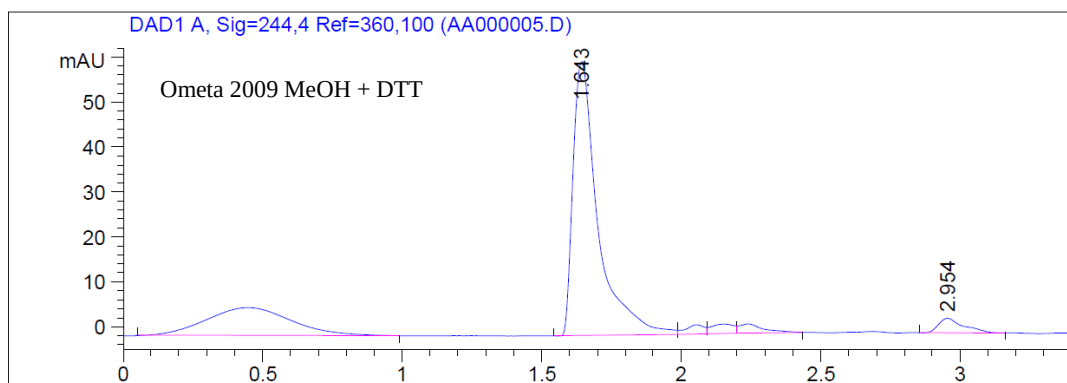
Slika 89. HPLC hromatogram ukupnog vitamina C ($r_t=2.95$) 80% etanolnog ekstrakta sorte Omata iz 2009. godine



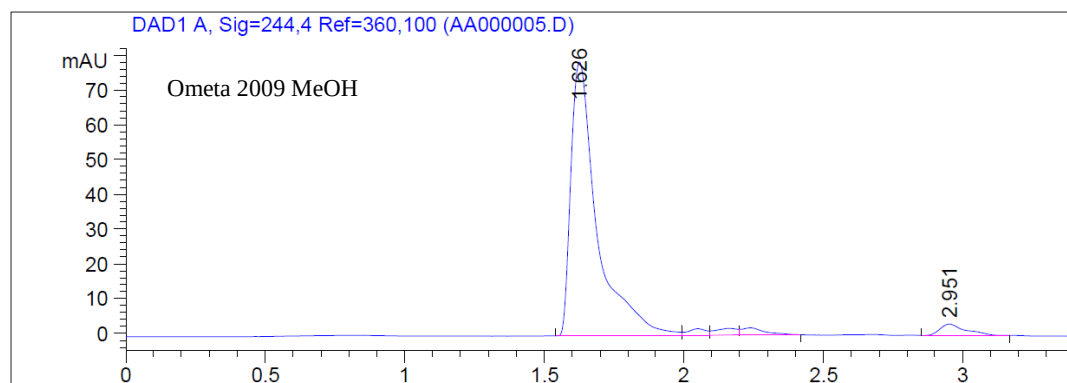
Slika 90. HPLC hromatogram vitamina C ($r_t=2.95$) 80% etanolnog ekstrakta sorte Omata iz 2009. godine



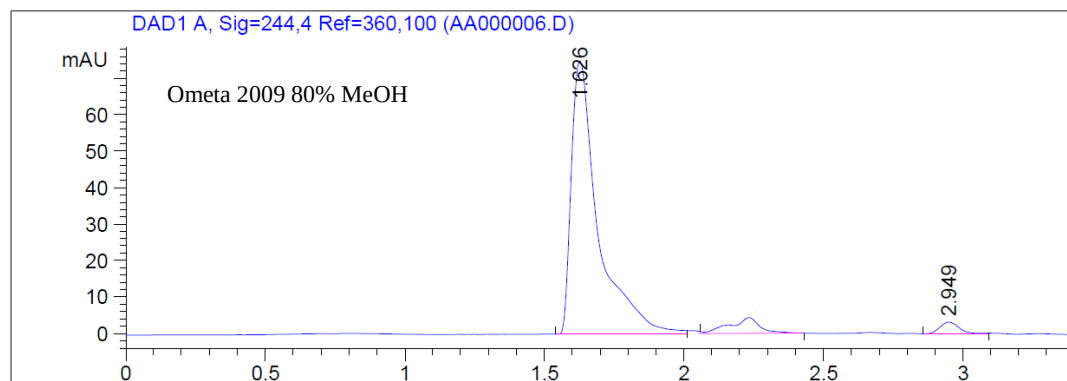
Slika 91. HPLC hromatogram vitamina C ($r_t=2.95$) 70% etanolnog ekstrakta sorte Omata iz 2009. godine



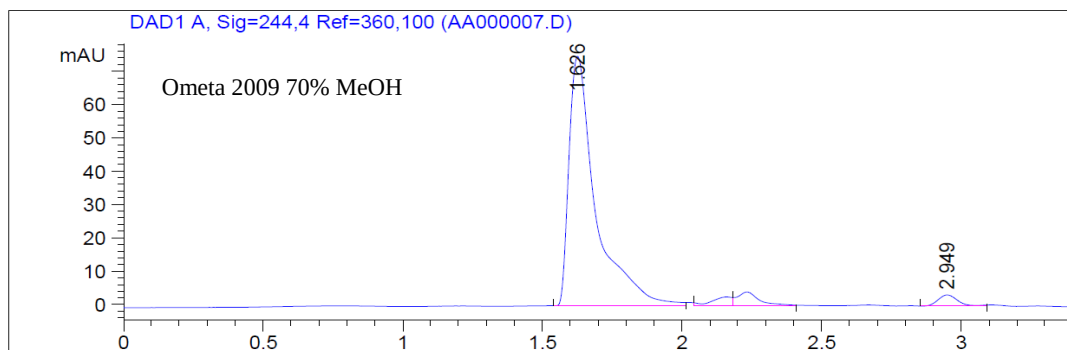
Slika 92. HPLC hromatogram ukupnog vitamina C ($r_t=2.95$) metanolnog ekstrakta sorte Ometa iz 2009. godine



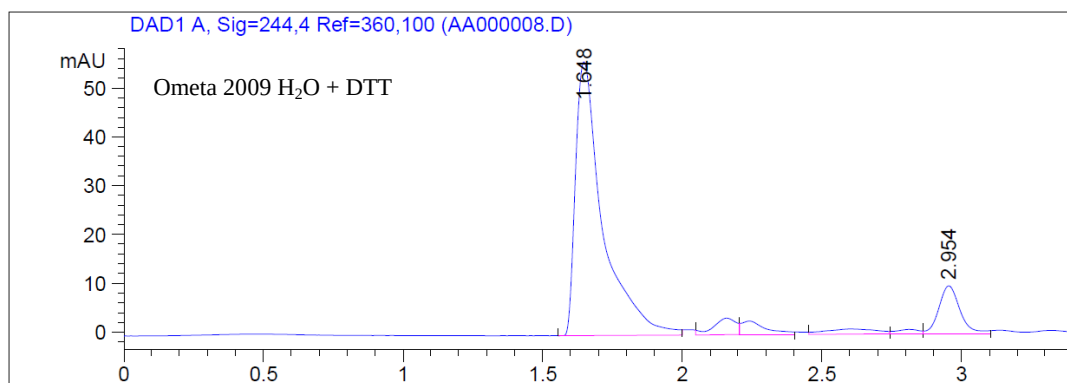
Slika 93. HPLC hromatogram vitamina C ($r_t=2.95$) metanolnog ekstrakta sorte Ometa iz 2009. godine



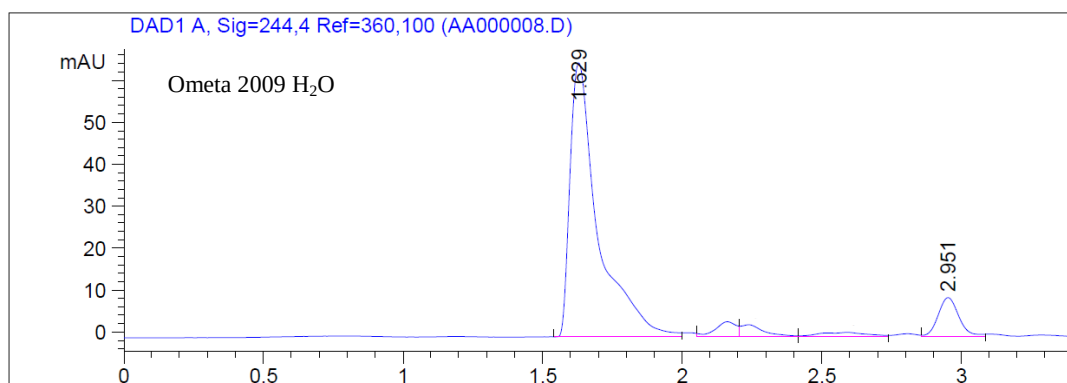
Slika 94. HPLC hromatogram vitamina C ($r_t=2.95$) 80% metanolnog ekstrakta sorte Ometa iz 2009. godine



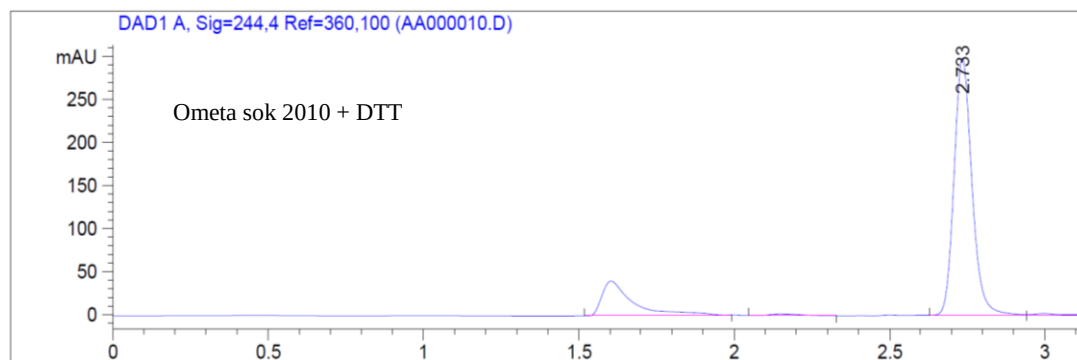
Slika 95. HPLC hromatogram vitamina C ($r_t=2.95$) 70% metanolnog ekstrakta sorte Ometa iz 2009. godine



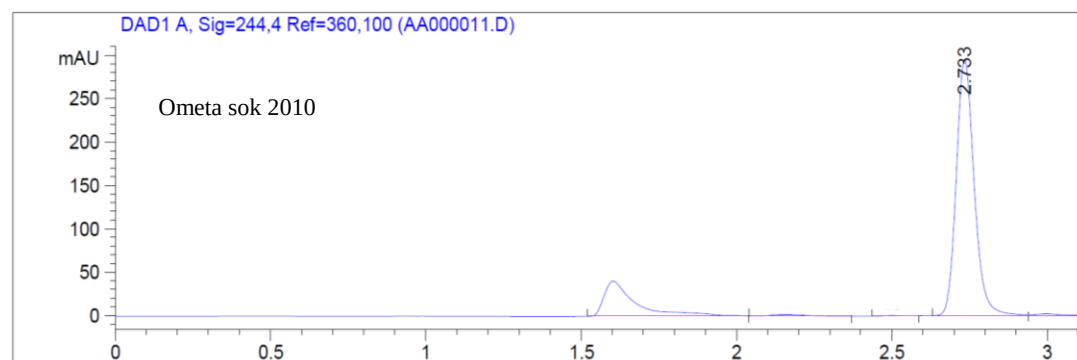
Slika 96. HPLC hromatogram ukupnog vitamina C ($r_t=2.95$) vodenog ekstrakta sorte Omata iz 2009. godine



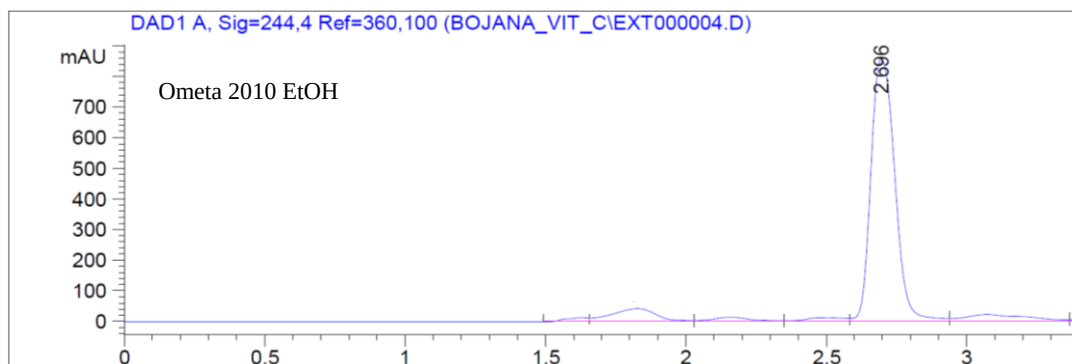
Slika 97. HPLC hromatogram vitamina C ($r_t=2.95$) vodenog ekstrakta sorte Omata iz 2009. godine



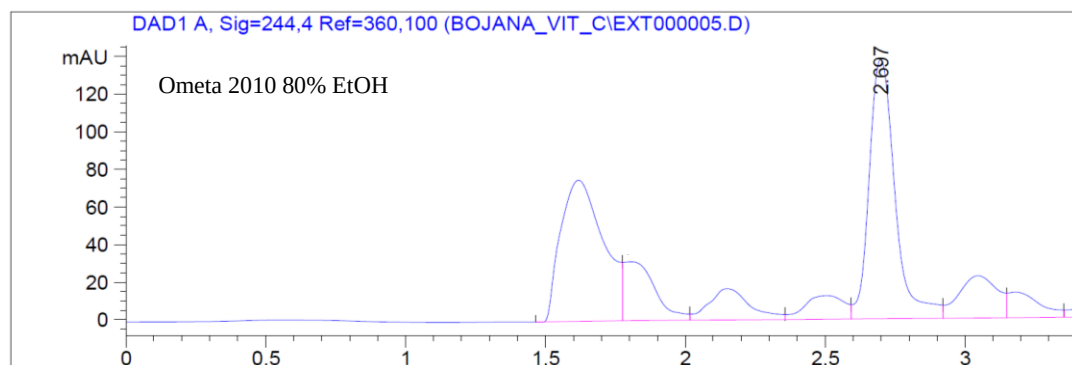
Slika 98. HPLC hromatogram ukupnog vitamina C ($r_t=2.73$) soka sorte Omata iz 2010. godine



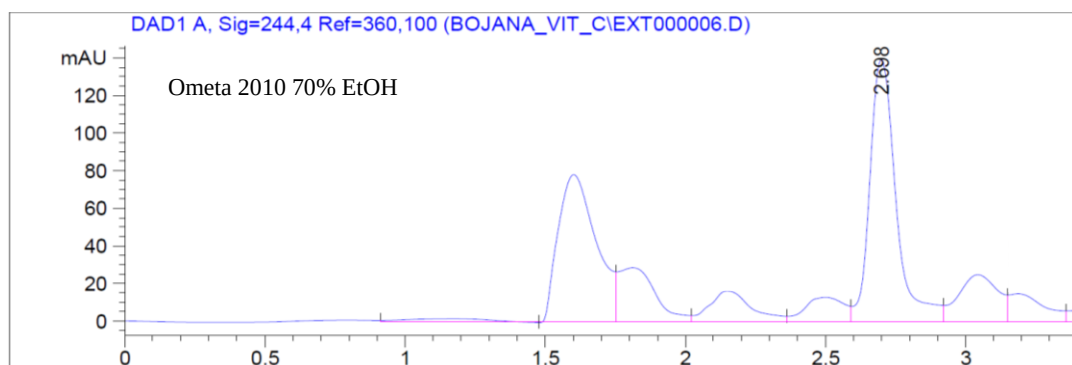
Slika 99. HPLC hromatogram vitamina C ($r_t=2.73$) soka sorte Omata iz 2010. godine



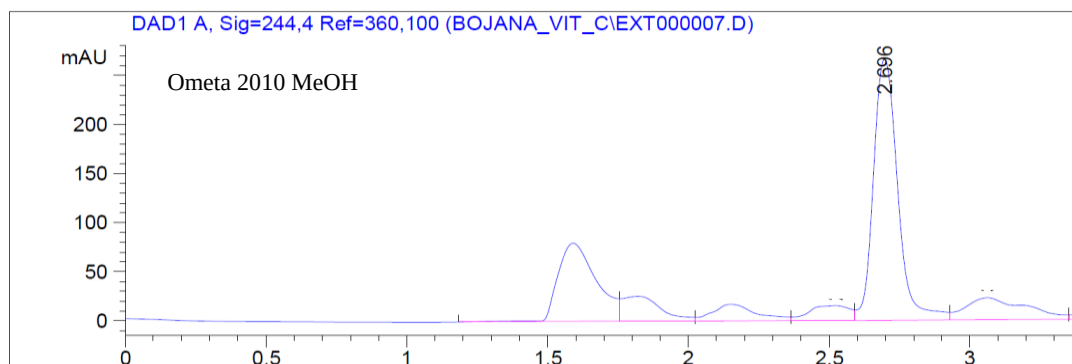
Slika 100. HPLC hromatogram vitamina C ($r_t=2.696$) etanolnog ekstrakta sorte Ometa iz 2010. godine



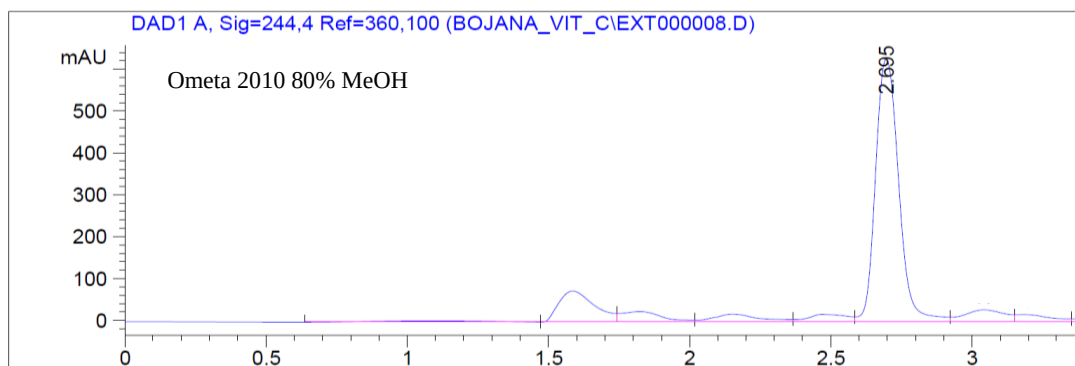
Slika 101. HPLC hromatogram vitamina C ($r_t=2.697$) 80% etanolnog ekstrakta sorte Ometa iz 2010. godine



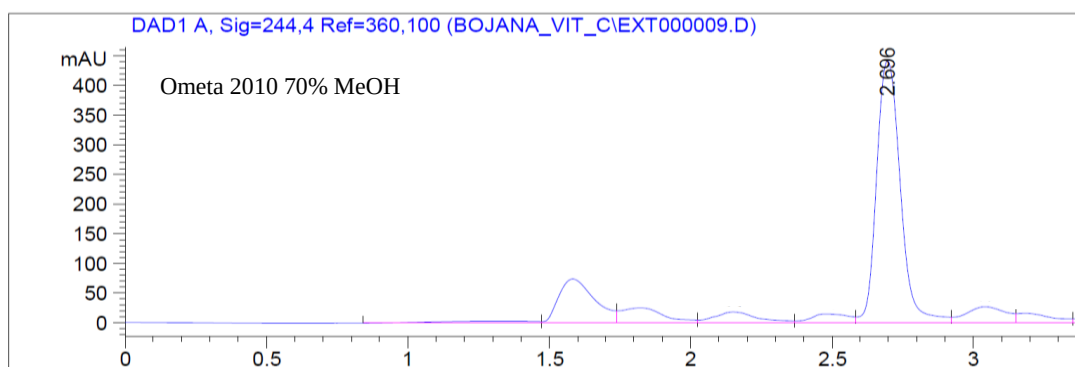
Slika 102. HPLC hromatogram vitamina C ($r_t=2.698$) 70% etanolnog ekstrakta sorte Ometa iz 2010. godine



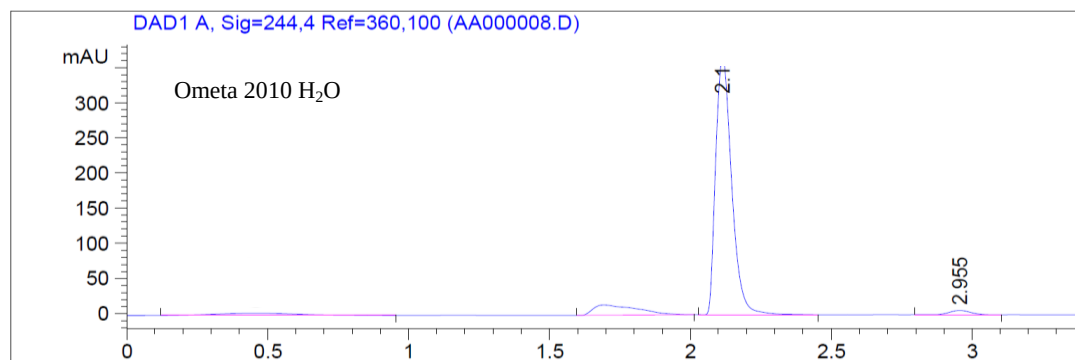
Slika 103. HPLC hromatogram vitamina C ($r_t=2.696$) metanolnog ekstrakta sorte Ometa iz 2010. godine



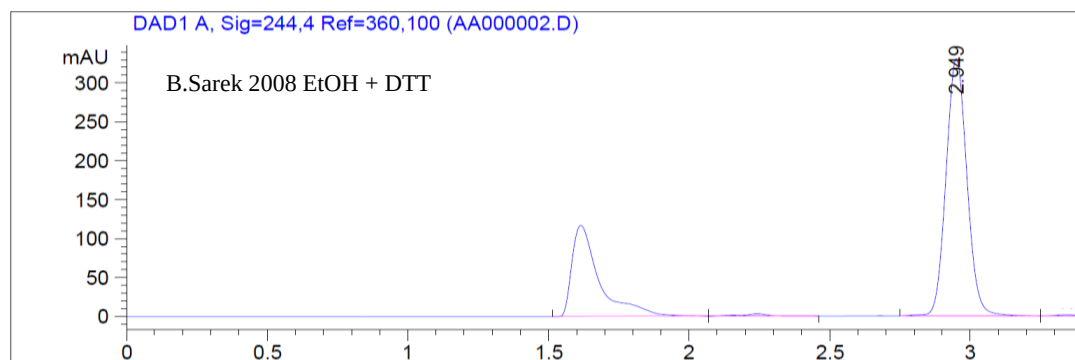
Slika 104. HPLC hromatogram vitamina C ($r_t=2.695$) 80% metanolnog ekstrakta sorte Ometa iz 2010. godine



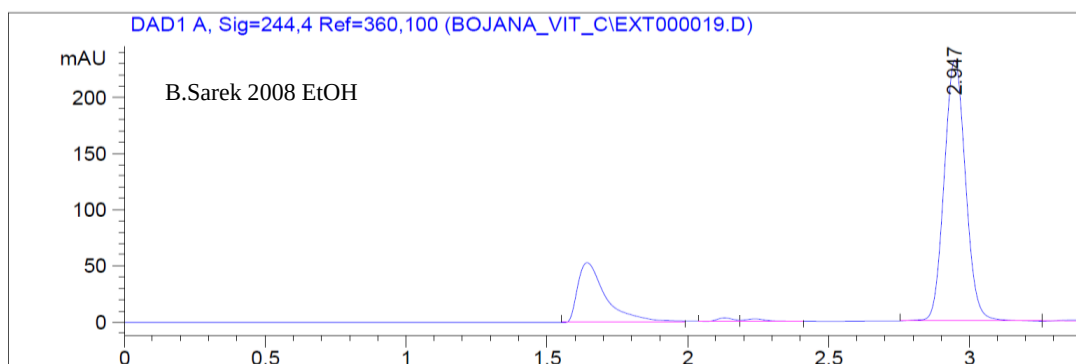
Slika 105. HPLC hromatogram vitamina C ($r_t=2.696$) 70% metanolnog ekstrakta sorte Ometa iz 2010. godine



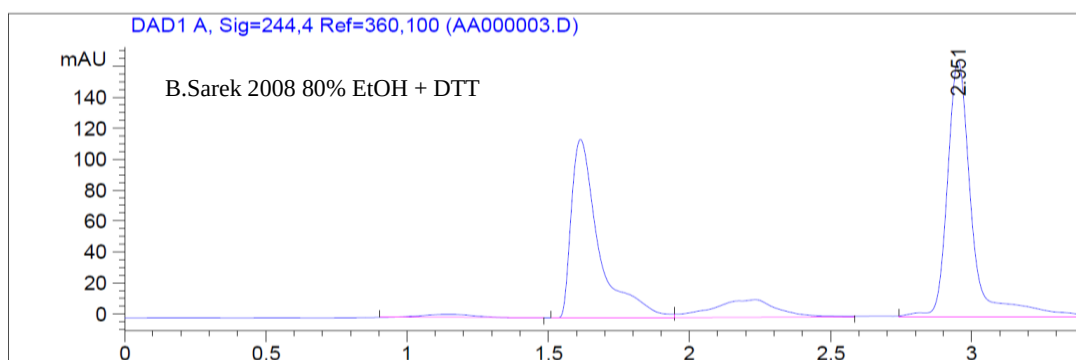
Slika 106. HPLC hromatogram vitamina C ($r_t=2.955$) vodenog ekstrakta sorte Ometa iz 2010. Godine



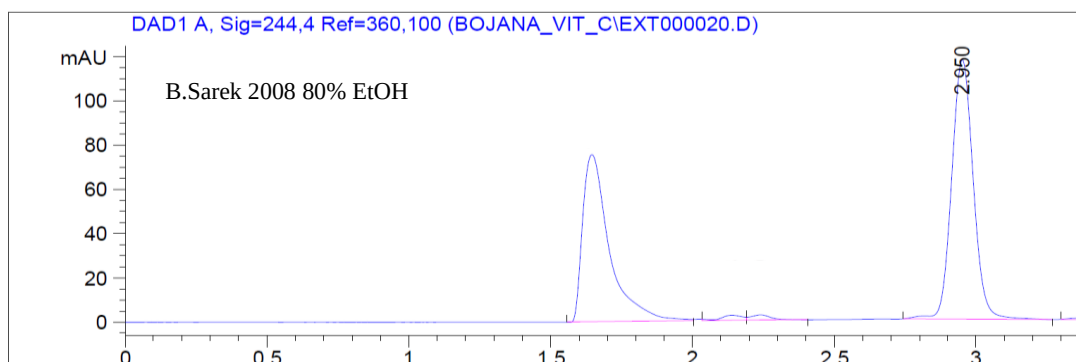
Slika 107. HPLC hromatogram ukupnog vitamina C ($r_t=2.95$) etanolnog ekstrakta sorte Ben Sarek iz 2008. godine



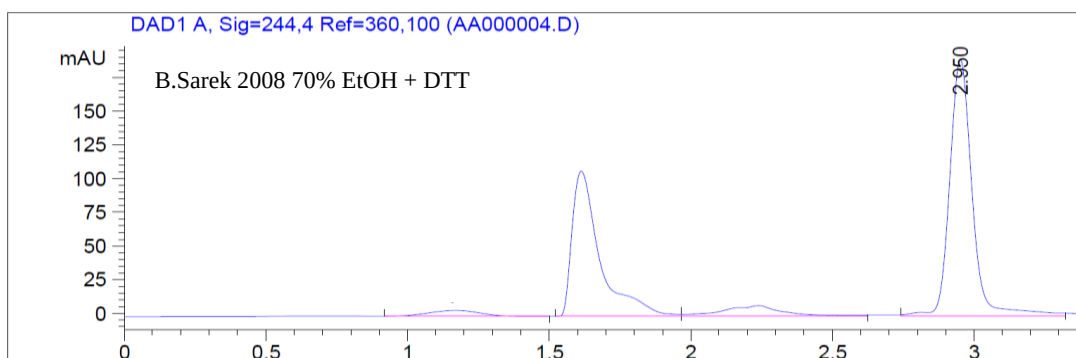
Slika 108. HPLC hromatogram vitamina C ($r_t=2.95$) etanolnog ekstrakta sorte Ben Sarek iz 2008. godine



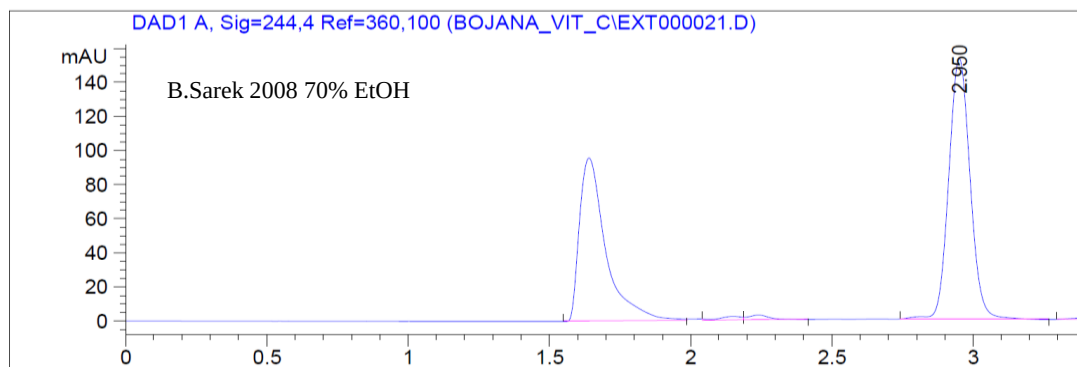
Slika 109. HPLC hromatogram ukupnog vitamina C ($r_t=2.95$) 80% etanolnog ekstrakta sorte Ben Sarek iz 2008. godine



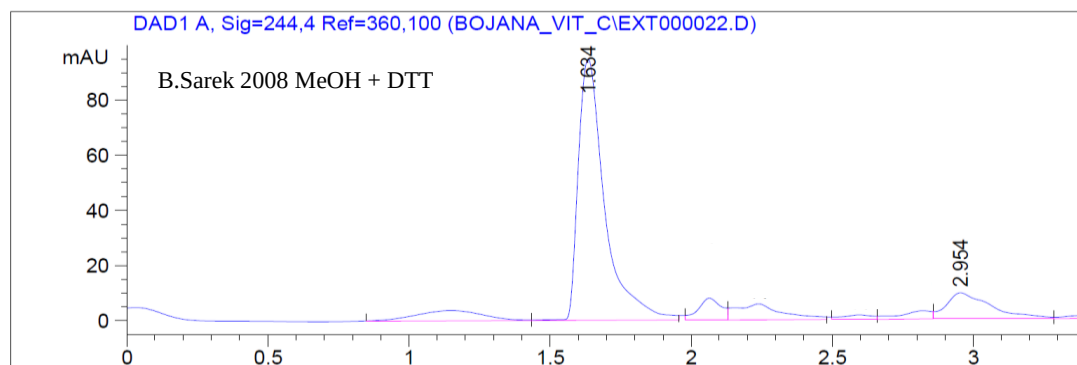
Slika 110. HPLC hromatogram vitamina C ($r_t=2.95$) 80% etanolnog ekstrakta sorte Ben Sarek iz 2008. godine



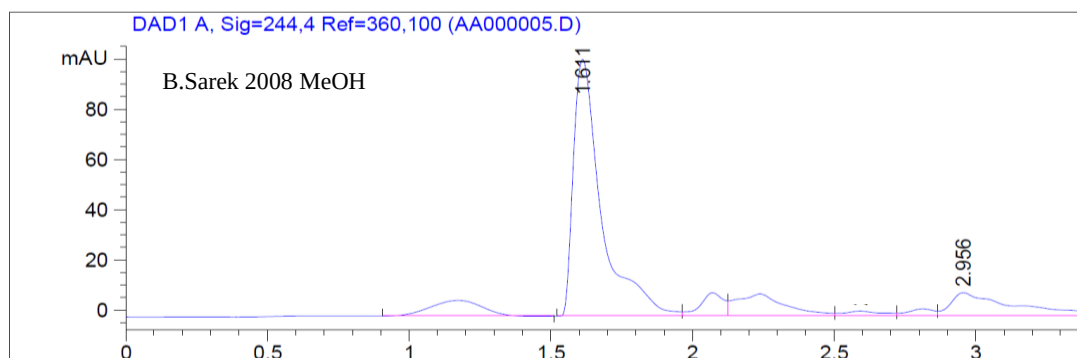
Slika 111. HPLC hromatogram ukupnog vitamina C ($r_t=2.95$) 70% etanolnog ekstrakta sorte Ben Sarek iz 2008. godine



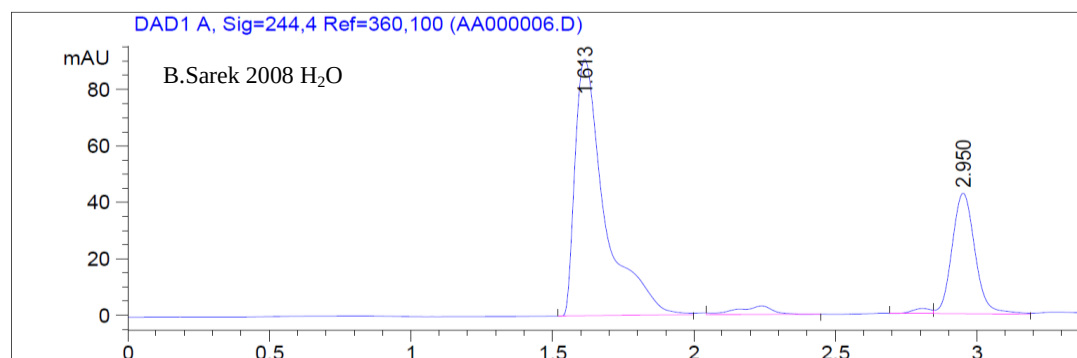
Slika 112. HPLC hromatogram vitamina C ($r_t=2.95$) 70% etanolnog ekstrakta sorte Ben Sarek iz 2008. godine



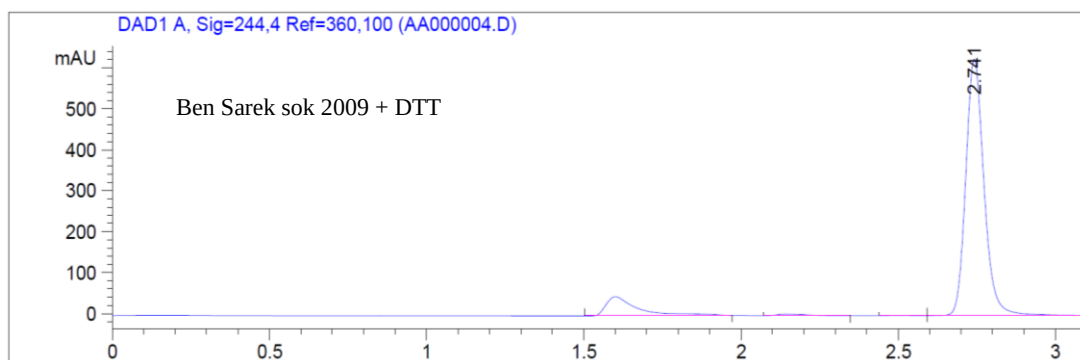
Slika 113. HPLC hromatogram ukupnog vitamina C ($r_t=2.95$) metanolnog ekstrakta sorte Ben Sarek iz 2008. godine



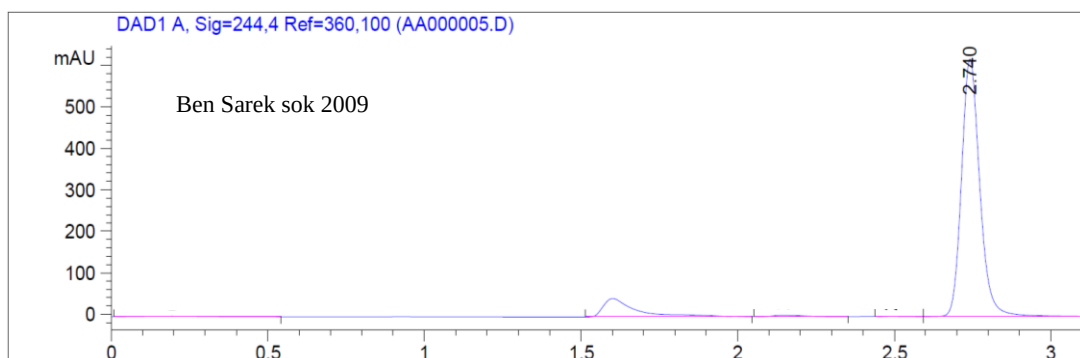
Slika 114. HPLC hromatogram vitamina C ($r_t=2.95$) metanolnog ekstrakta sorte Ben Sarek iz 2008. godine



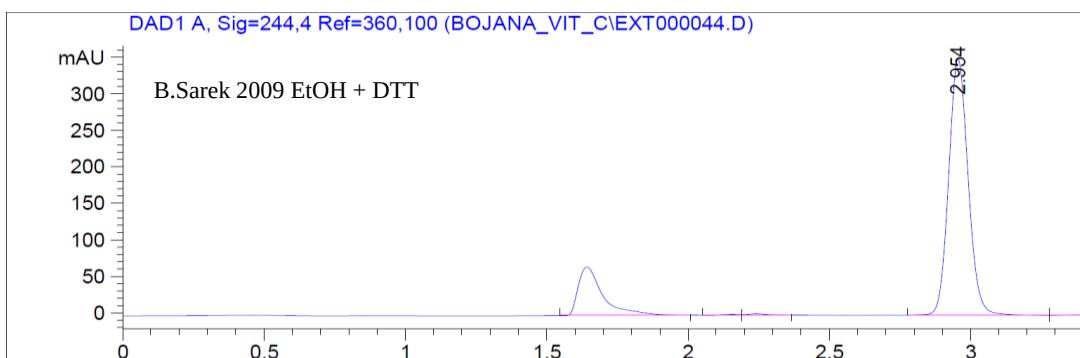
Slika 115. HPLC hromatogram vitamina C ($r_t=2.95$) vodenog ekstrakta sorte Ben Sarek iz 2008. Godine



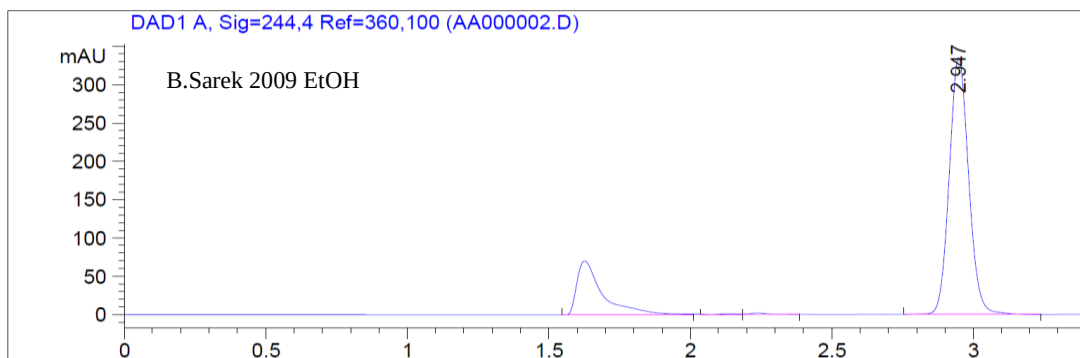
Slika 116. HPLC hromatogram ukupnog vitamina C ($r_t=2.74$) soka sorte Ben Sarek iz 2009. godine



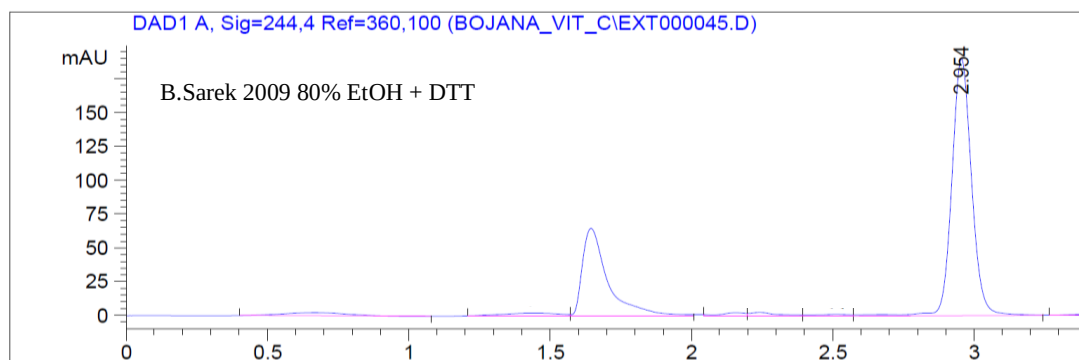
Slika 117. HPLC hromatogram vitamina C ($r_t=2.74$) soka sorte Ben Sarek iz 2009. godine



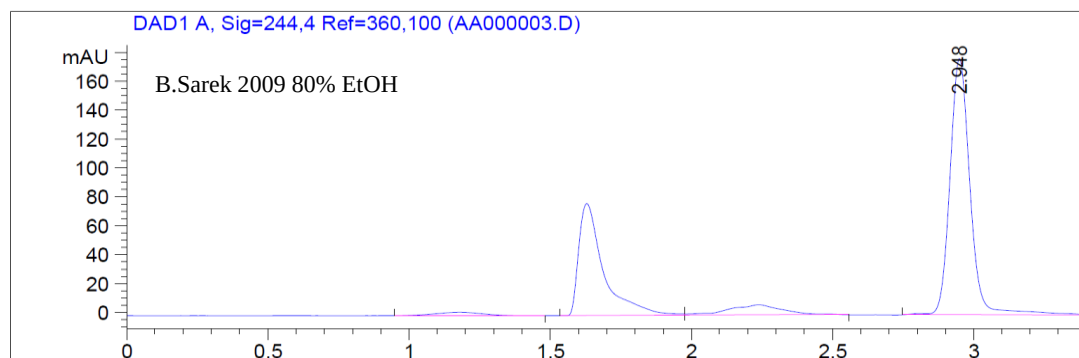
Slika 118. HPLC hromatogram ukupnog vitamina C ($r_t=2.95$) etanolnog ekstrakta sorte Ben Sarek iz 2009. godine



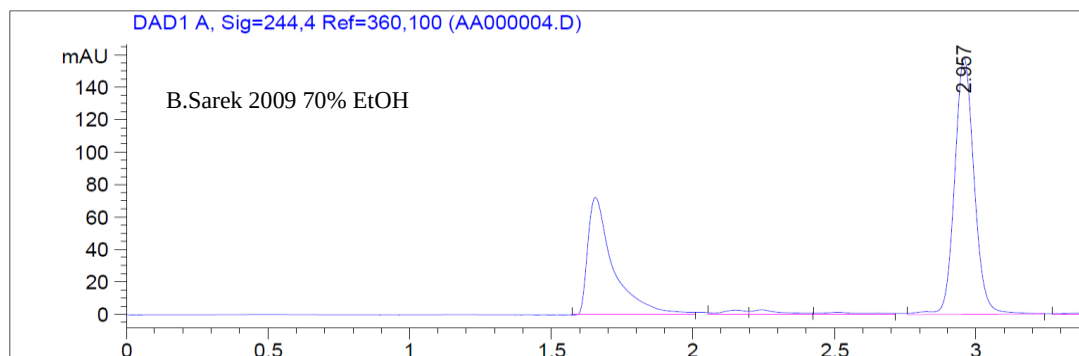
Slika 119. HPLC hromatogram vitamina C ($r_t=2.95$) etanolnog ekstrakta sorte Ben Sarek iz 2009. godine



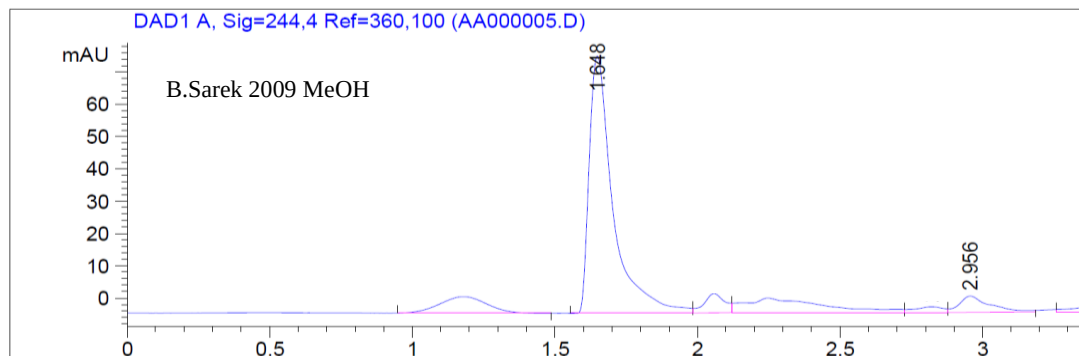
Slika 120. HPLC hromatogram ukupnog vitamina C ($r_t=2.95$) 80%etanolnog ekstrakta sorte Ben Sarek iz 2009. godine



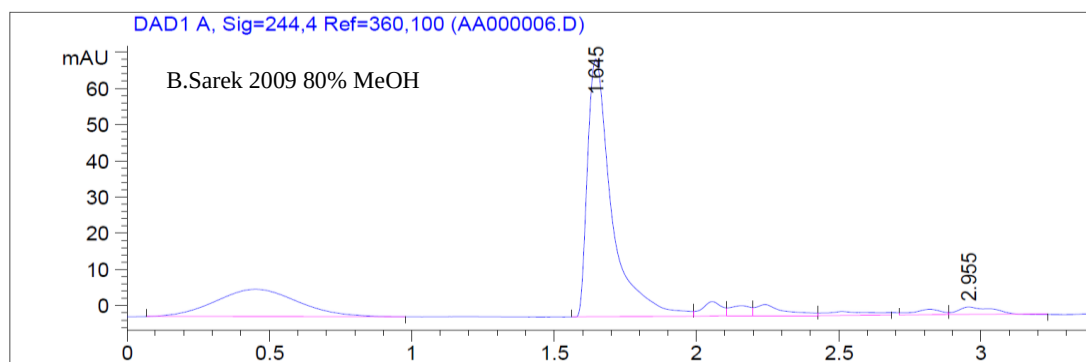
Slika 121. HPLC hromatogram ukupnog vitamina C ($r_t=2.95$) 80% etanolnog ekstrakta sorte Ben Sarek iz 2009. godine



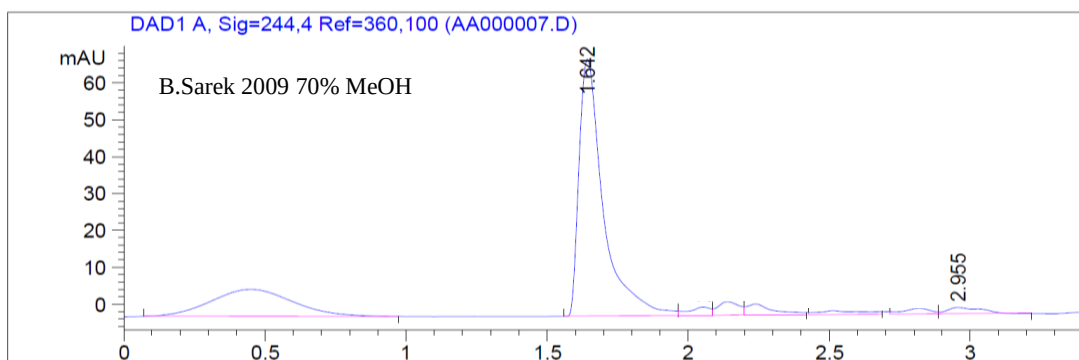
Slika 122. HPLC hromatogram vitamina C ($r_t=2.95$) 70% etanolnog ekstrakta sorte Ben Sarek iz 2009. godine



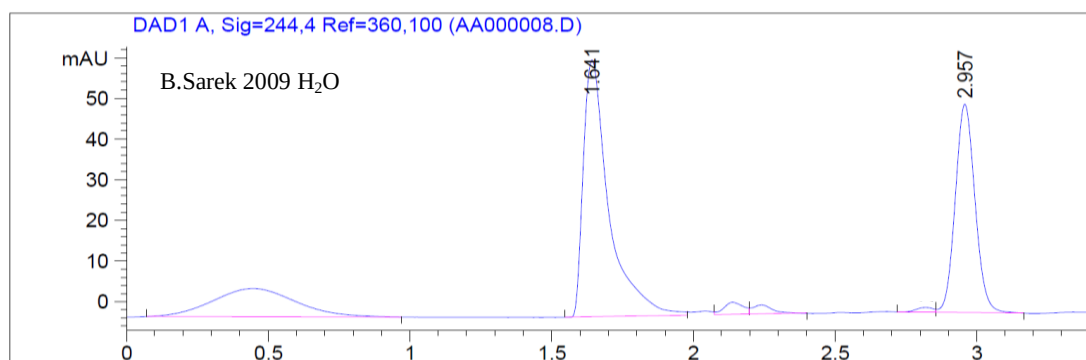
Slika 123. HPLC hromatogram vitamina C ($r_t=2.95$) metanolnog ekstrakta sorte Ben Sarek iz 2009. godine



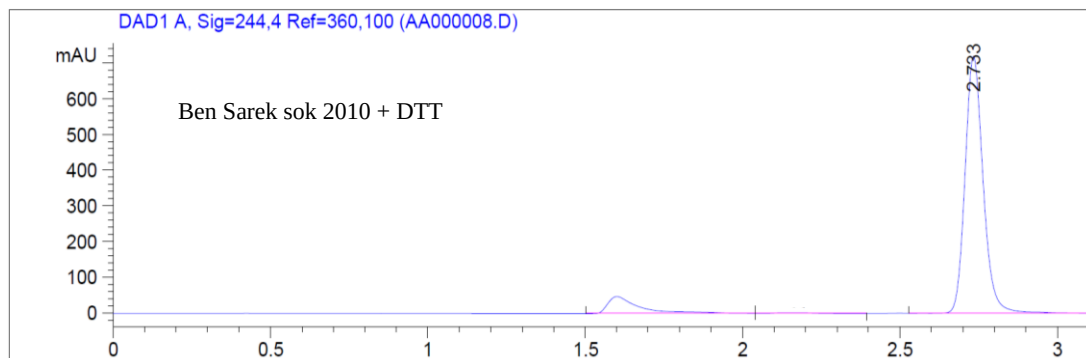
Slika 124. HPLC hromatogram vitamina C ($r_t=2.95$) 80% metanolnog ekstrakta sorte Ben Sarek iz 2009. godine



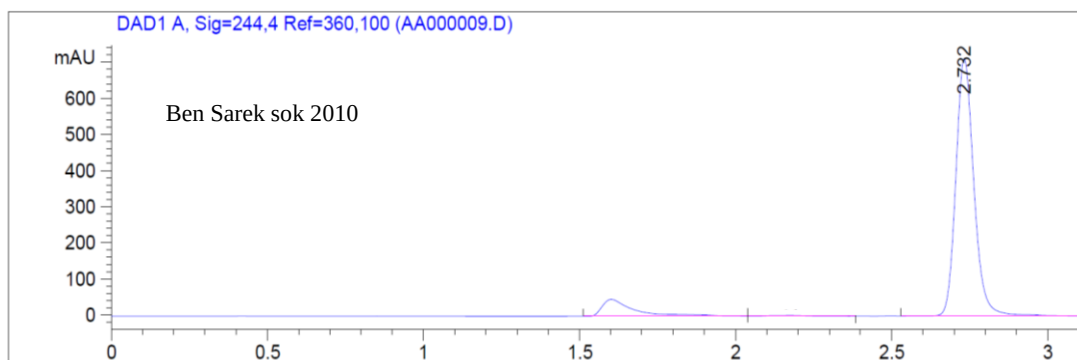
Slika 125. HPLC hromatogram vitamina C ($r_t=2.95$) 70% metanolnog ekstrakta sorte Ben Sarek iz 2009. godine



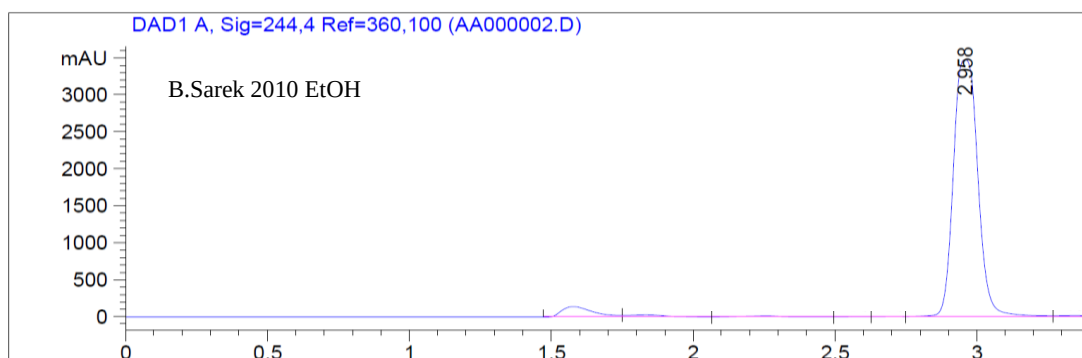
Slika 126. HPLC hromatogram vitamina C ($r_t=2.95$) vodenog ekstrakta sorte Ben Sarek iz 2009. godine



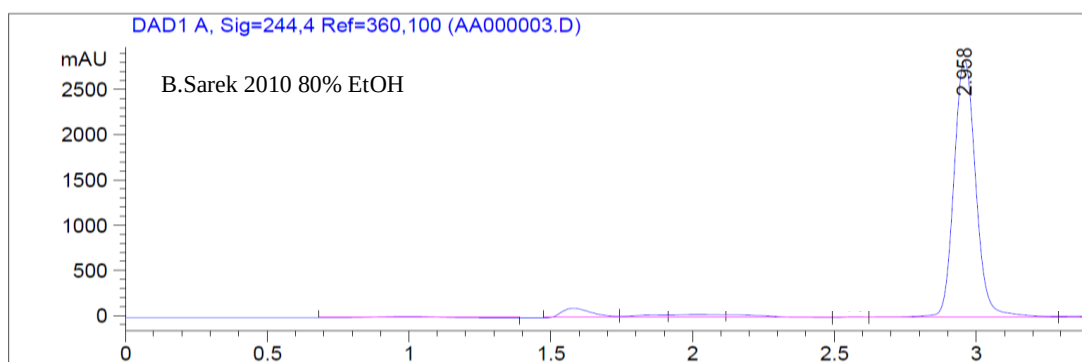
Slika 127. HPLC hromatogram ukupnog vitamina C ($r_t=2.73$) soka sorte Ben Sarek iz 2010. godine



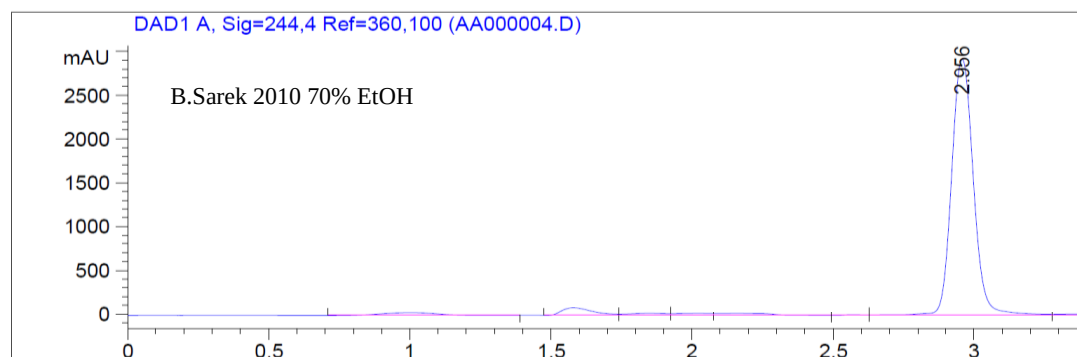
Slika 128. HPLC hromatogram vitamina C ($r_t=2.73$) soka sorte Ben Sarek iz 2010. godine



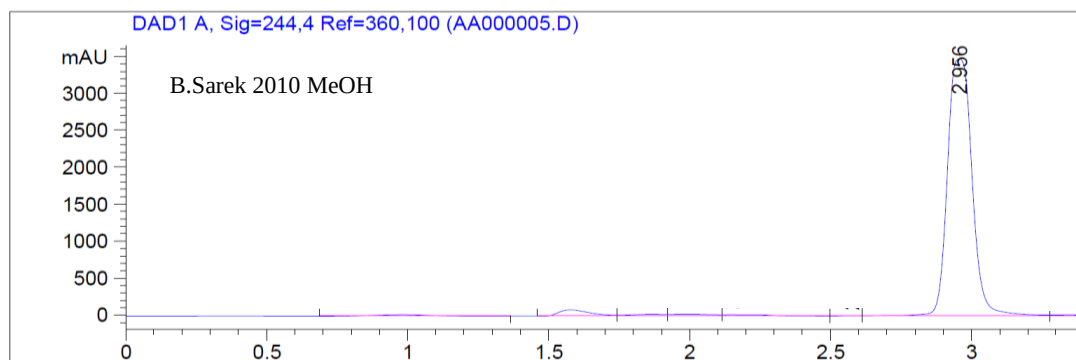
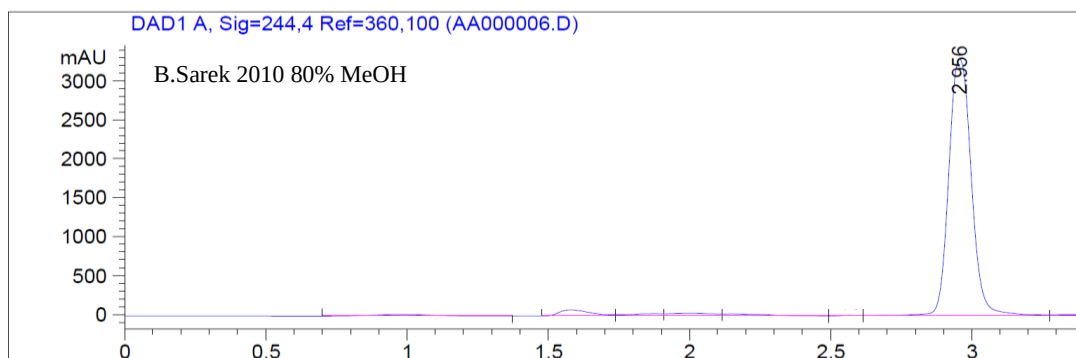
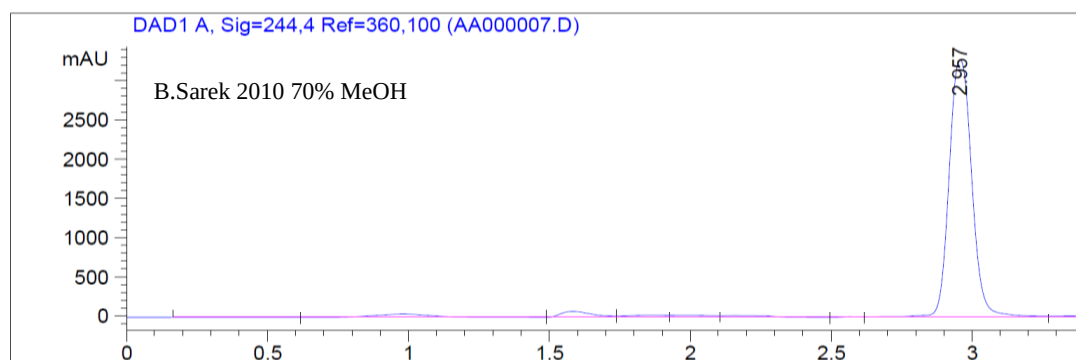
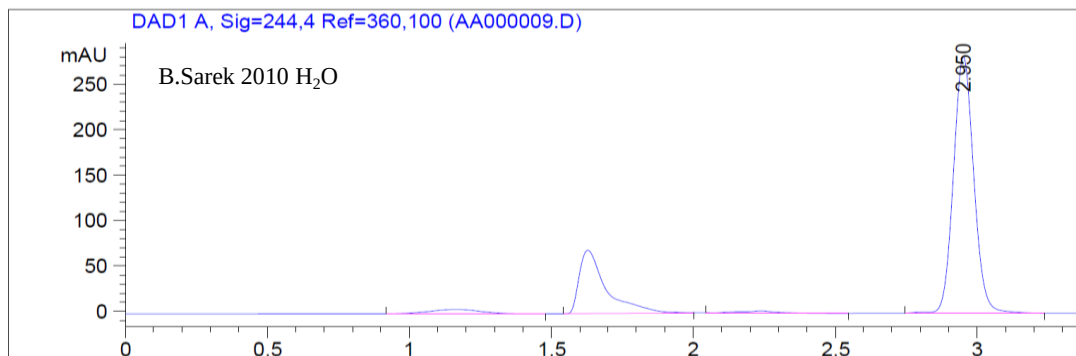
Slika 129. HPLC hromatogram vitamina C ($r_t=2.95$) etanolnog ekstrakta sorte Ben Sarek iz 2010. godine



Slika 130. HPLC hromatogram vitamina C ($r_t=2.95$) 80% etanolnog ekstrakta sorte Ben Sarek iz 2010. godine

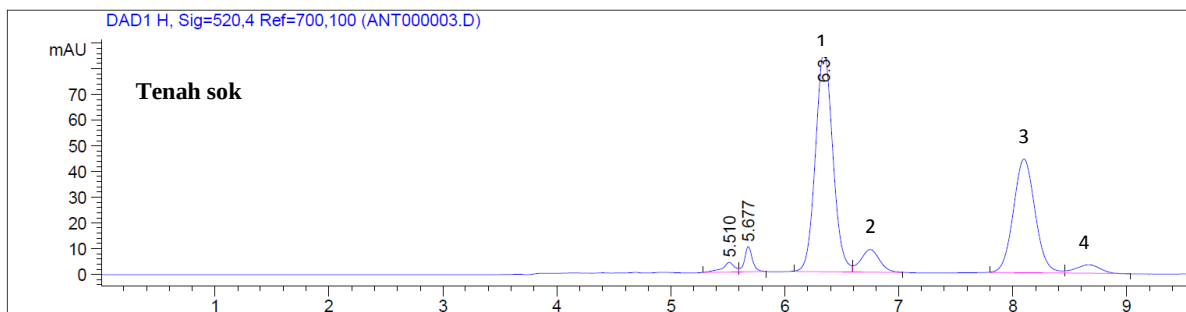


Slika 131. HPLC hromatogram vitamina C ($r_t=2.95$) 70% etanolnog ekstrakta sorte Ben Sarek iz 2010. godine

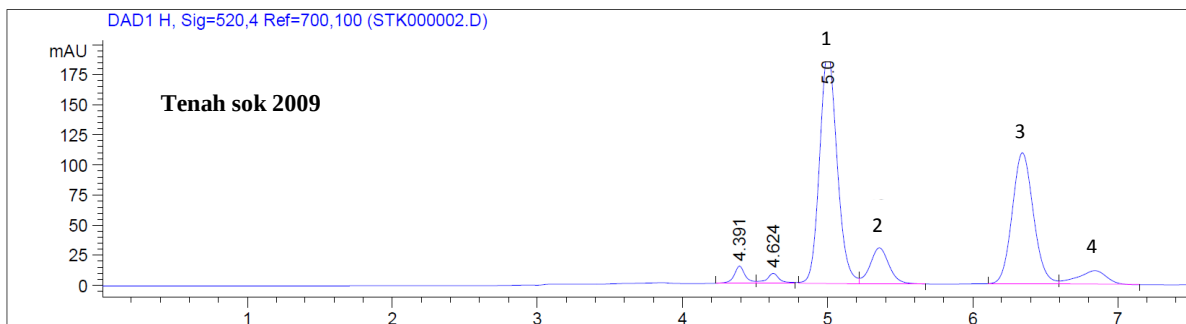
Slika 132. HPLC hromatogram vitamina C ($r_t=2.95$) metanolnog ekstrakta sorte Ben Sarek iz 2010. godineSlika 133. HPLC hromatogram vitamina C ($r_t=2.95$) 80% metanolnog ekstrakta sorte Ben Sarek iz 2010. godineSlika 134. HPLC hromatogram vitamina C ($r_t=2.95$) etanolnog ekstrakta sorte Ben Sarek iz 2010. godineSlika 135. HPLC hromatogram vitamina C ($r_t=2.95$) vodenog ekstrakta sorte Ben Sarek iz 2010. godine

PRILOG II

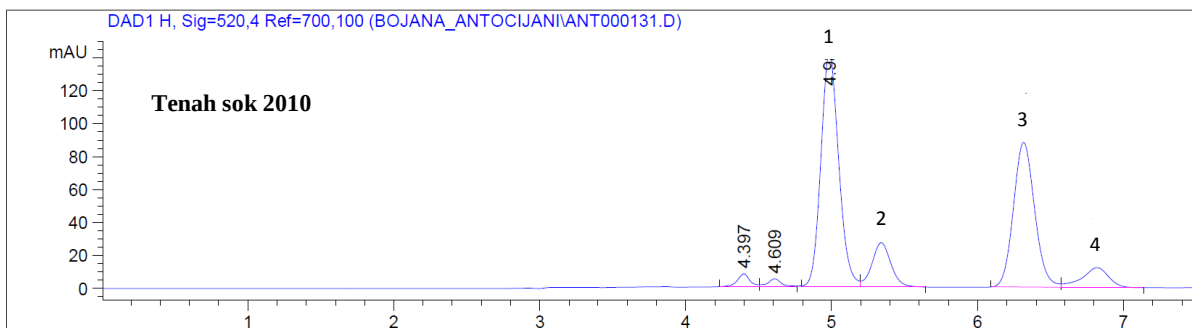
HPLC hromatogrami antocijana u sokovima i ekstraktima plodova crnih ribizli (*Ribes nigrum* L.)



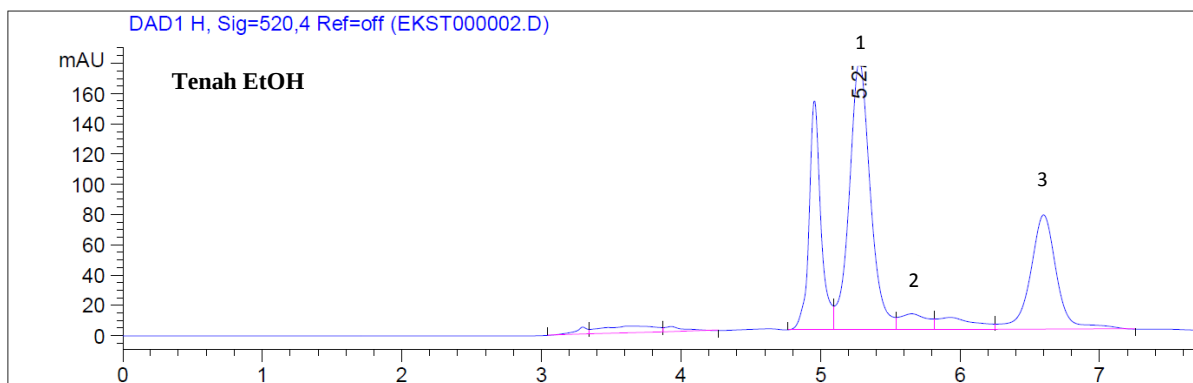
Slika 1. HPLC hromatogram antocijana u soku sorte Tenah iz 2008. godine (1-D3R, 2-D3G, 3-C3R, 4-C3G)



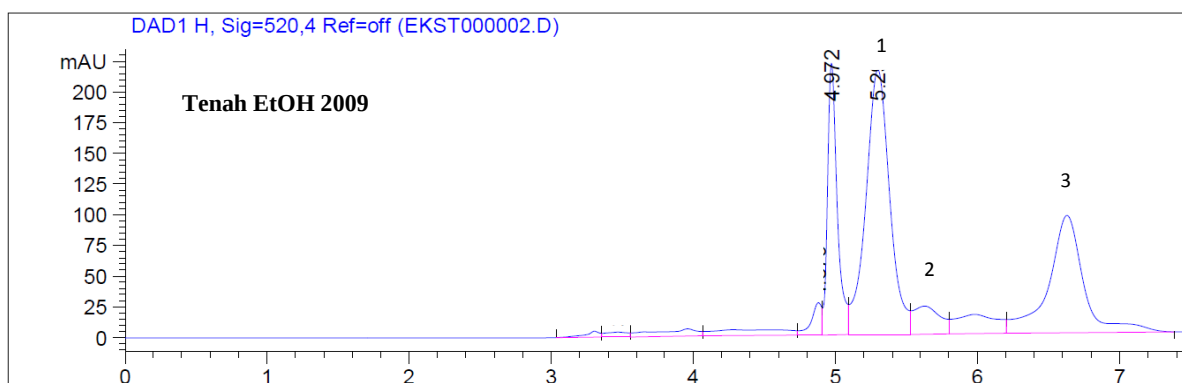
Slika 2. HPLC hromatogram antocijana u soku sorte Tenah iz 2009. godine (1-D3R, 2-D3G, 3-C3R, 4-C3G)



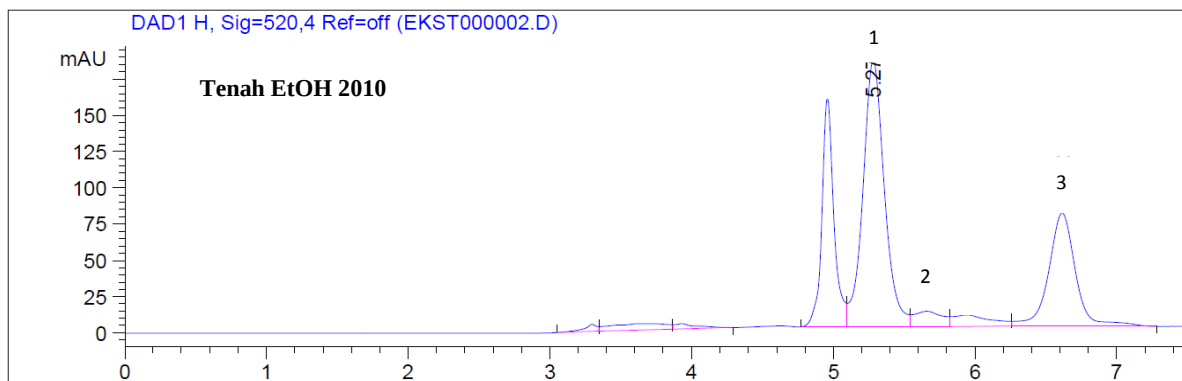
Slika 3. HPLC hromatogram antocijana u soku sorte Tenah iz 2010. godine (1-D3R, 2-D3G, 3-C3R, 4-C3G)



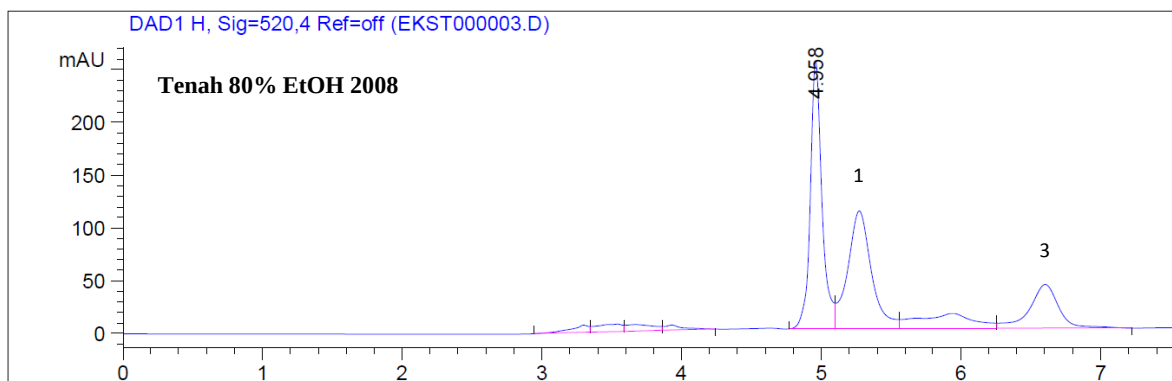
Slika 4. HPLC hromatogram antocijana u etanolnom ekstraktu sorte Tenah iz 2008. godine (1-D3R, 2-D3G, 3-C3R, 4-C3G)



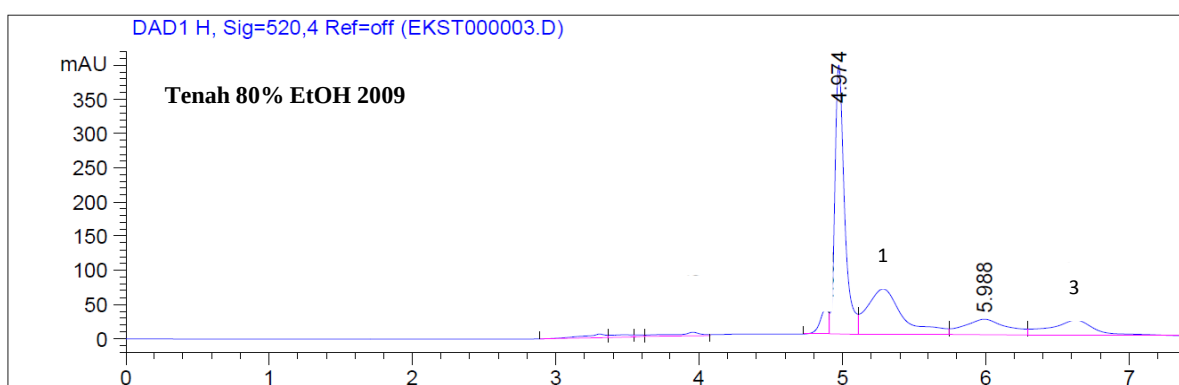
Slika 5. HPLC hromatogram antocijana u etanolnom ekstraktu sorte Tenah iz 2009. godine (1-D3R, 2-D3G, 3-C3R, 4-C3G)



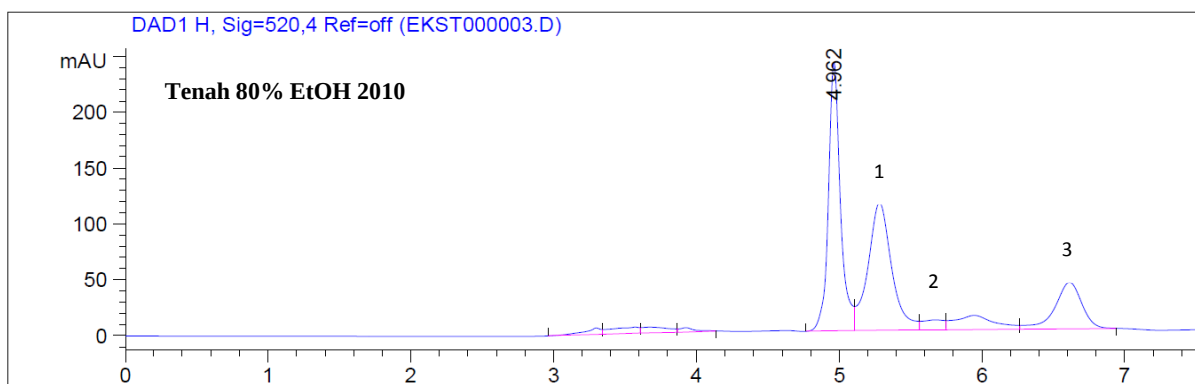
Slika 6. HPLC hromatogram antocijana u etanolnom ekstraktu sorte Tenah iz 2009. godine (1-D3R, 2-D3G, 3-C3R, 4-C3G)



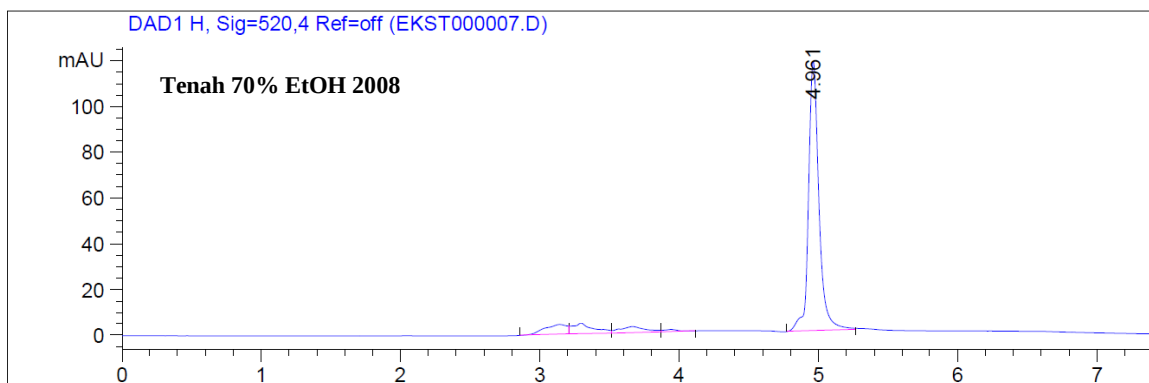
Slika 7. HPLC hromatogram antocijana u 80% etanolnom ekstraktu sorte Tenah iz 2008. godine (1-D3R, 2-D3G, 3-C3R, 4-C3G)



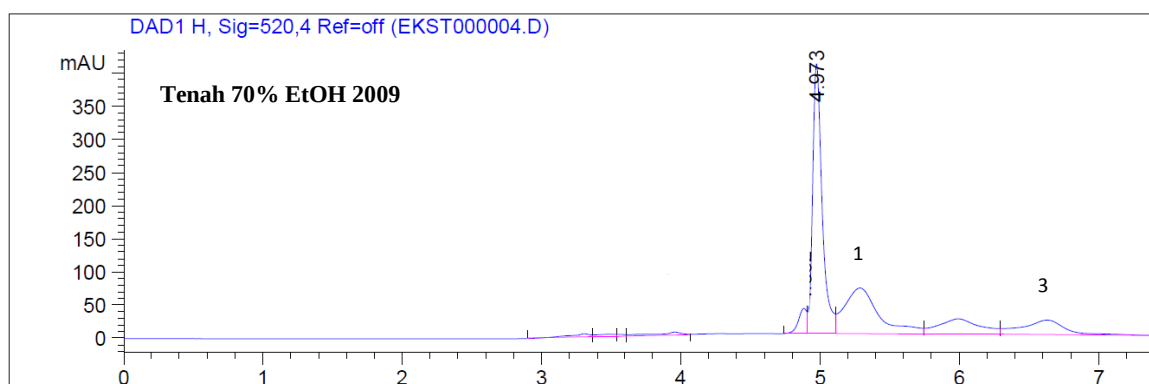
Slika 8. HPLC hromatogram antocijana u 80% etanolnom ekstraktu sorte Tenah iz 2009. godine (1-D3R, 2-D3G, 3-C3R, 4-C3G)



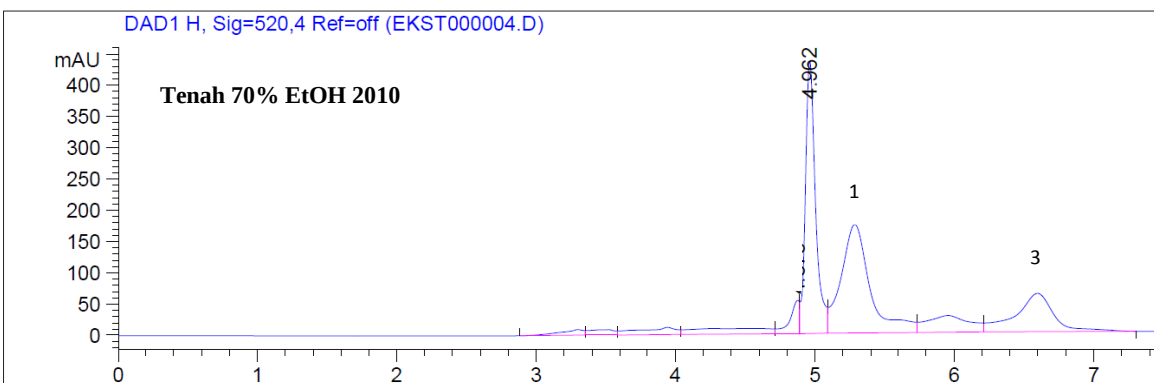
Slika 9. HPLC hromatogram antocijana u 80% etanolnom ekstraktu sorte Tenah iz 2010. godine (1-D3R, 2-D3G, 3-C3R, 4-C3G)



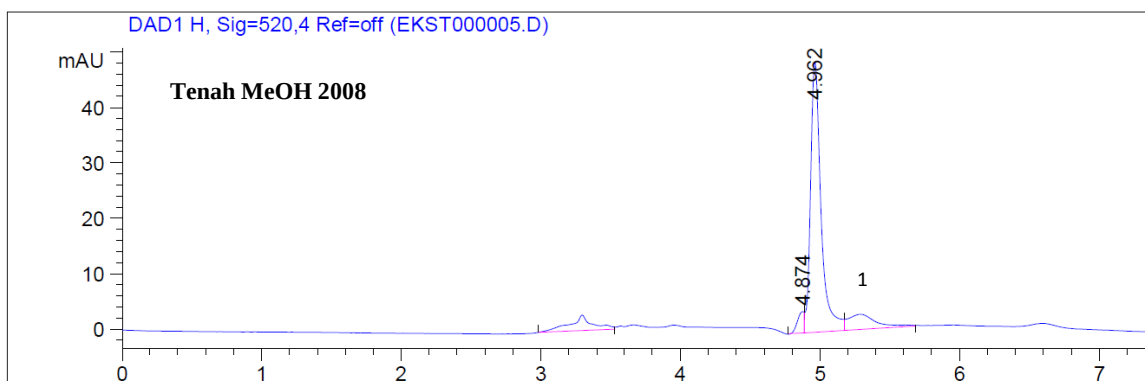
Slika 10. HPLC hromatogram antocijana u 70% etanolnom ekstraktu sorte Tenah iz 2008. godine (1-D3R, 2-D3G, 3-C3R, 4-C3G)



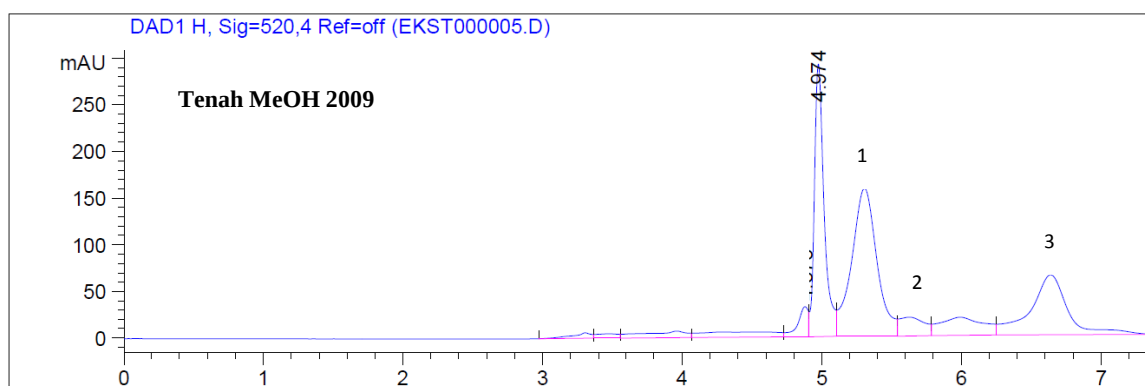
Slika 11. HPLC hromatogram antocijana u 70% etanolnom ekstraktu sorte Tenah iz 2009. godine (1-D3R, 2-D3G, 3-C3R, 4-C3G)



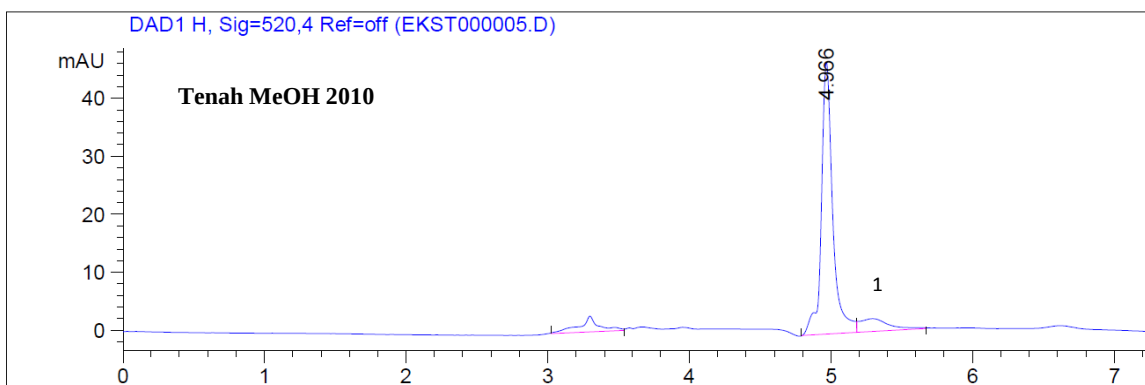
Slika 12. HPLC hromatogram antocijana u 70% etanolnom ekstraktu sorte Tenah iz 2010. godine (1-D3R, 2-D3G, 3-C3R, 4-C3G)



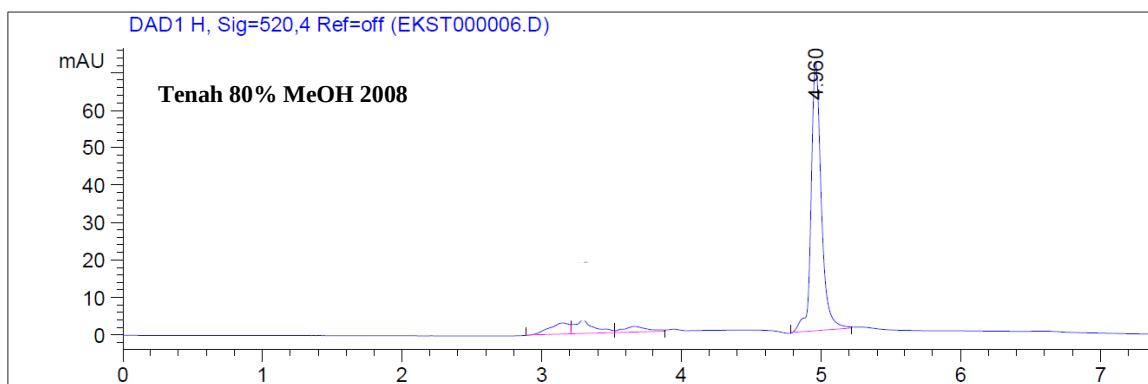
Slika 13. HPLC hromatogram antocijana u metanolnom ekstraktu sorte Tenah iz 2008. godine (1-D3R, 2-D3G, 3-C3R, 4-C3G)



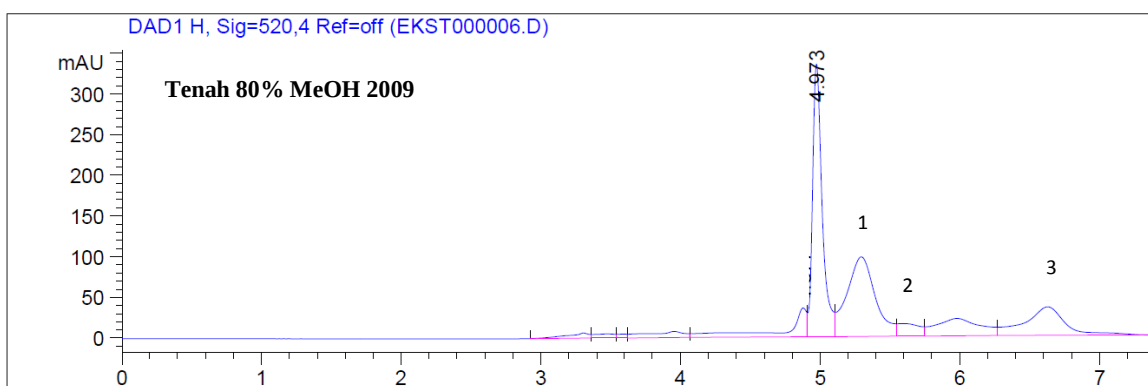
Slika 14. HPLC hromatogram antocijana u metanolnom ekstraktu sorte Tenah iz 2009. godine (1-D3R, 2-D3G, 3-C3R, 4-C3G)



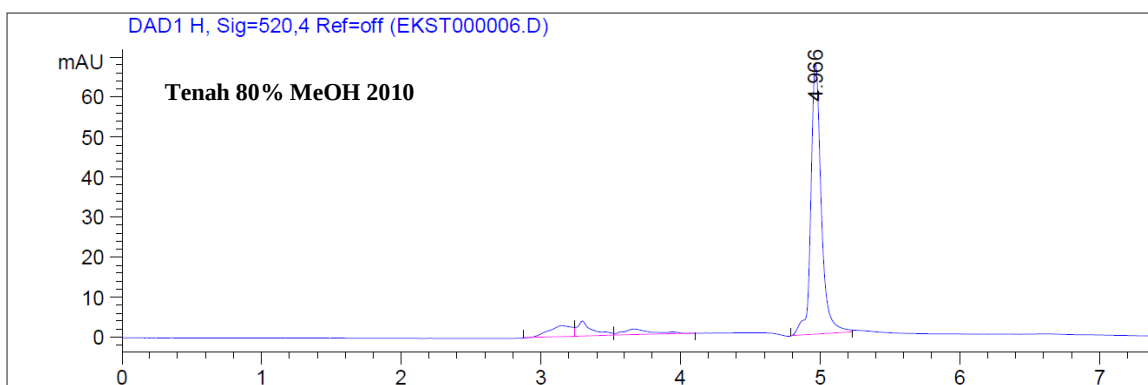
Slika 15. HPLC hromatogram antocijana u metanolnom ekstraktu sorte Tenah iz 2010. godine (1-D3R, 2-D3G, 3-C3R, 4-C3G)



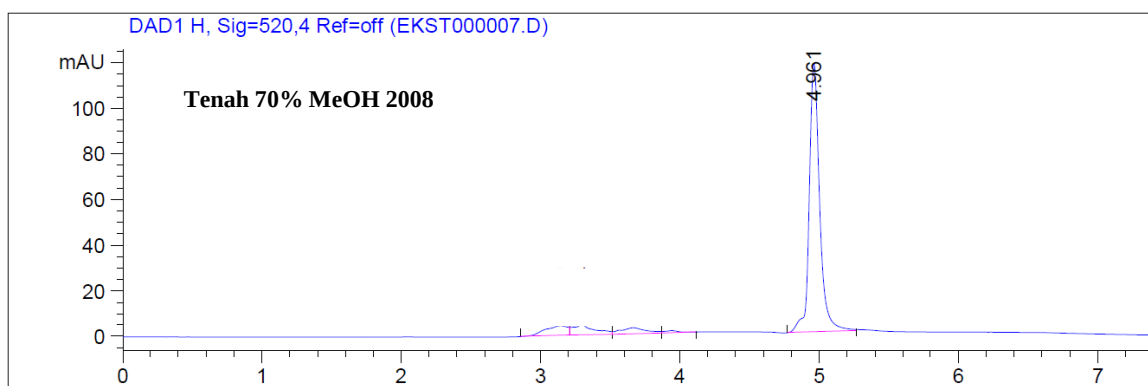
Slika 16. HPLC hromatogram antocijana u 80% metanolnom ekstraktu sorte Tenah iz 2008. godine (1-D3R, 2-D3G, 3-C3R, 4-C3G)



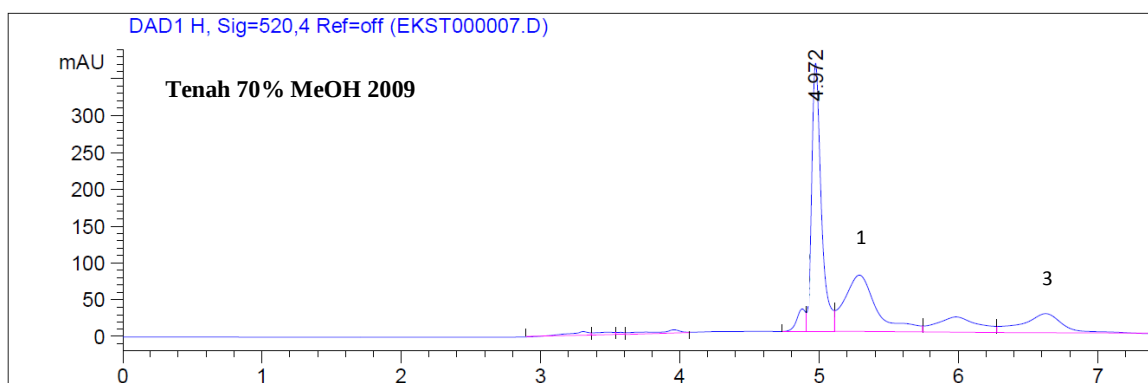
Slika 17. HPLC hromatogram antocijana u 80% metanolnom ekstraktu sorte Tenah iz 2009. godine (1-D3R, 2-D3G, 3-C3R, 4-C3G)



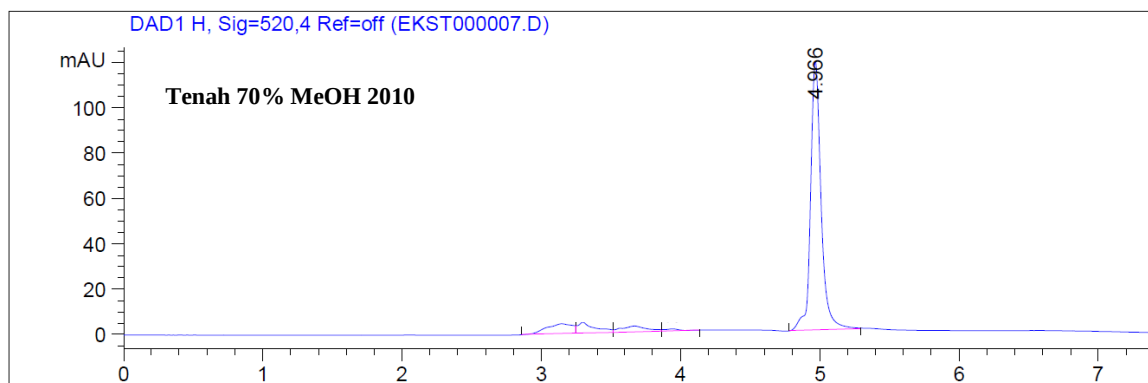
Slika 18. HPLC hromatogram antocijana u 80% metanolnom ekstraktu sorte Tenah iz 2010. godine (1-D3R, 2-D3G, 3-C3R, 4-C3G)



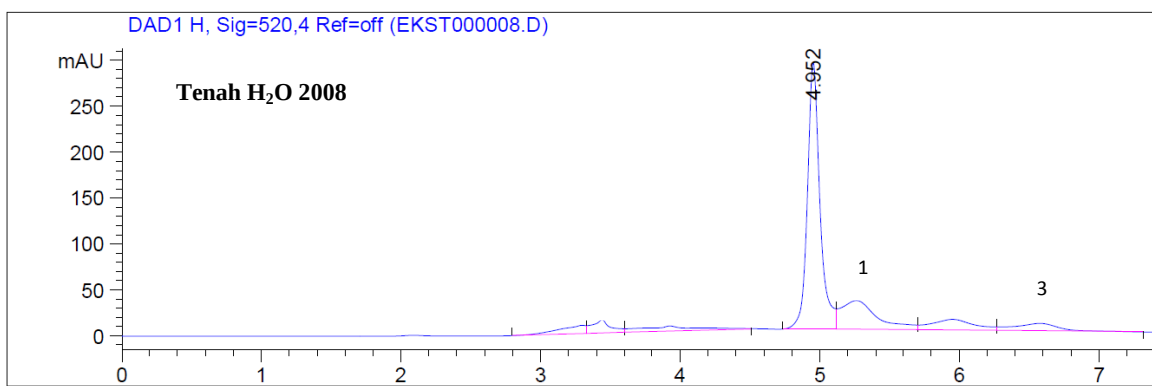
Slika 19. HPLC hromatogram antocijana u 70% metanolnom ekstraktu sorte Tenah iz 2008. godine (1-D3R, 2-D3G, 3-C3R, 4-C3G)



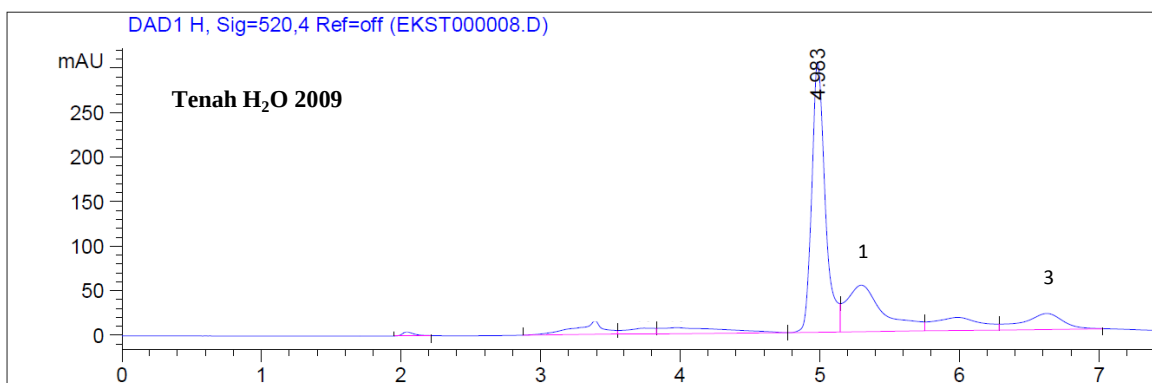
Slika 20. HPLC hromatogram antocijana u 70% metanolnom ekstraktu sorte Tenah iz 2009. godine (1-D3R, 2-D3G, 3-C3R, 4-C3G)



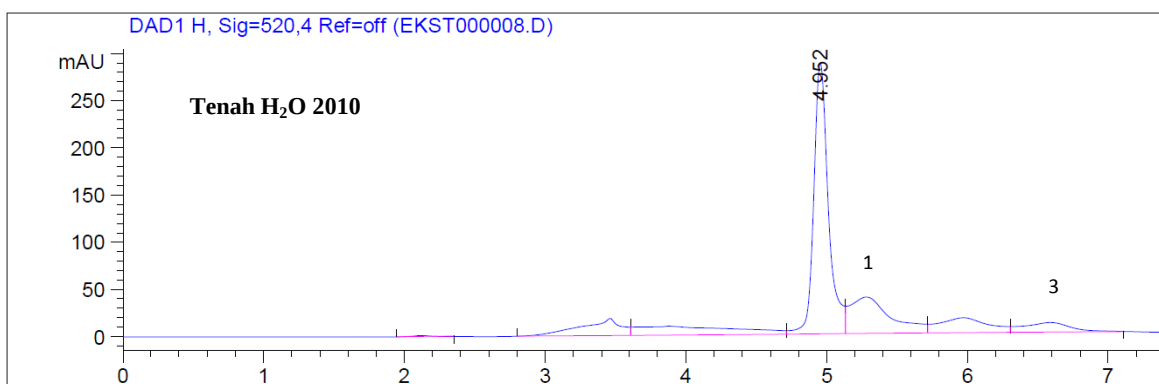
Slika 21. HPLC hromatogram antocijana u 70% metanolnom ekstraktu sorte Tenah iz 2010. godine (1-D3R, 2-D3G, 3-C3R, 4-C3G)



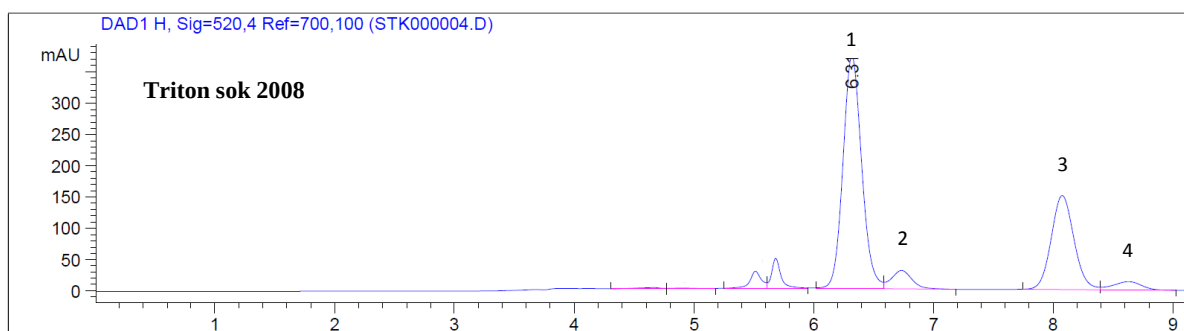
Slika 22. HPLC hromatogram antocijana u vodenom ekstraktu sorte Tenah iz 2008. godine (1-D3R, 2-D3G, 3-C3R, 4-C3G)



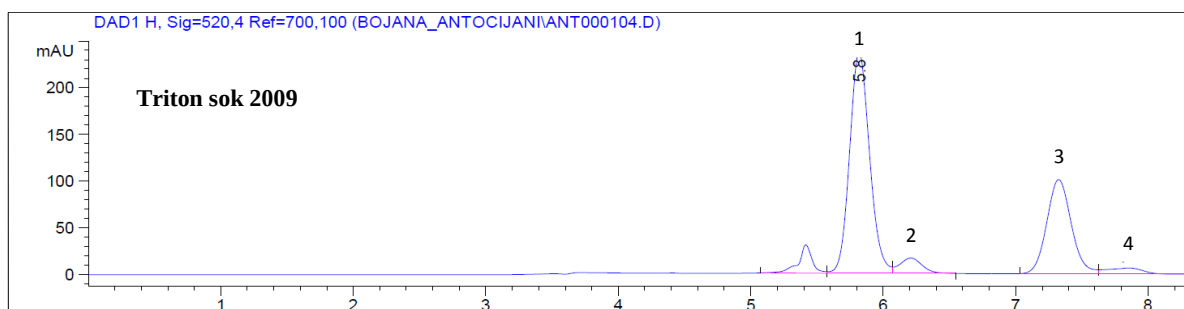
Slika 23. HPLC hromatogram antocijana u vodenom ekstraktu sorte Tenah iz 2009. godine (1-D3R, 2-D3G, 3-C3R, 4-C3G)



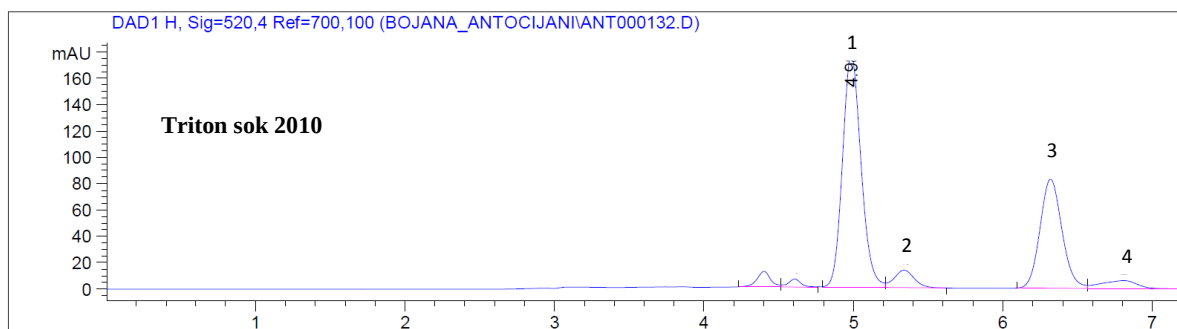
Slika 24. HPLC hromatogram antocijana u vodenom ekstraktu sorte Tenah iz 2010. godine (1-D3R, 2-D3G, 3-C3R, 4-C3G)



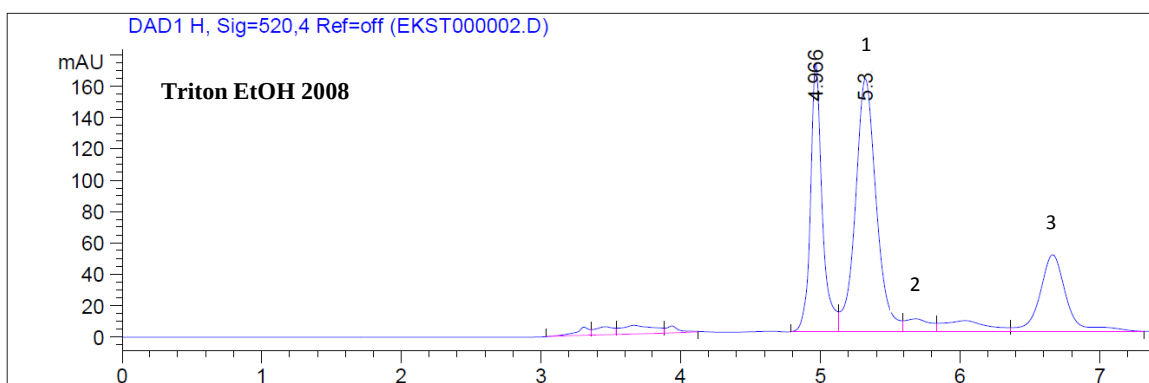
Slika 25. HPLC hromatogram antocijana u soku sorte Triton iz 2008. godine (1-D3R, 2-D3G, 3-C3R, 4-C3G)



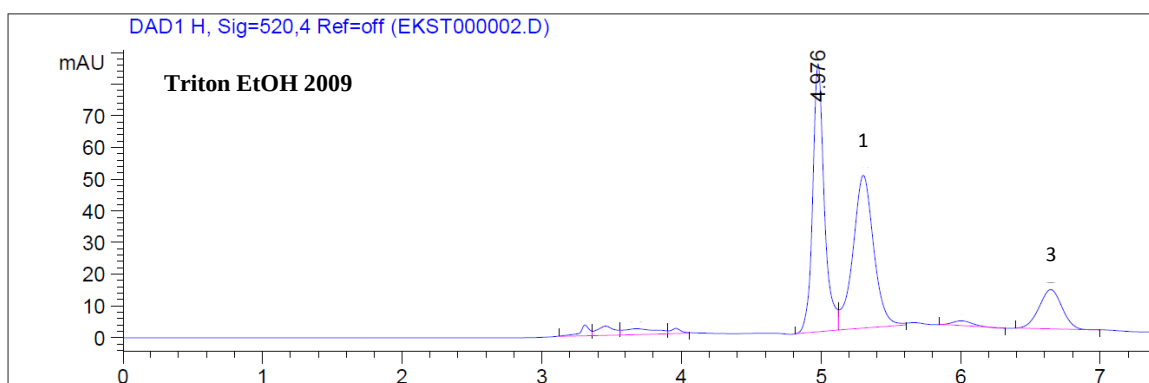
Slika 26. HPLC hromatogram antocijana u soku sorte Triton iz 2009. godine (1-D3R, 2-D3G, 3-C3R, 4-C3G)



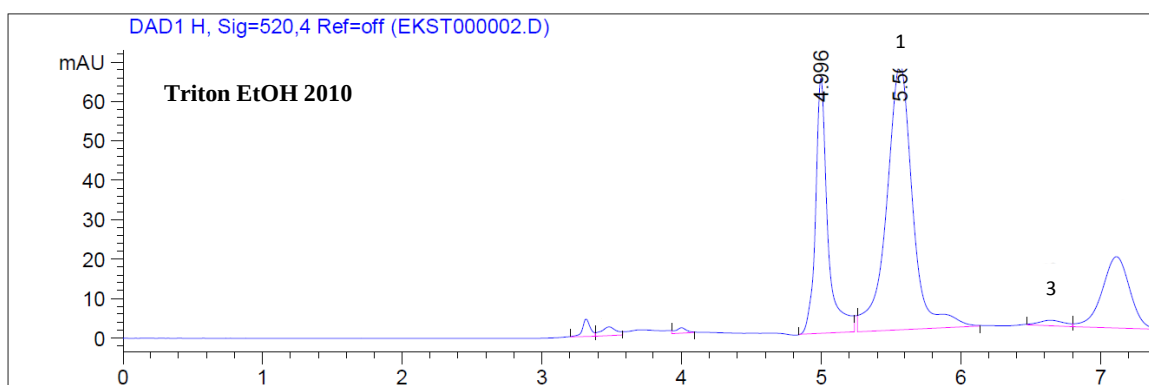
Slika 27. HPLC hromatogram antocijana u soku sorte Triton iz 2010. godine (1-D3R, 2-D3G, 3-C3R, 4-C3G)



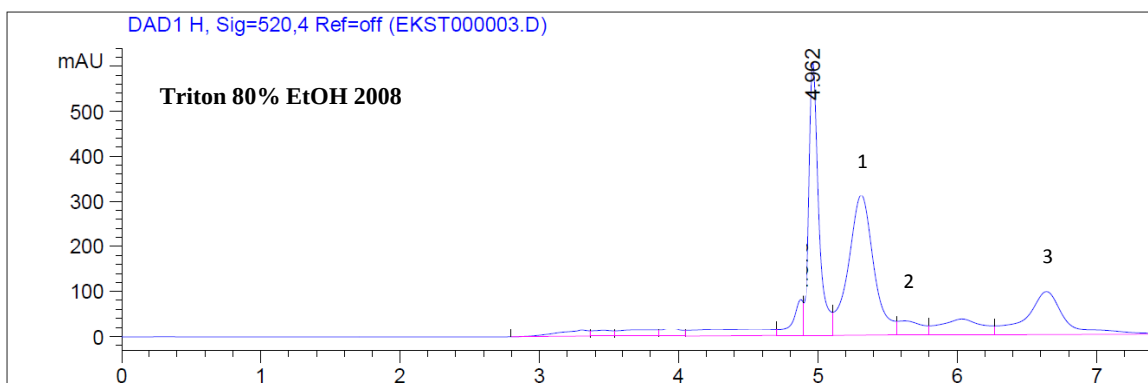
Slika 28. HPLC hromatogram antocijana u etanolnom ekstraktu sorte Triton iz 2008. godine (1-D3R, 2-D3G, 3-C3R, 4-C3G)



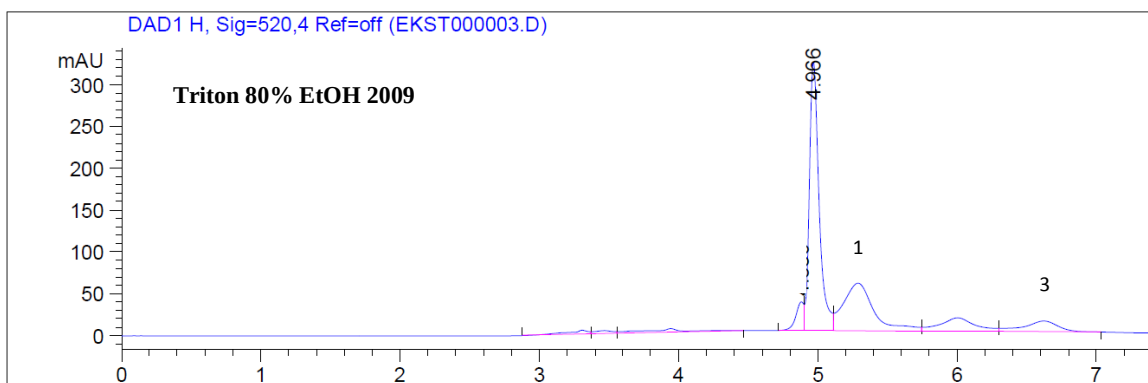
Slika 29. HPLC hromatogram antocijana u etanolnom ekstraktu sorte Triton iz 2009. godine (1-D3R, 2-D3G, 3-C3R, 4-C3G)



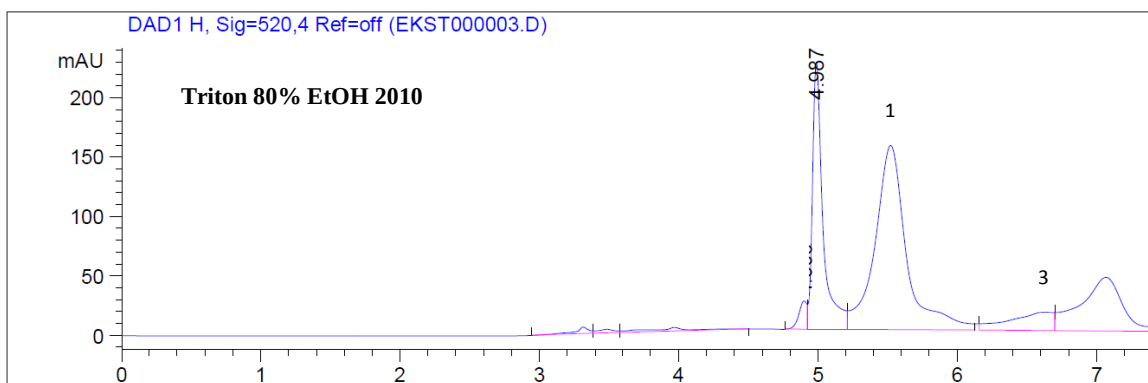
Slika 30. HPLC hromatogram antocijana u etanolnom ekstraktu sorte Triton iz 2010. godine (1-D3R, 2-D3G, 3-C3R, 4-C3G)



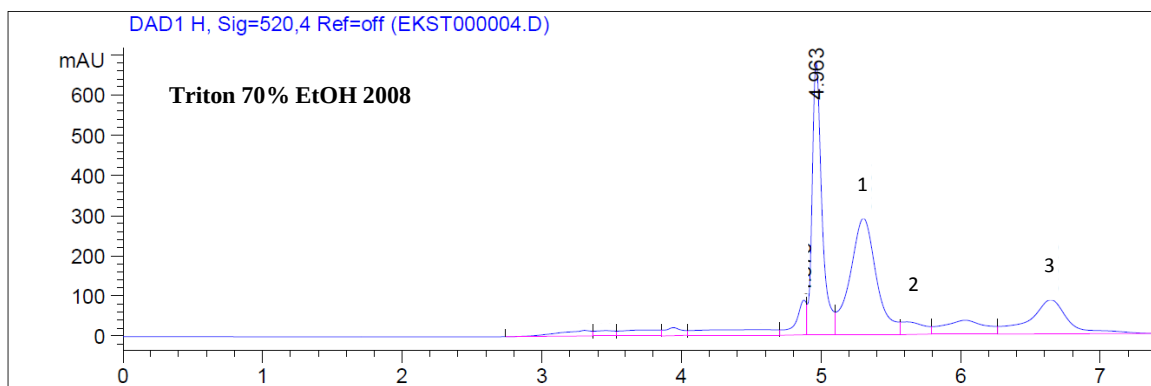
Slika 31. HPLC hromatogram antocijana u 80% etanolnom ekstraktu sorte Triton iz 2008. godine (1-D3R, 2-D3G, 3-C3R, 4-C3G)



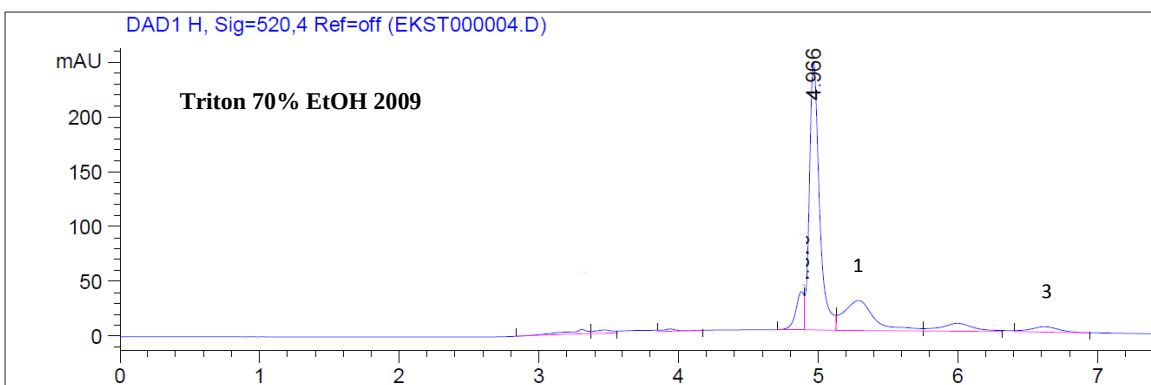
Slika 32. HPLC hromatogram antocijana u 80% etanolnom ekstraktu sorte Triton iz 2009. godine (1-D3R, 2-D3G, 3-C3R, 4-C3G)



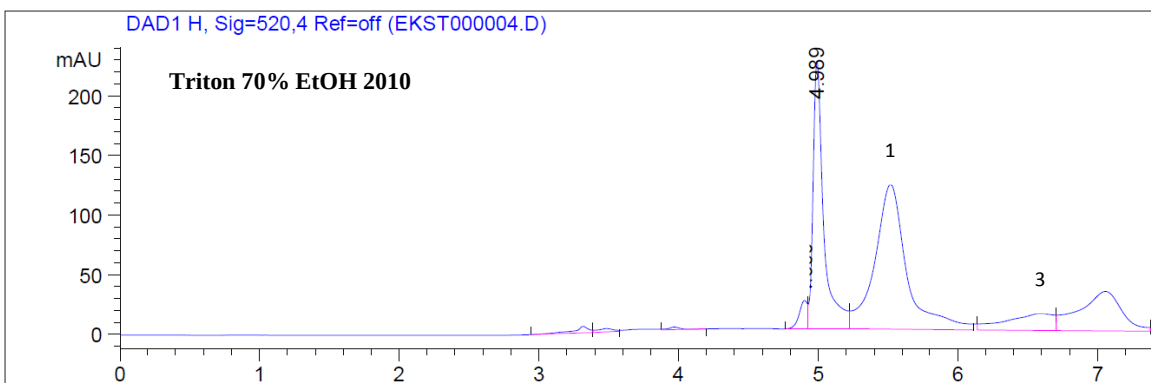
Slika 33. HPLC hromatogram antocijana u 80% etanolnom ekstraktu sorte Triton iz 2010. godine (1-D3R, 2-D3G, 3-C3R, 4-C3G)



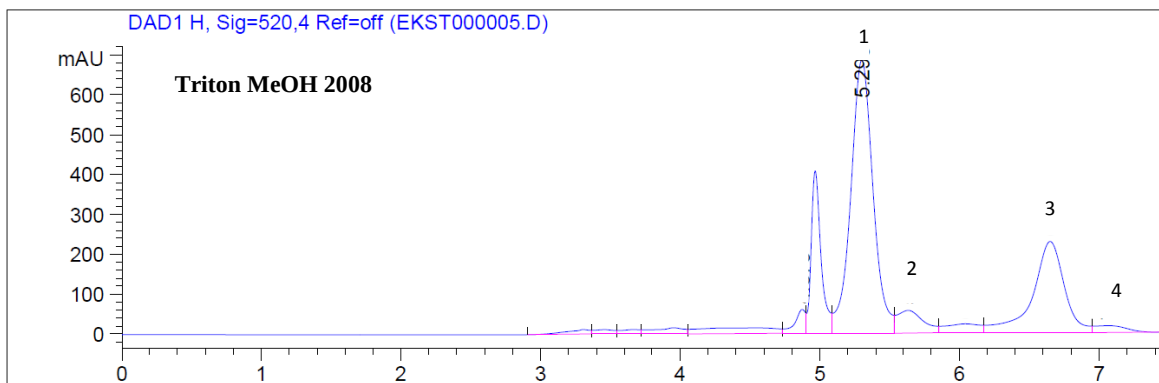
Slika 34. HPLC hromatogram antocijana u 70% etanolnom ekstraktu sorte Triton iz 2008. godine (1-D3R, 2-D3G, 3-C3R, 4-C3G)



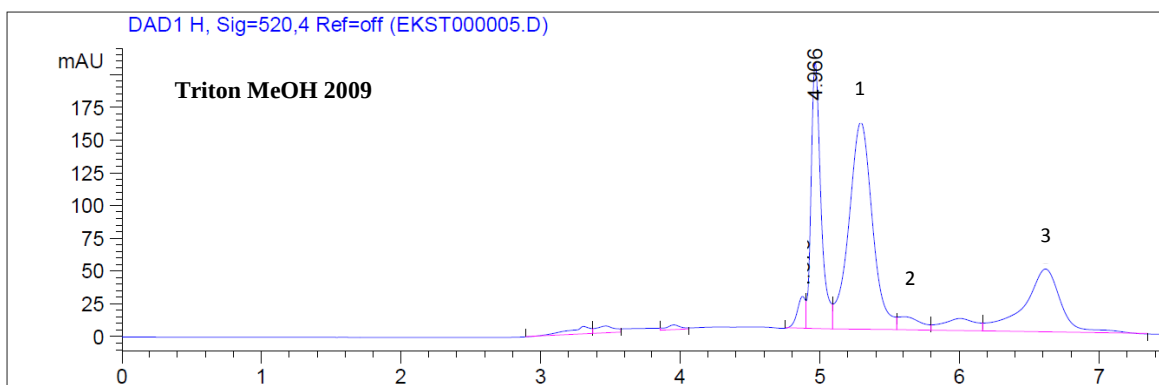
Slika 35. HPLC hromatogram antocijana u 70% etanolnom ekstraktu sorte Triton iz 2009. godine (1-D3R, 2-D3G, 3-C3R, 4-C3G)



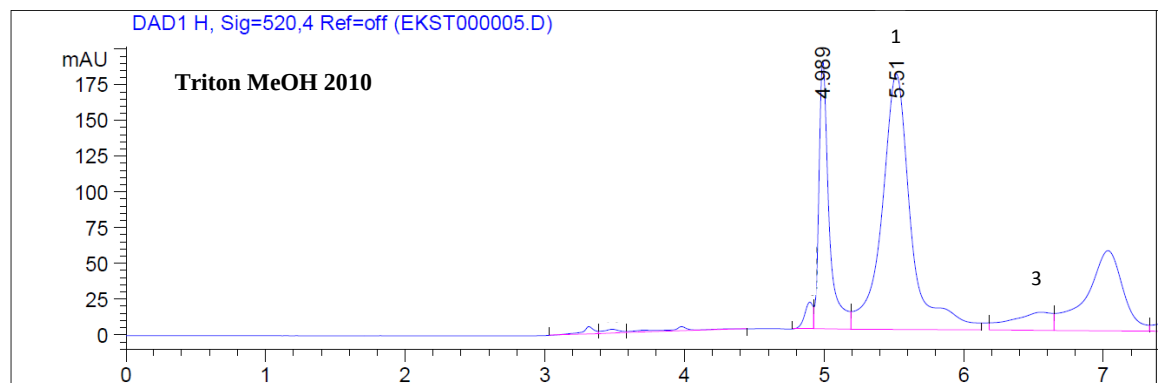
Slika 36. HPLC hromatogram antocijana u 70% etanolnom ekstraktu sorte Triton iz 2010. godine (1-D3R, 2-D3G, 3-C3R, 4-C3G)



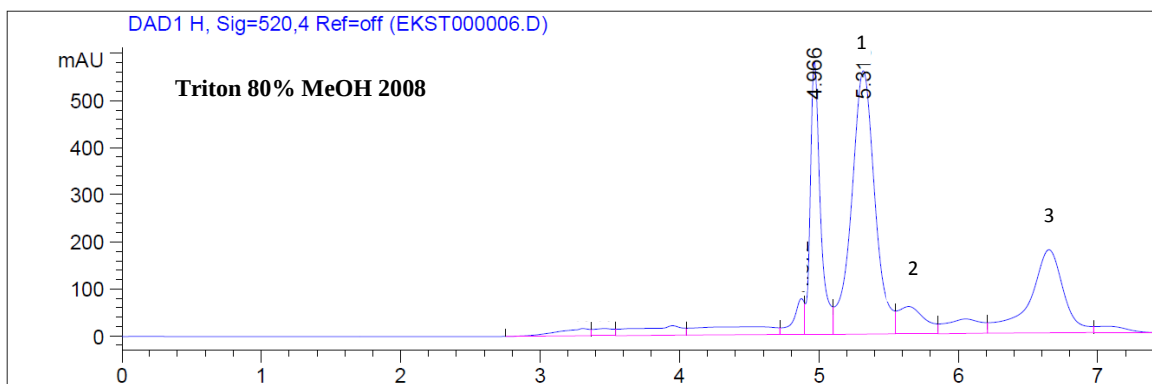
Slika 37. HPLC hromatogram antocijana u metanolnom ekstraktu sorte Triton iz 2008. godine (1-D3R, 2-D3G, 3-C3R, 4-C3G)



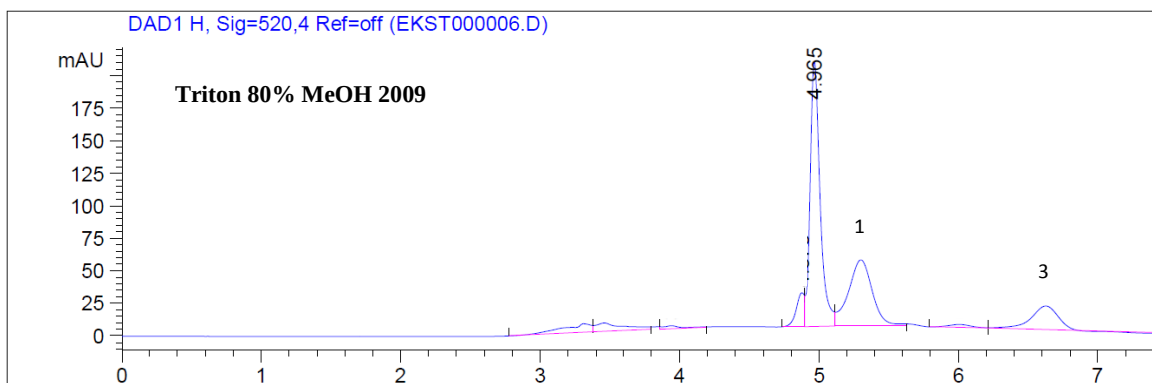
Slika 38. HPLC hromatogram antocijana u metanolnom ekstraktu sorte Triton iz 2009. godine (1-D3R, 2-D3G, 3-C3R, 4-C3G)



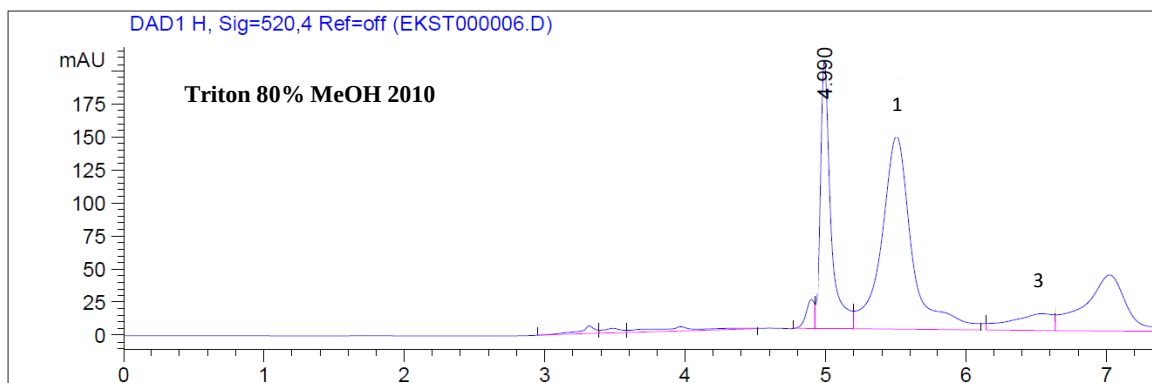
Slika 39. HPLC hromatogram antocijana u metanolnom ekstraktu sorte Triton iz 2010. godine (1-D3R, 2-D3G, 3-C3R, 4-C3G)



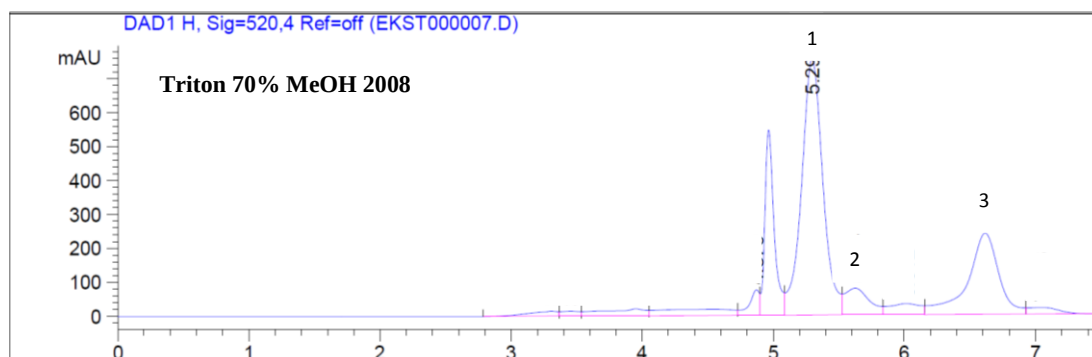
Slika 40. HPLC hromatogram antocijana u 80% metanolnom ekstraktu sorte Triton iz 2008. godine (1-D3R, 2-D3G, 3-C3R, 4-C3G)



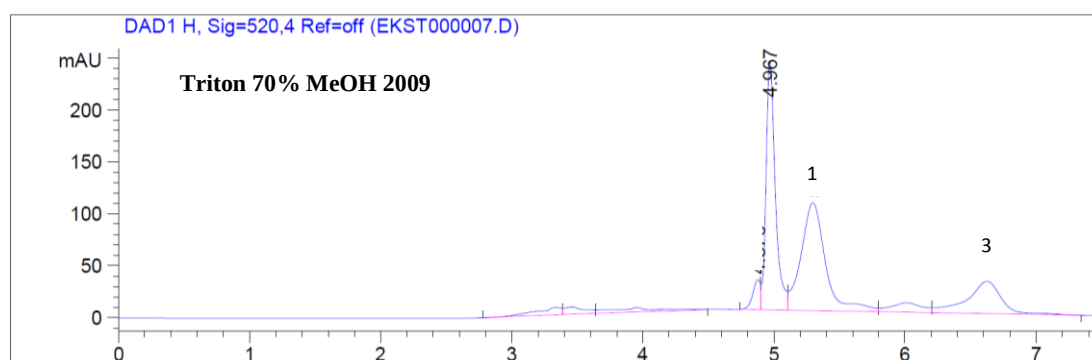
Slika 41. HPLC hromatogram antocijana u 80% metanolnom ekstraktu sorte Triton iz 2009. godine (1-D3R, 2-D3G, 3-C3R, 4-C3G)



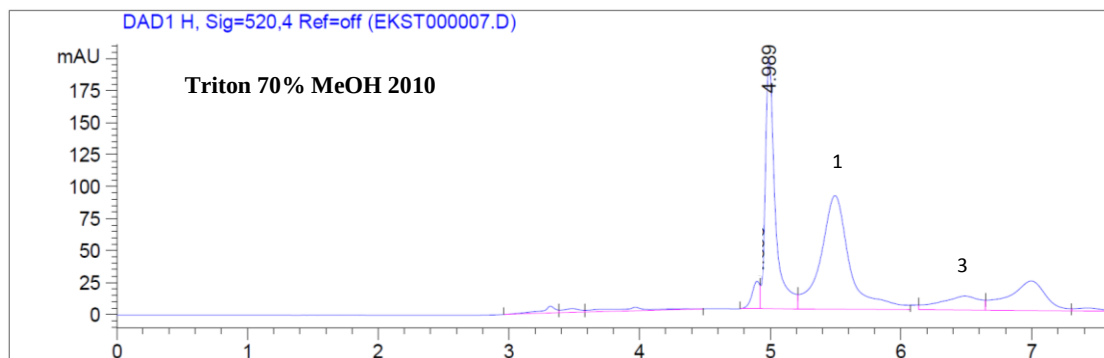
Slika 42. HPLC hromatogram antocijana u 80% metanolnom ekstraktu sorte Triton iz 2010. godine (1-D3R, 2-D3G, 3-C3R, 4-C3G)



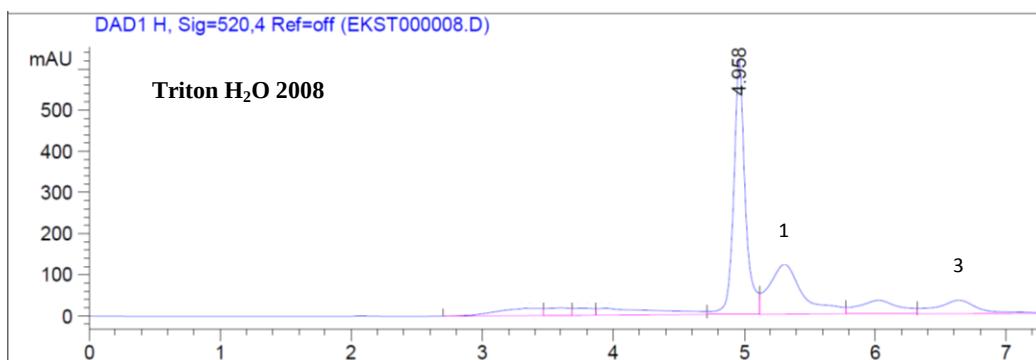
Slika 43. HPLC hromatogram antocijana u 70% metanolnom ekstraktu sorte Triton iz 2010. godine (1-D3R, 2-D3G, 3-C3R, 4-C3G)



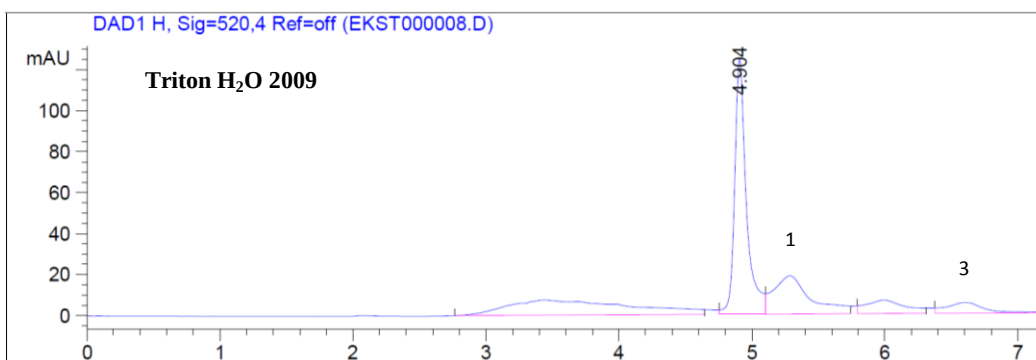
Slika 44. HPLC hromatogram antocijana u 70% metanolnom ekstraktu sorte Triton iz 2010. godine (1-D3R, 2-D3G, 3-C3R, 4-C3G)



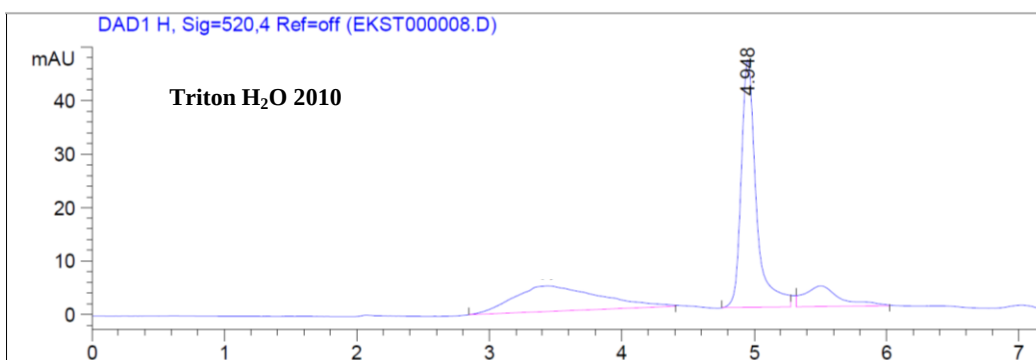
Slika 45. HPLC hromatogram antocijana u 70% metanolnom ekstraktu sorte Triton iz 2010. godine (1-D3R, 2-D3G, 3-C3R, 4-C3G)



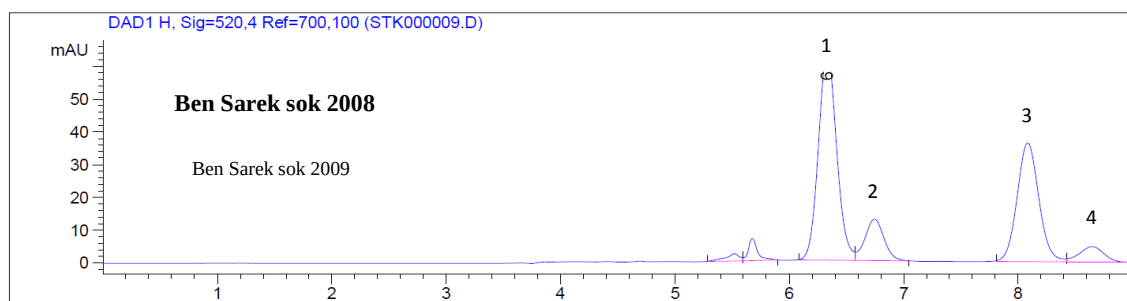
Slika 46. HPLC hromatogram antocijana u vodenom ekstraktu sorte Triton iz 2008. godine (1-D3R, 2-D3G, 3-C3R, 4-C3G)



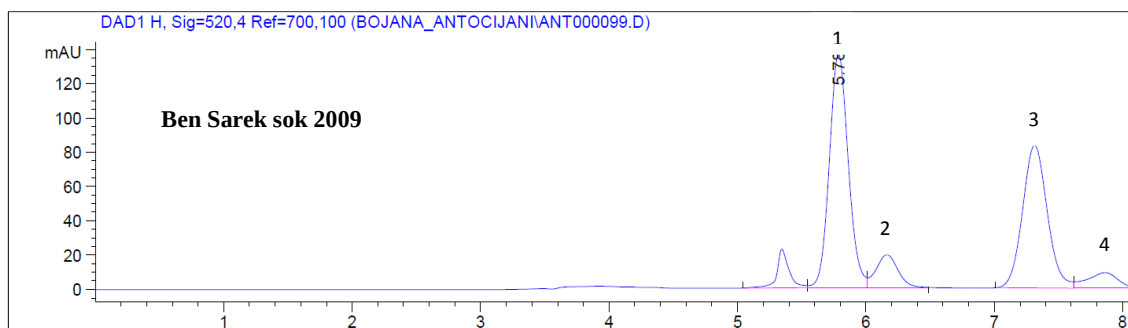
Slika 47. HPLC hromatogram antocijana u vodenom ekstraktu sorte Triton iz 2009. godine (1-D3R, 2-D3G, 3-C3R, 4-C3G)



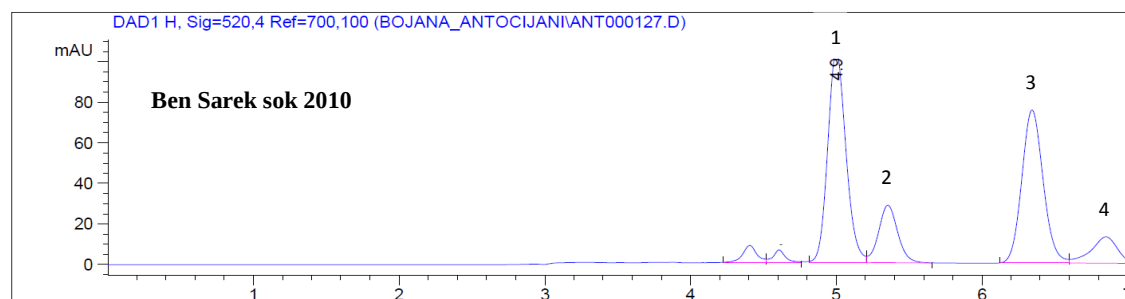
Slika 48. HPLC hromatogram antocijana u vodenom ekstraktu sorte Triton iz 2010. godine (1-D3R, 2-D3G, 3-C3R, 4-C3G)



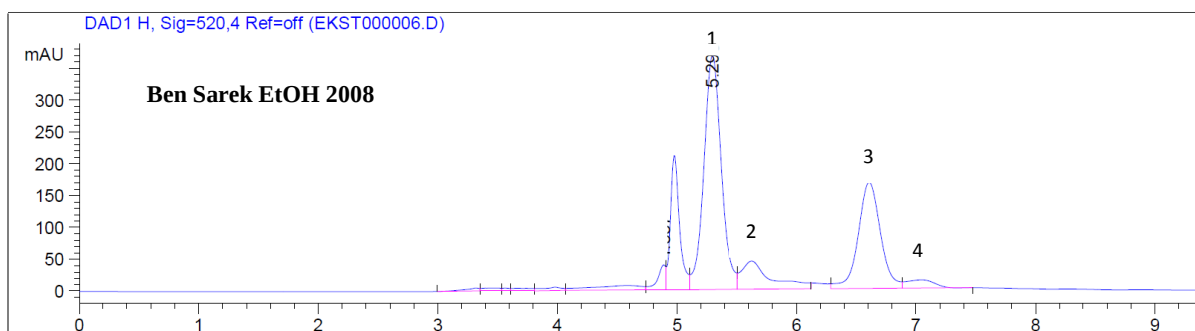
Slika 49. HPLC hromatogram antocijana u soku sorte Ben Sarek iz 2008. godine (1-D3R, 2-D3G, 3-C3R, 4-C3G)



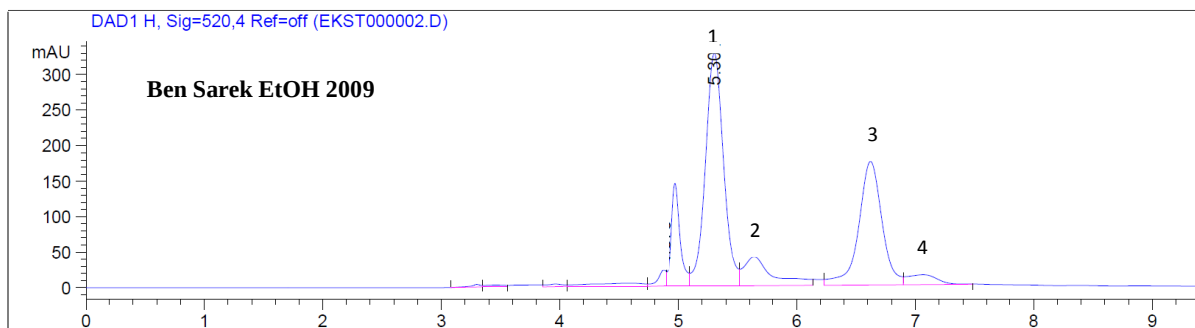
Slika 50. HPLC hromatogram antocijana u soku sorte Ben Sarek iz 2009. godine (1-D3R, 2-D3G, 3-C3R, 4-C3G)



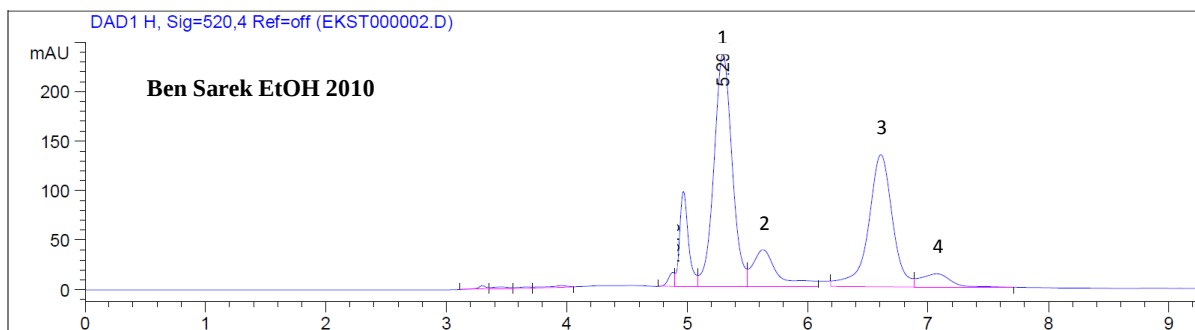
Slika 51. HPLC hromatogram antocijana u soku sorte Ben Sarek iz 2010. godine (1-D3R, 2-D3G, 3-C3R, 4-C3G)



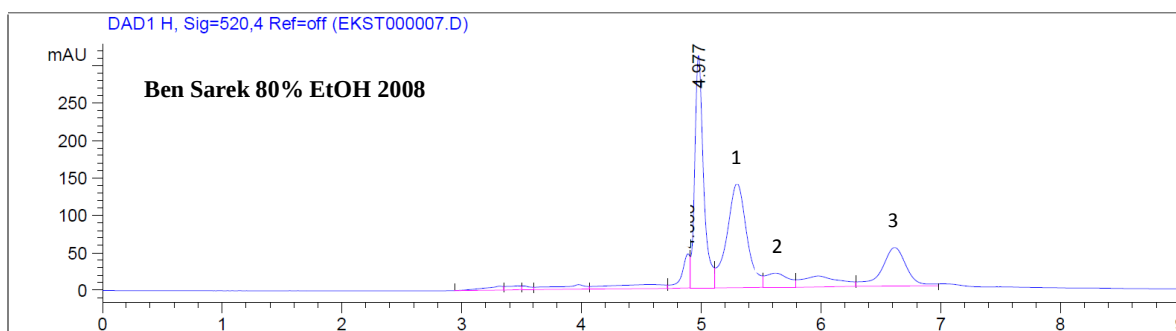
Slika 52. HPLC hromatogram antocijana u etanolnom ekstraktu sorte Ben Sarek iz 2008. godine (1-D3R, 2-D3G, 3-C3R, 4-C3G)



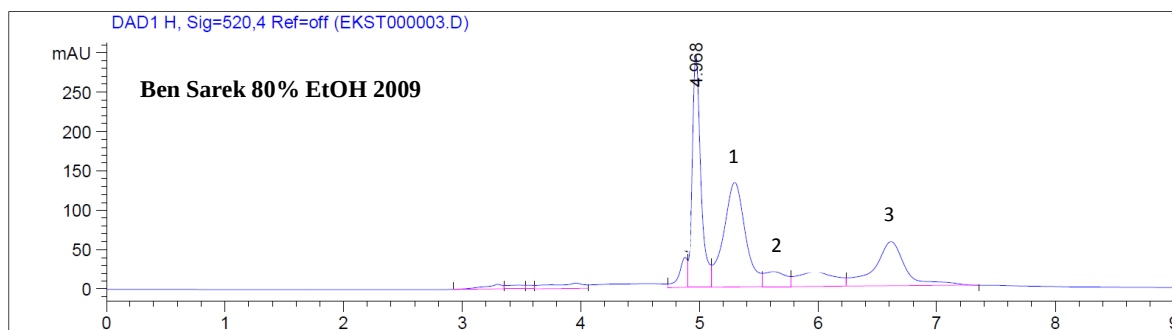
Slika 53. HPLC hromatogram antocijana u etanolnom ekstraktu sorte Ben Sarek iz 2009. godine (1-D3R, 2-D3G, 3-C3R, 4-C3G)



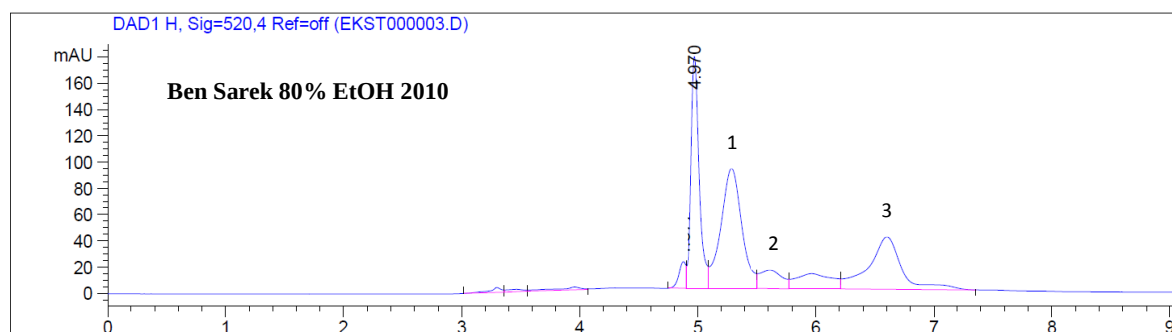
Slika 54. HPLC hromatogram antocijana u etanolnom ekstraktu sorte Ben Sarek iz 2010. godine (1-D3R, 2-D3G, 3-C3R, 4-C3G)



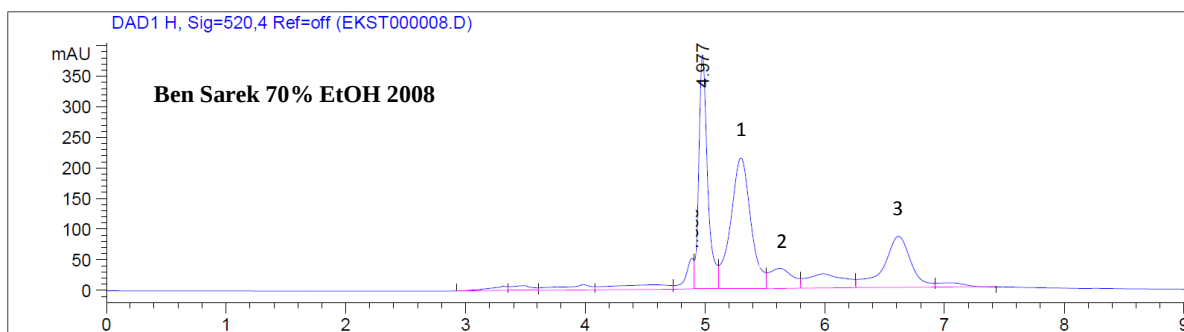
Slika 55. HPLC hromatogram antocijana u 80% etanolnom ekstraktu sorte Ben Sarek iz 2008. godine (1-D3R, 2-D3G, 3-C3R, 4-C3G)



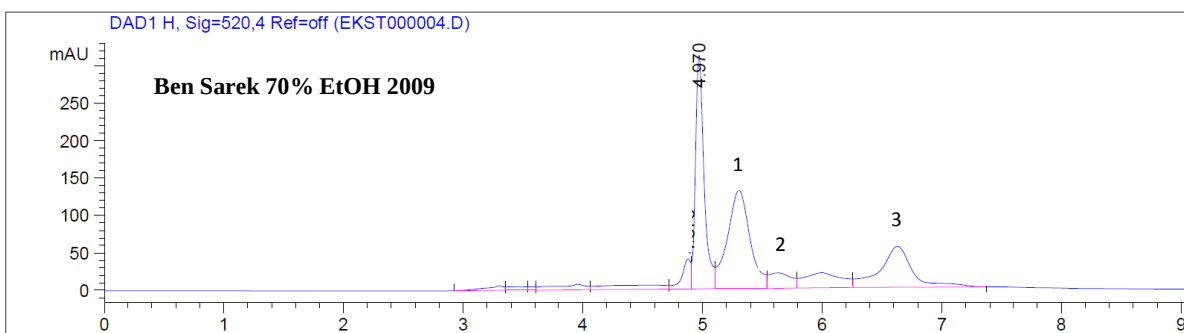
Slika 56. HPLC hromatogram antocijana u 80% etanolnom ekstraktu sorte Ben Sarek iz 2009. godine (1-D3R, 2-D3G, 3-C3R, 4-C3G)



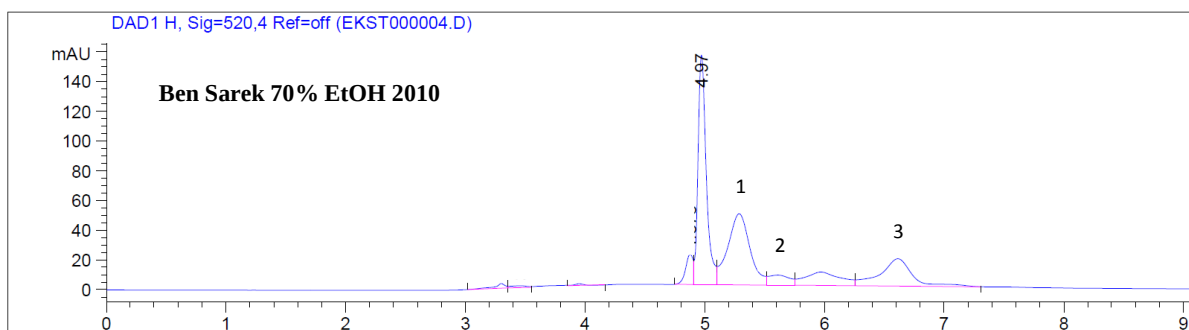
Slika 57. HPLC hromatogram antocijana u 80% etanolnom ekstraktu sorte Ben Sarek iz 2010. godine (1-D3R, 2-D3G, 3-C3R, 4-C3G)



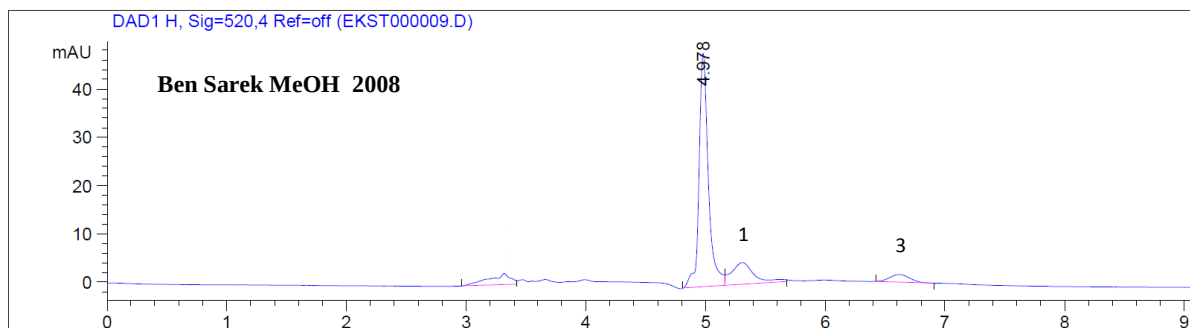
Slika 58. HPLC hromatogram antocijana u 70% etanolnom ekstraktu sorte Ben Sarek iz 2008. godine (1-D3R, 2-D3G, 3-C3R, 4-C3G)



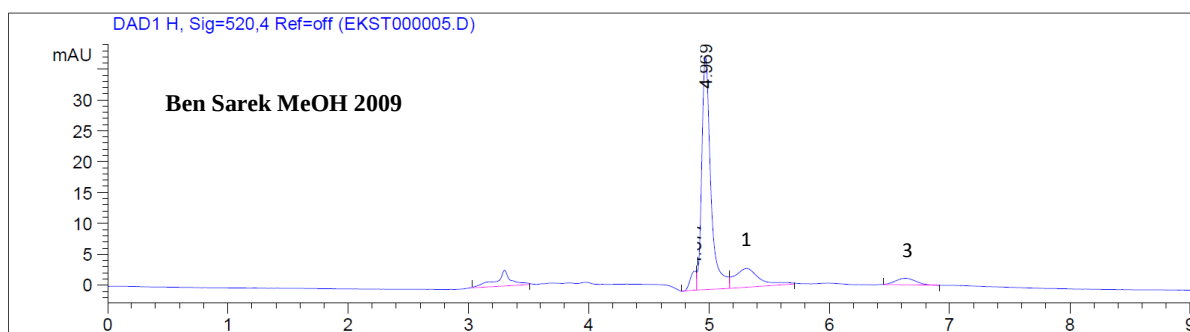
Slika 59. HPLC hromatogram antocijana u 70% etanolnom ekstraktu sorte Ben Sarek iz 2009. godine (1-D3R, 2-D3G, 3-C3R, 4-C3G)



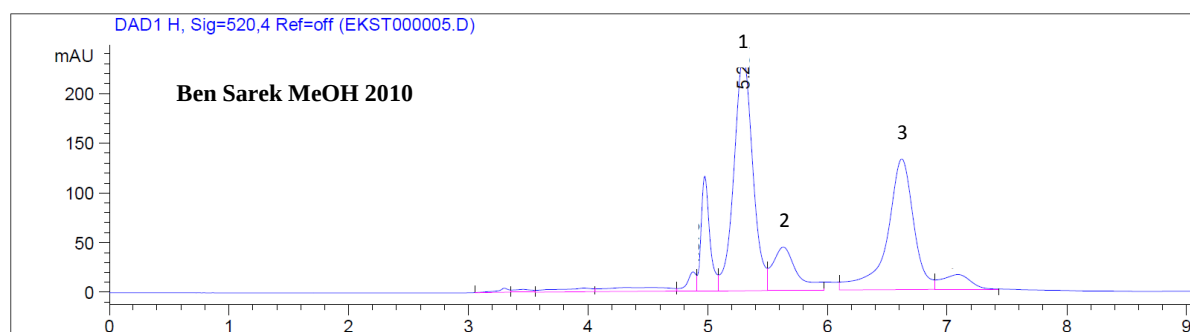
Slika 60. HPLC hromatogram antocijana u 70% etanolnom ekstraktu sorte Ben Sarek iz 2010. godine (1-D3R, 2-D3G, 3-C3R, 4-C3G)



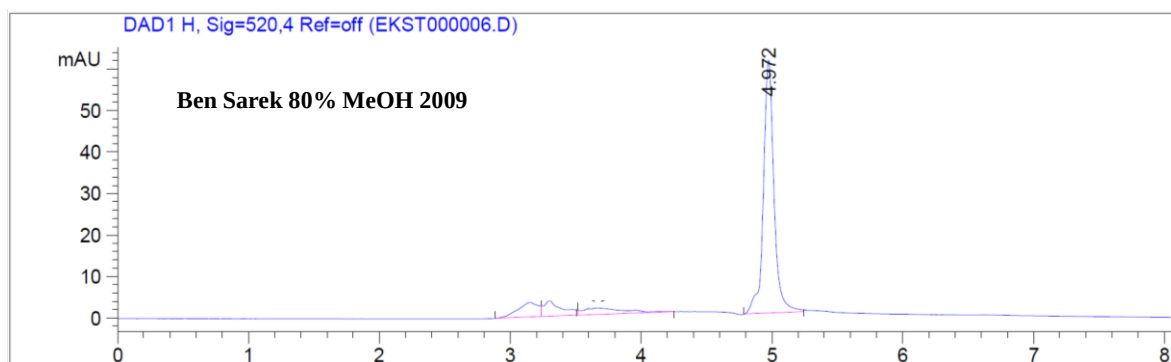
Slika 61. HPLC hromatogram antocijana u metanolnom ekstraktu sorte Ben Sarek iz 2008. godine (1-D3R, 2-D3G, 3-C3R, 4-C3G)



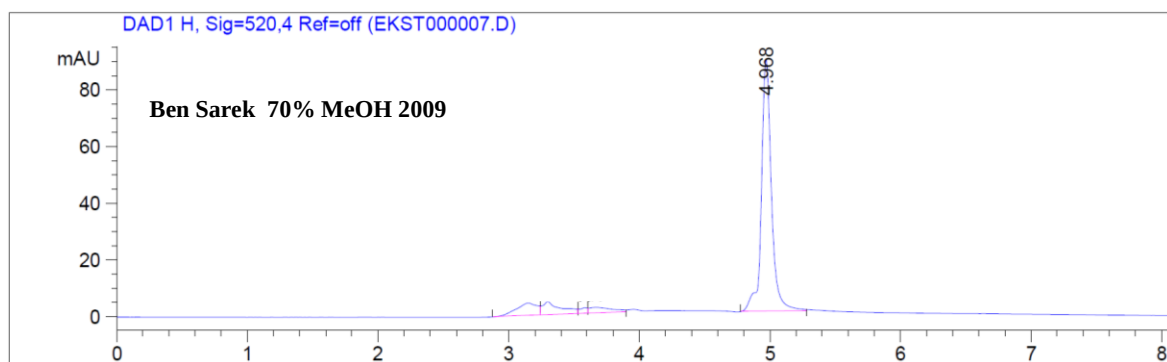
Slika 62. HPLC hromatogram antocijana u metanolnom ekstraktu sorte Ben Sarek iz 2009. godine (1-D3R, 2-D3G, 3-C3R, 4-C3G)



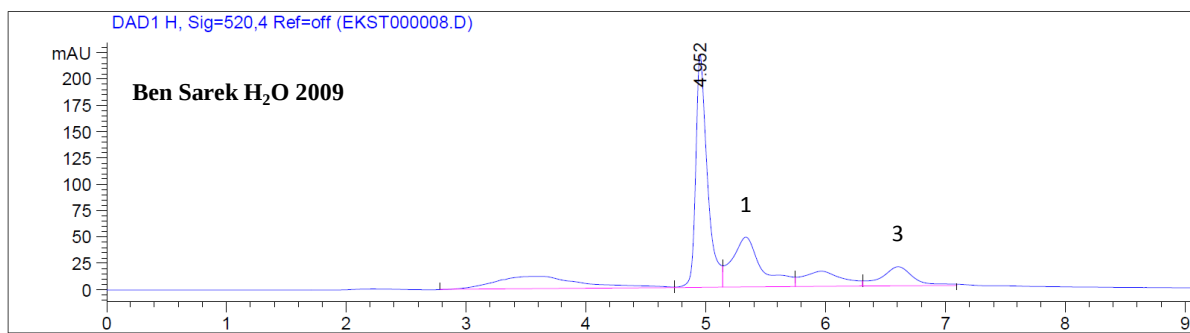
Slika 63. HPLC hromatogram antocijana u metanolnom ekstraktu sorte Ben Sarek iz 2010. godine (1-D3R, 2-D3G, 3-C3R, 4-C3G)



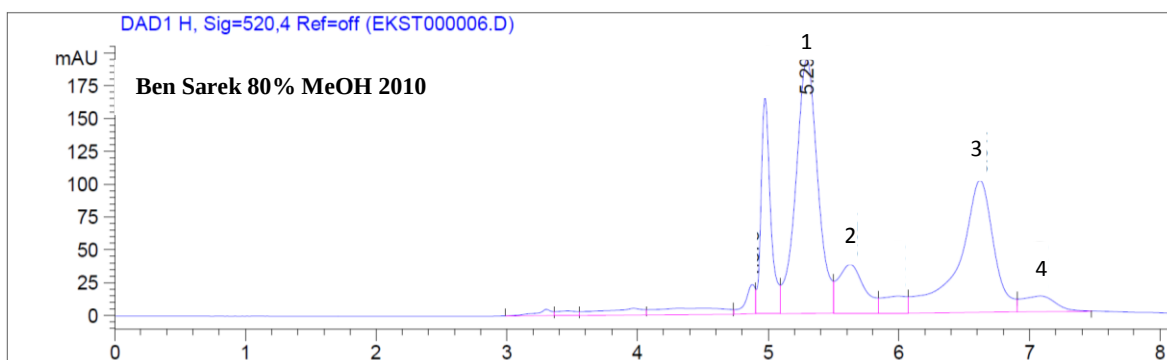
Slika 64. HPLC hromatogram antocijana u 80% metanolnom ekstraktu sorte Ben Sarek iz 2009. godine (1-D3R, 2-D3G, 3-C3R, 4-C3G)



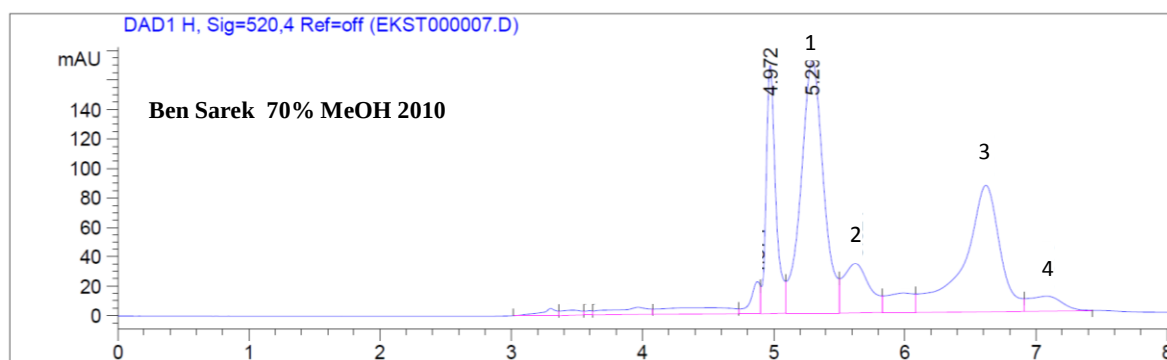
Slika 65. HPLC hromatogram antocijana u 70% metanolnom ekstraktu sorte Ben Sarek iz 2009. godine (1-D3R, 2-D3G, 3-C3R, 4-C3G)



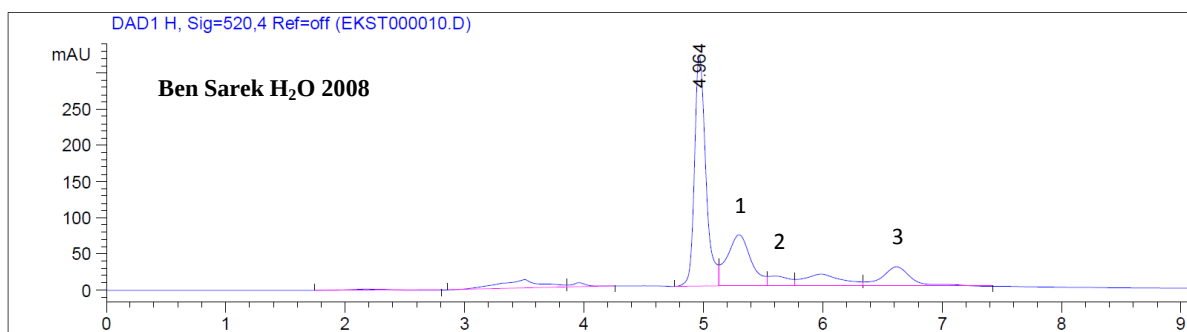
Slika 66. HPLC hromatogram antocijana u vodenom ekstraktu sorte Ben Sarek iz 2009. godine (1-D3R, 2-D3G, 3-C3R, s4-C3G)



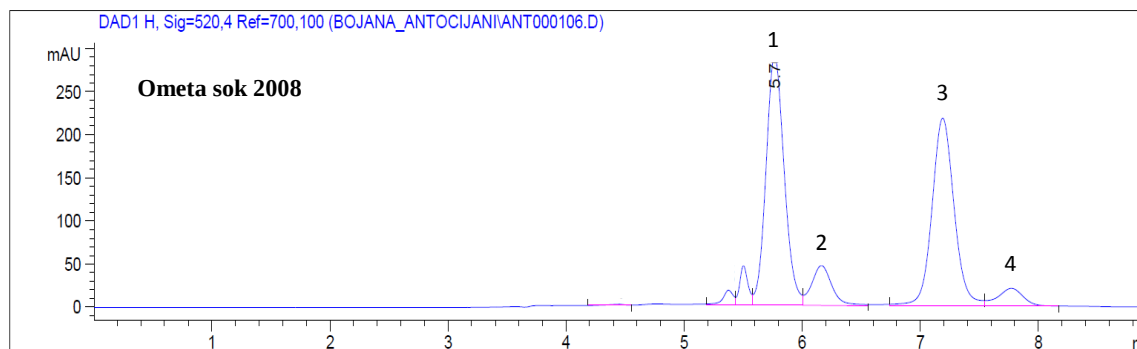
Slika 67. HPLC hromatogram antocijana u 80% metanolnom ekstraktu sorte Ben Sarek iz 2010. godine (1-D3R, 2-D3G, 3-C3R, 4-C3G)



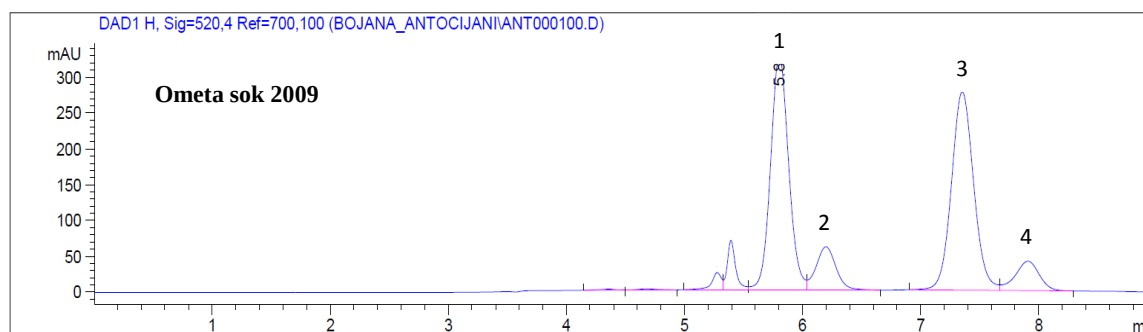
Slika 68. HPLC hromatogram antocijana u 70% metanolnom ekstraktu sorte Ben Sarek iz 2010. godine (1-D3R, 2-D3G, 3-C3R, 4-C3G)



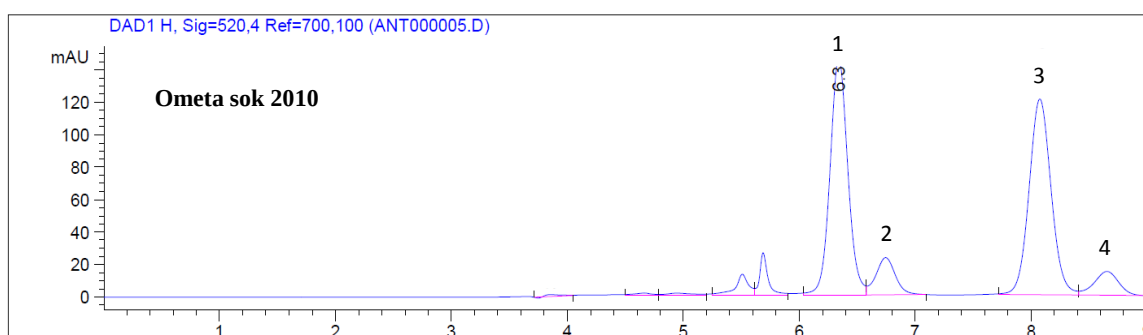
Slika 69. HPLC hromatogram antocijana u vodenom ekstraktu sorte Ben Sarek iz 2008. godine (1-D3R, 2-D3G, 3-C3R, 4-C3G)



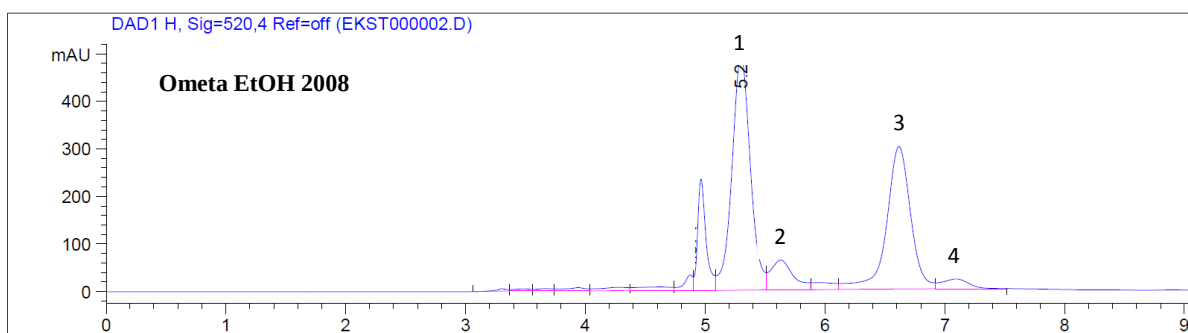
Slika 70. HPLC hromatogram antocijana u soku sorte Ometa iz 2008. godine (1-D3R, 2-D3G, 3-C3R, 4-C3G)



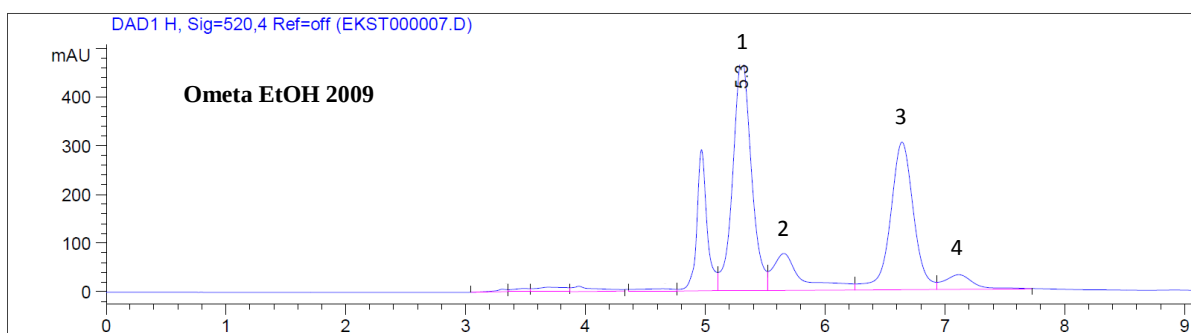
Slika 71. HPLC hromatogram antocijana u soku sorte Ometa iz 2009. godine (1-D3R, 2-D3G, 3-C3R, 4-C3G)



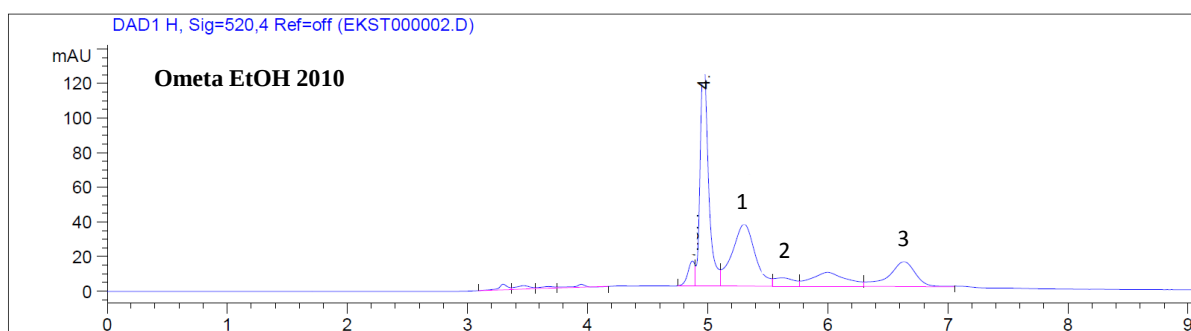
Slika 72. HPLC hromatogram antocijana u soku sorte Ometa iz 2010. godine (1-D3R, 2-D3G, 3-C3R, 4-C3G)



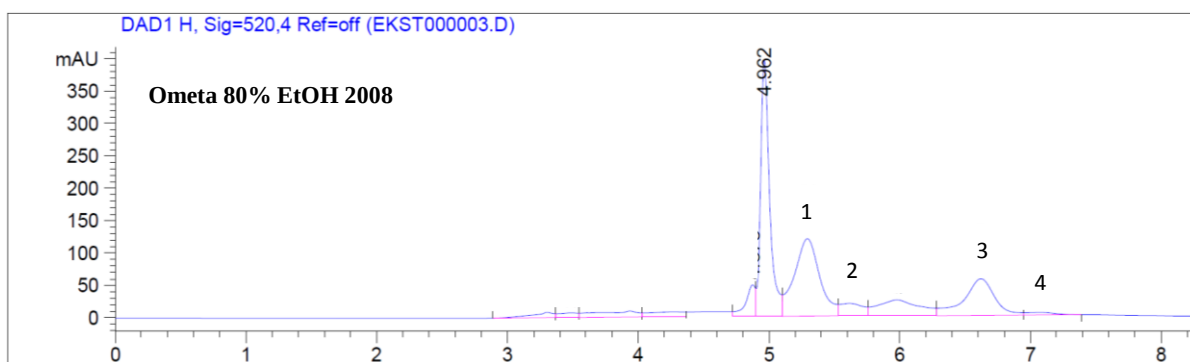
Slika 73. HPLC hromatogram antocijana u etanolnom ekstraktu sorte Ometa iz 2008. godine (1-D3R, 2-D3G, 3-C3R, 4-C3G)



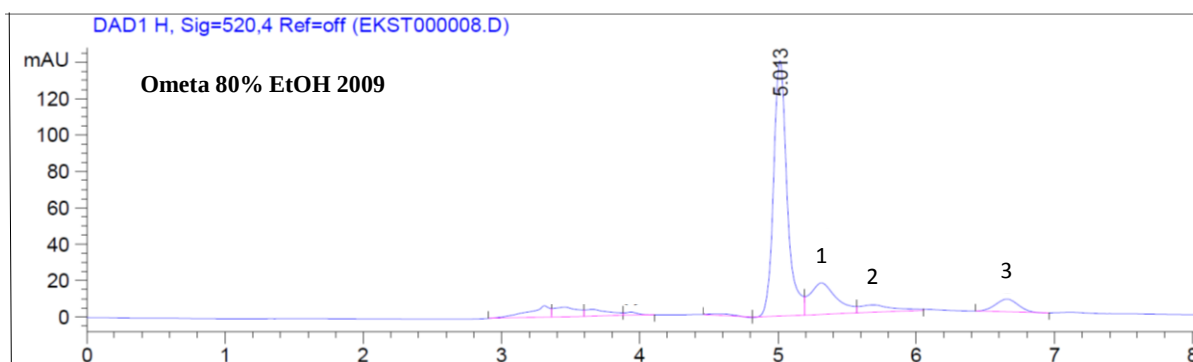
Slika 74. HPLC hromatogram antocijana u etanolnom ekstraktu sorte Ometa iz 2009. godine (1-D3R, 2-D3G, 3-C3R, 4-C3G)



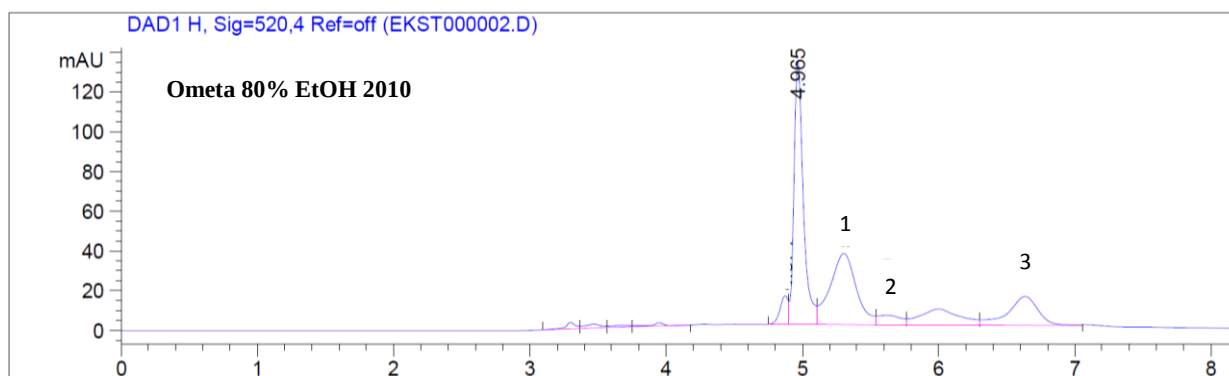
Slika 75. HPLC hromatogram antocijana u etanolnom ekstraktu sorte Ometa iz 2010. godine (1-D3R, 2-D3G, 3-C3R, 4-C3G)



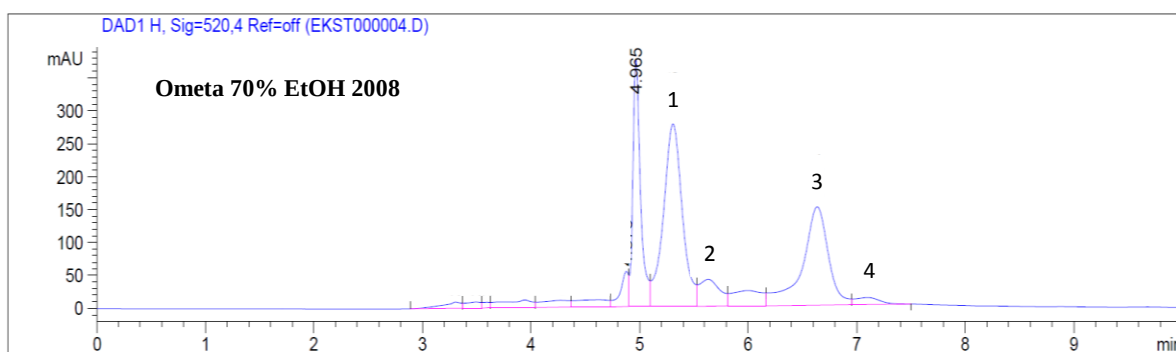
Slika 76. HPLC hromatogram antocijana u 80% etanolnom ekstraktu sorte Ometa iz 2008. godine (1-D3R, 2-D3G, 3-C3R, 4-C3G)



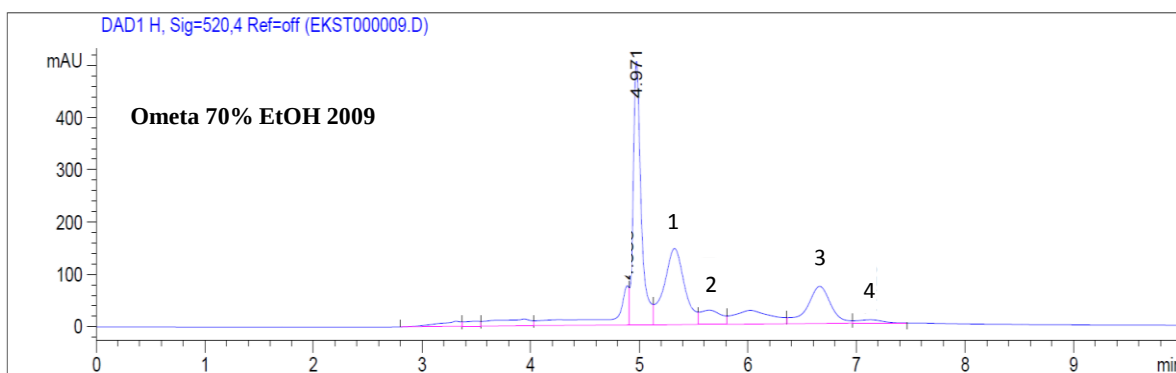
Slika 77. HPLC hromatogram antocijana u 80% etanolnom ekstraktu sorte Ometa iz 2009. godine (1-D3R, 2-D3G, 3-C3R, 4-C3G)



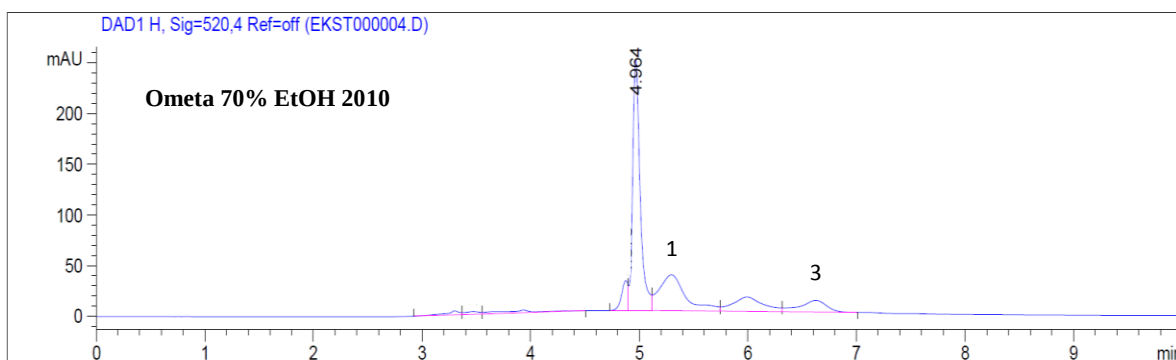
Slika 78. HPLC hromatogram antocijana u 80% etanolnom ekstraktu sorte Ometa iz 2010. godine (1-D3R, 2-D3G, 3-C3R, 4-C3G)



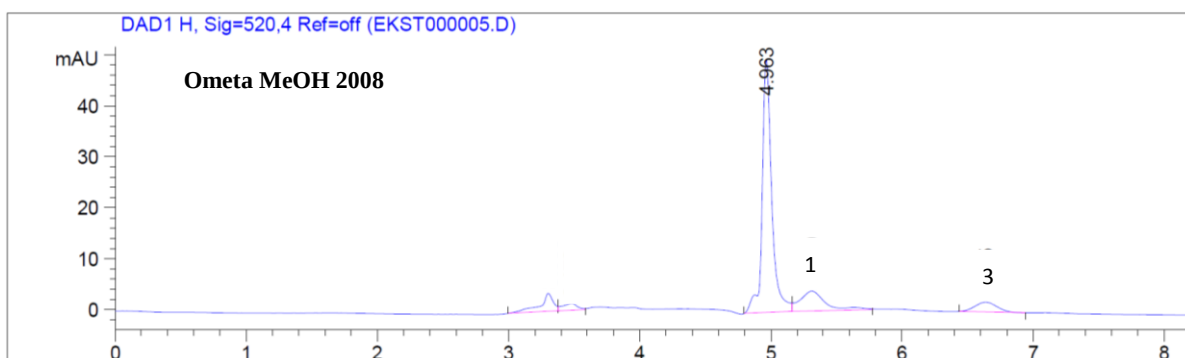
Slika 79. HPLC hromatogram antocijana u 70% etanolnom ekstraktu sorte Ometa iz 2008. godine (1-D3R, 2-D3G, 3-C3R, 4-C3G)



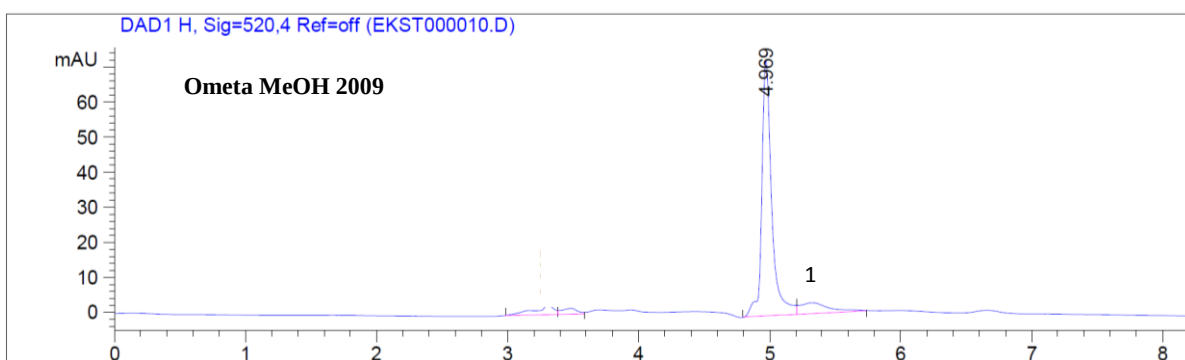
Slika 80. HPLC hromatogram antocijana u 70% etanolnom ekstraktu sorte Ometa iz 2009. godine (1-D3R, 2-D3G, 3-C3R, 4-C3G)



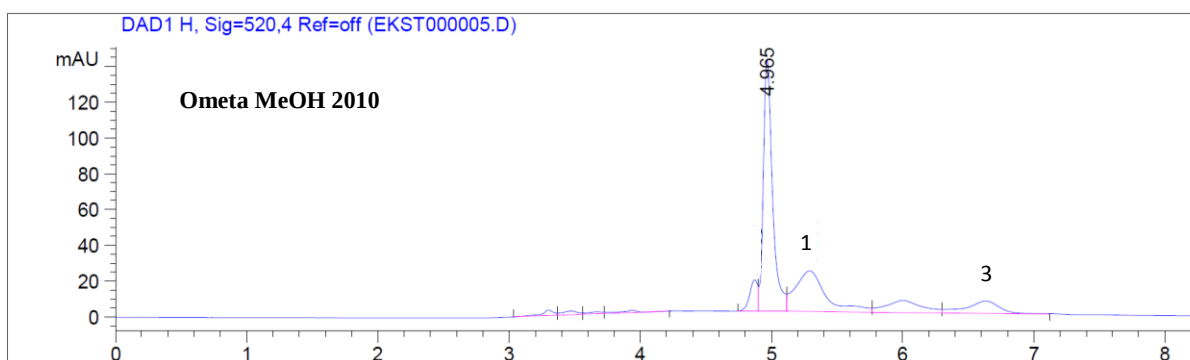
Slika 81. HPLC hromatogram antocijana u 70% etanolnom ekstraktu sorte Ometa iz 2010. godine (1-D3R, 2-D3G, 3-C3R, 4-C3G)



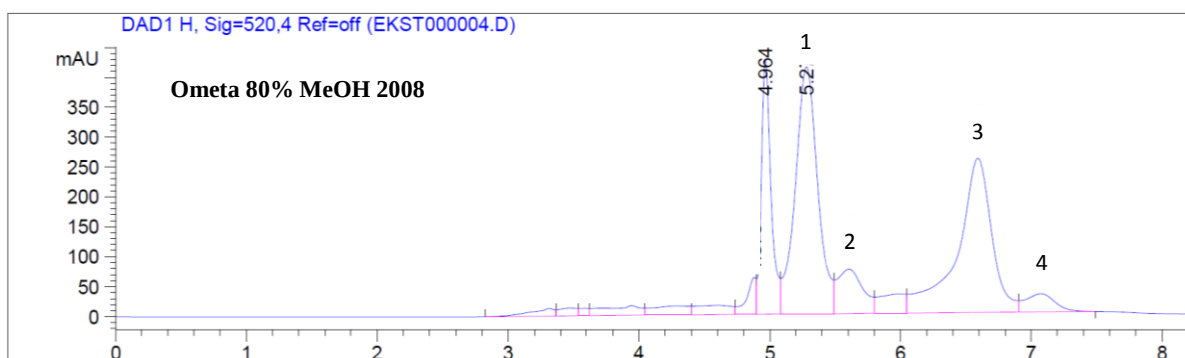
Slika 82. HPLC hromatogram antocijana u metanolnom ekstraktu sorte Ometa iz 2008. godine (1-D3R, 2-D3G, 3-C3R, 4-C3G)



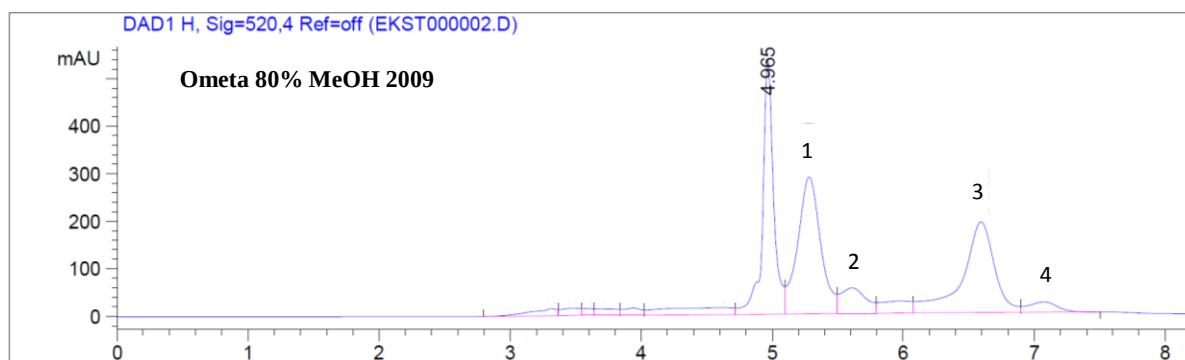
Slika 83. HPLC hromatogram antocijana u metanolnom ekstraktu sorte Ometa iz 2009. godine (1-D3R, 2-D3G, 3-C3R, 4-C3G)



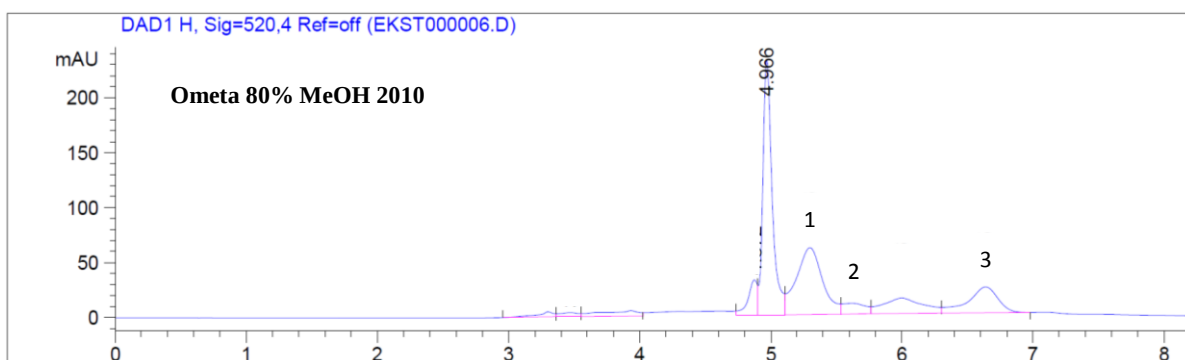
Slika 84. HPLC hromatogram antocijana u metanolnom ekstraktu sorte Ometa iz 2010. godine (1-D3R, 2-D3G, 3-C3R, 4-C3G)



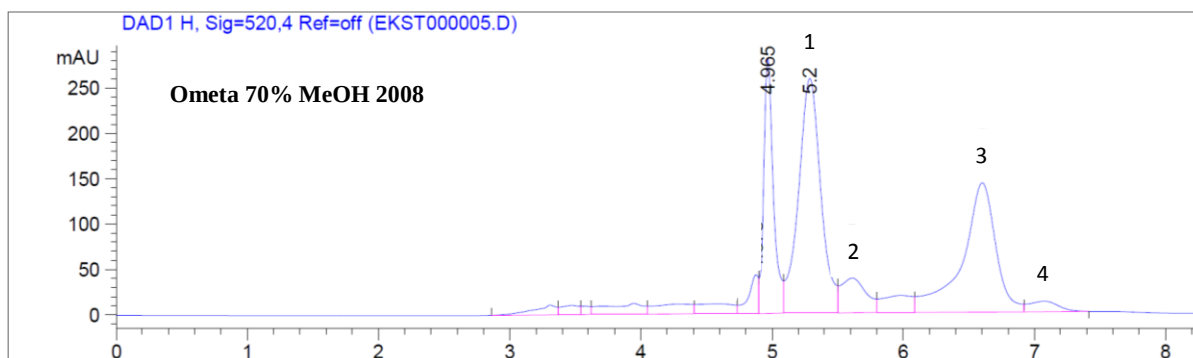
Slika 85. HPLC hromatogram antocijana u 80% metanolnom ekstraktu sorte Ometa iz 2008. godine (1-D3R, 2-D3G, 3-C3R, 4-C3G)



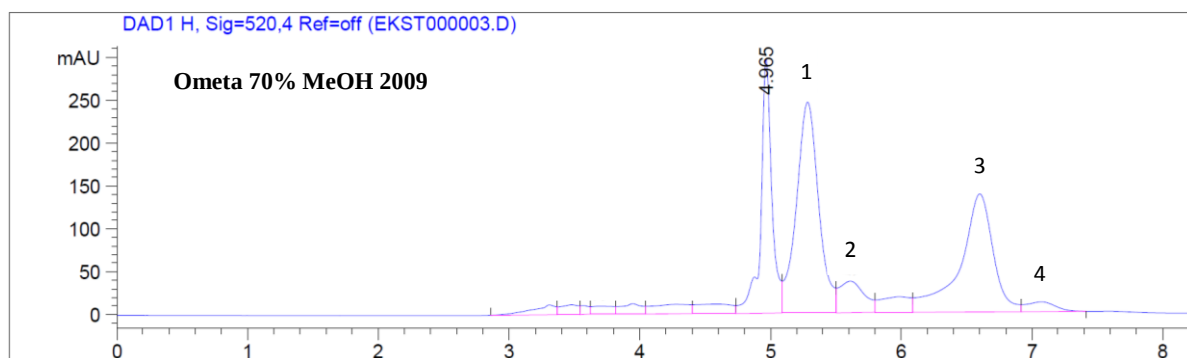
Slika 86. HPLC hromatogram antocijana u 80% metanolnom ekstraktu sorte Ometa iz 2009. godine (1-D3R, 2-D3G, 3-C3R, 4-C3G)



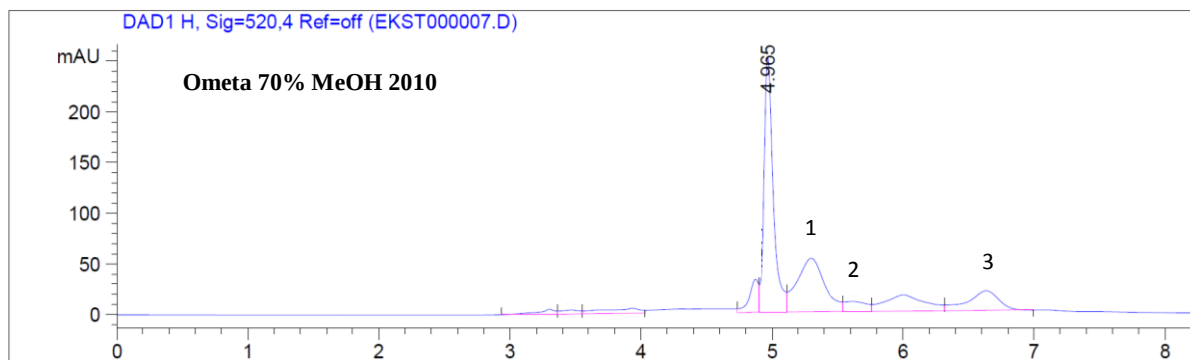
Slika 87. HPLC hromatogram antocijana u 80% metanolnom ekstraktu sorte Ometa iz 2010. godine (1-D3R, 2-D3G, 3-C3R, 4-C3G)



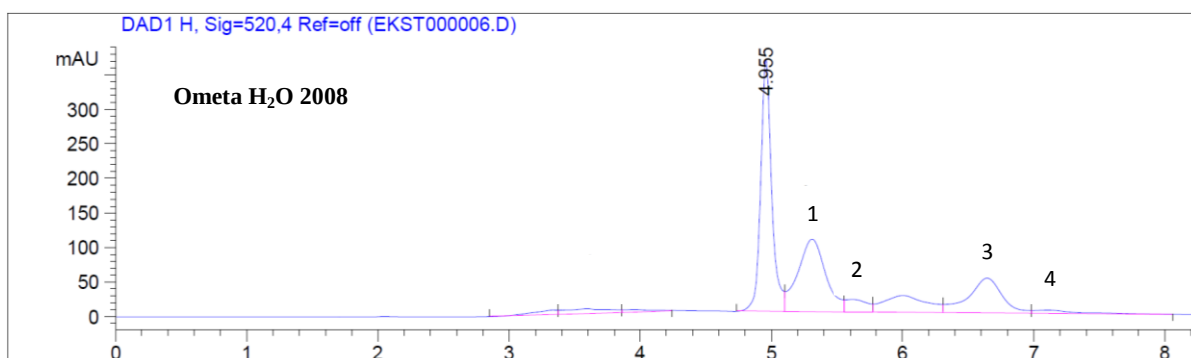
Slika 88. HPLC hromatogram antocijana u 70% metanolnom ekstraktu sorte Omota iz 2008. godine (1-D3R, 2-D3G, 3-C3R, 4-C3G)



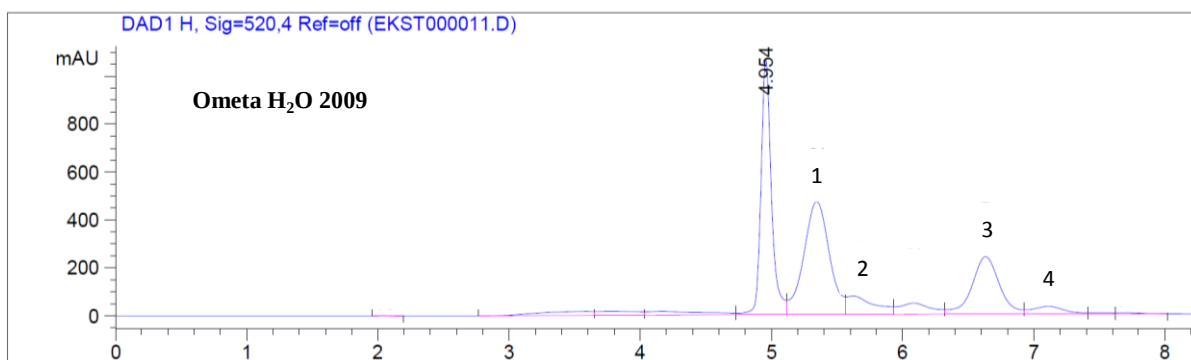
Slika 89. HPLC hromatogram antocijana u 70% metanolnom ekstraktu sorte Omota iz 2009. godine (1-D3R, 2-D3G, 3-C3R, 4-C3G)



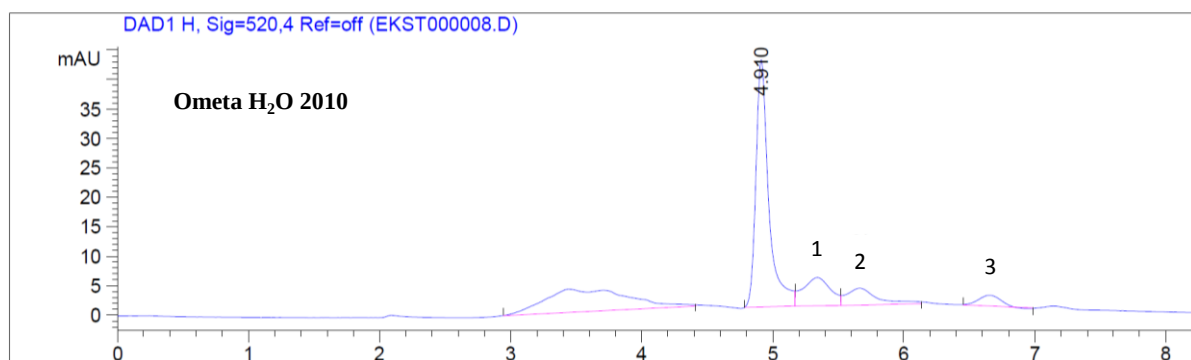
Slika 90. HPLC hromatogram antocijana u 70% metanolnom ekstraktu sorte Omota iz 2010. godine (1-D3R, 2-D3G, 3-C3R, 4-C3G)



Slika 91. HPLC hromatogram antocijana u vodenom ekstraktu sorte Ometa iz 2008. godine (1-D3R, 2-D3G, 3-C3R, 4-C3G)



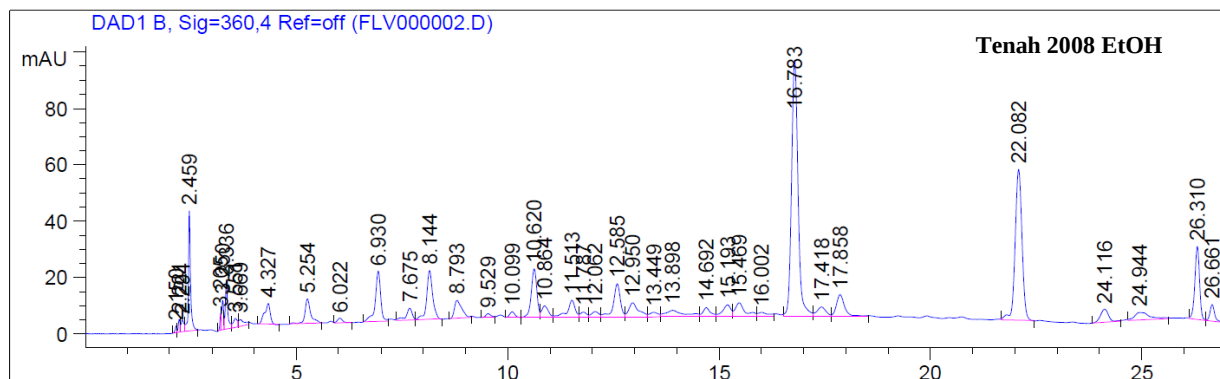
Slika 92. HPLC hromatogram antocijana u vodenom ekstraktu sorte Ometa iz 2009. godine (1-D3R, 2-D3G, 3-C3R, 4-C3G)



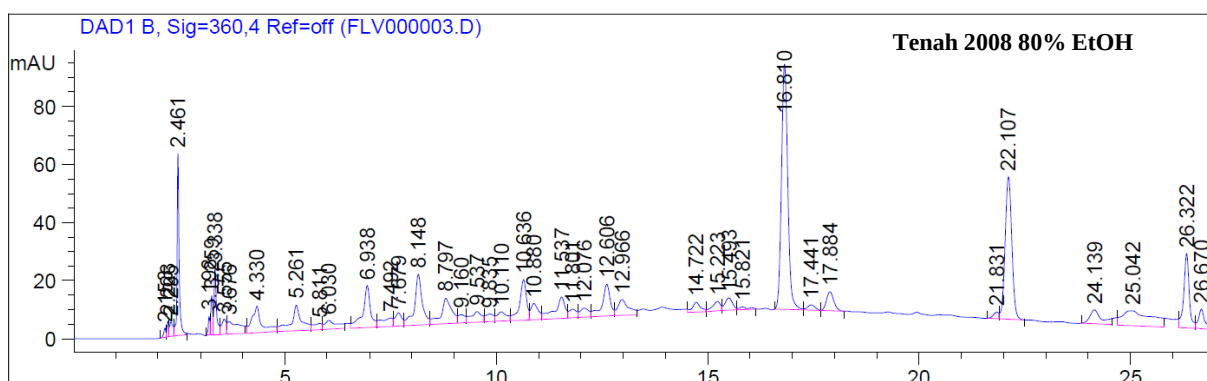
Slika 93. HPLC hromatogram antocijana u vodenom ekstraktu sorte Ometa iz 2010. godine (1-D3R, 2-D3G, 3-C3R, 4-C3G)

PRILOG III

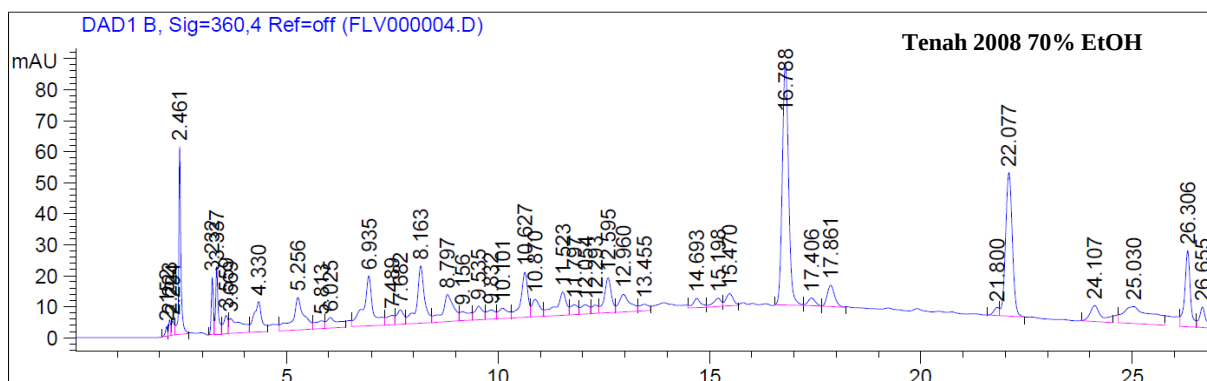
HPLC hromatogrami flavonoida u sokovima i ekstraktima plodova crnih ribizli (*Ribes nigrum* L.)



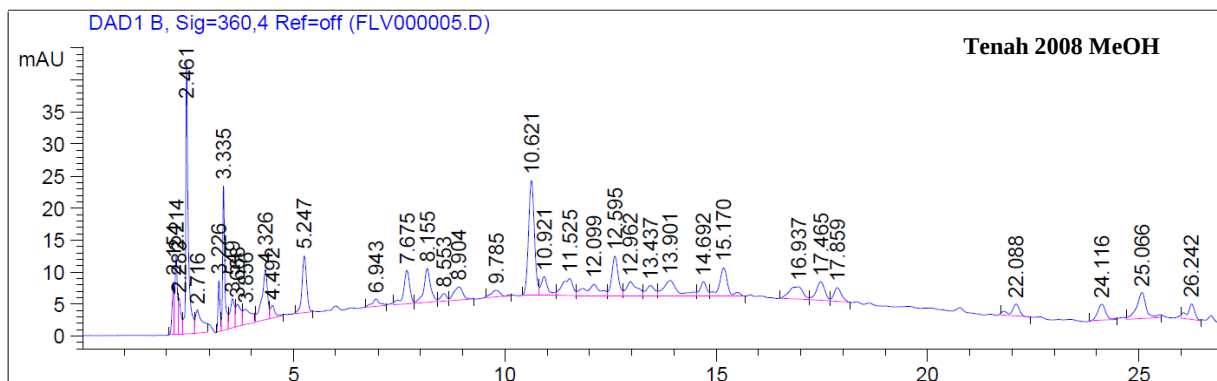
Slika 1. HPLC hromatogram flavonoida u etanolnom ekstraktu sorte Tenah iz 2008 ($r_t=16.79 - M$, $r_t=22.07 - Q$, $r_t=26.3 - K$)



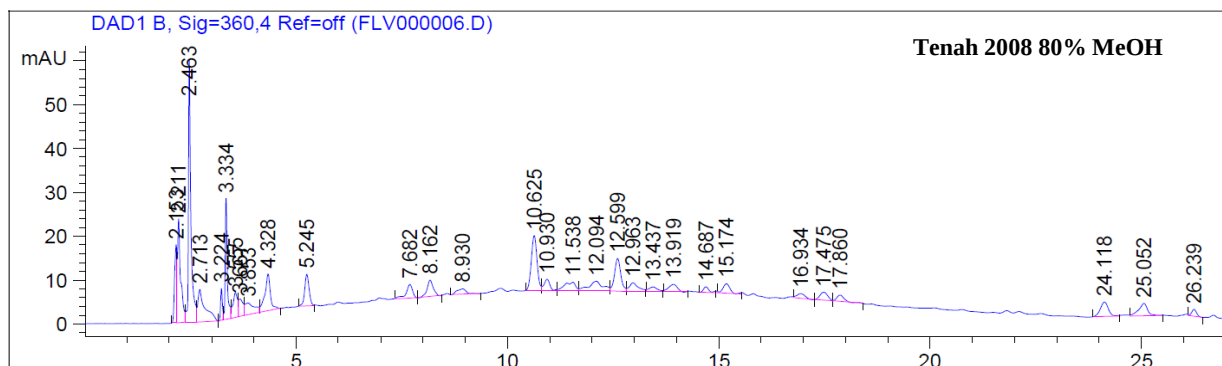
Slika 2. HPLC hromatogram flavonoida u 80% etanolnom ekstraktu sorte Tenah iz 2008 ($r_t=16.8 - M$, $r_t=22.1 - Q$, $r_t=26.3 - K$)



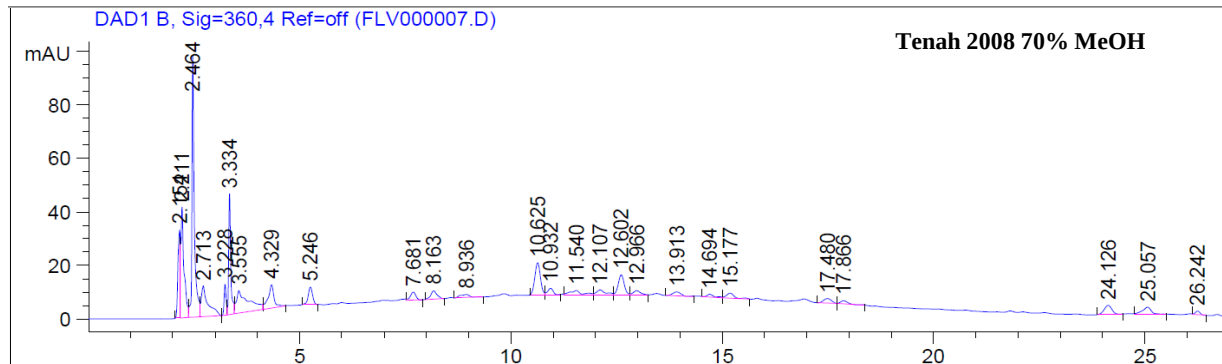
Slika 3. HPLC hromatogram flavonoida u 70% etanolnom ekstraktu sorte Tenah iz 2008 ($r_t=16.8 - M$, $r_t=22.1 - Q$, $r_t=26.3 - K$)



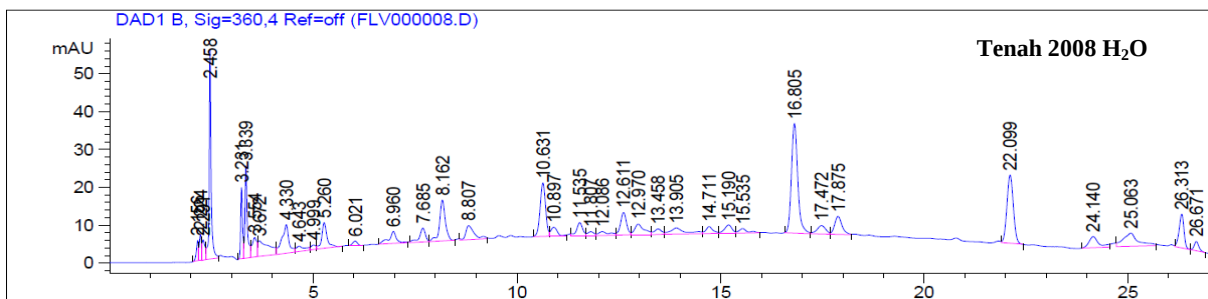
Slika 4. HPLC hromatogram flavonoida u metanolnom ekstraktu sorte Tenah iz 2008 ($r_t=16.8 - M$, $r_t=22.1 - Q$, $r_t=26.3 - K$)



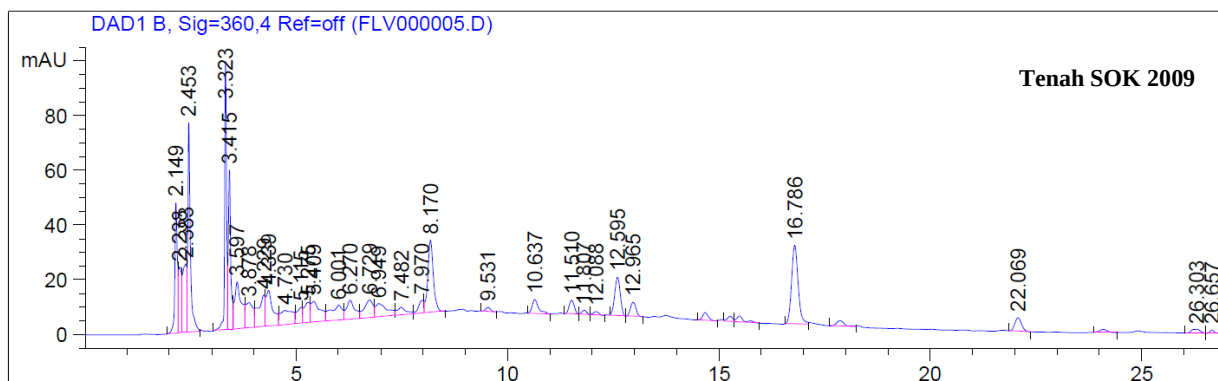
Slika 5. HPLC hromatogram flavonoida u 80% metanolnom ekstraktu sorte Tenah iz 2008 ($r_t=16.9 - M$, $r_t=22.1 - Q$, $r_t=26.2 - K$)



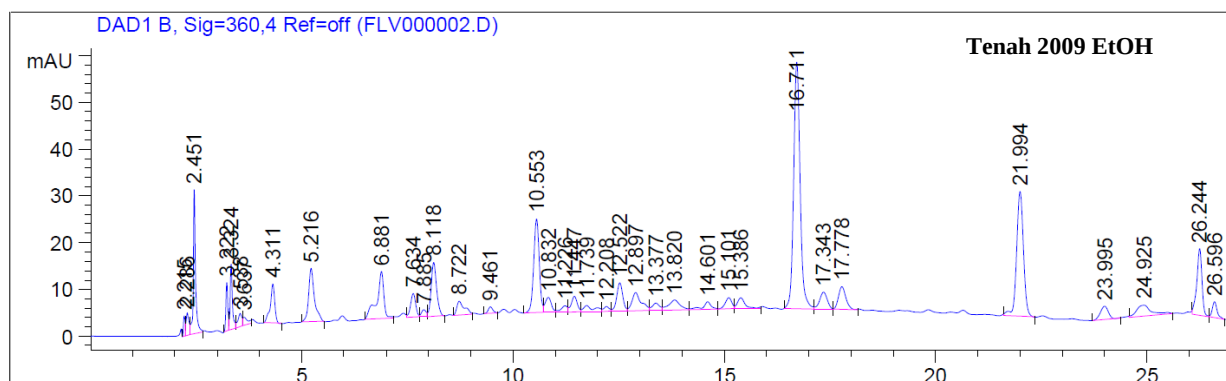
Slika 6. HPLC hromatogram flavonoida u 70% metanolnom ekstraktu sorte Tenah iz 2008 ($r_t=16.8 - M$, $r_t=22.1 - Q$, $r_t=26.3 - K$)



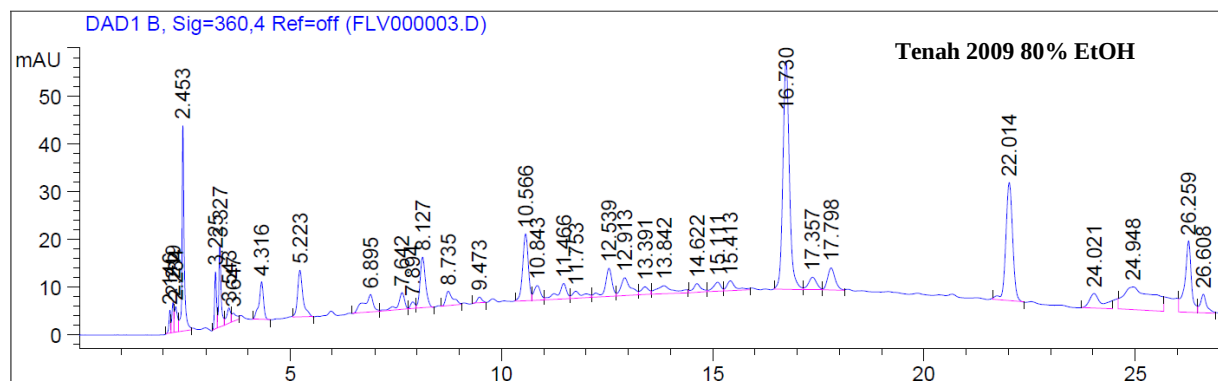
Slika 7. HPLC hromatogram flavonoida u vodenom ekstraktu sorte Tenah iz 2008 ($r_t=16.8 - M$, $r_t=22.1 - Q$, $r_t=26.3 - K$)



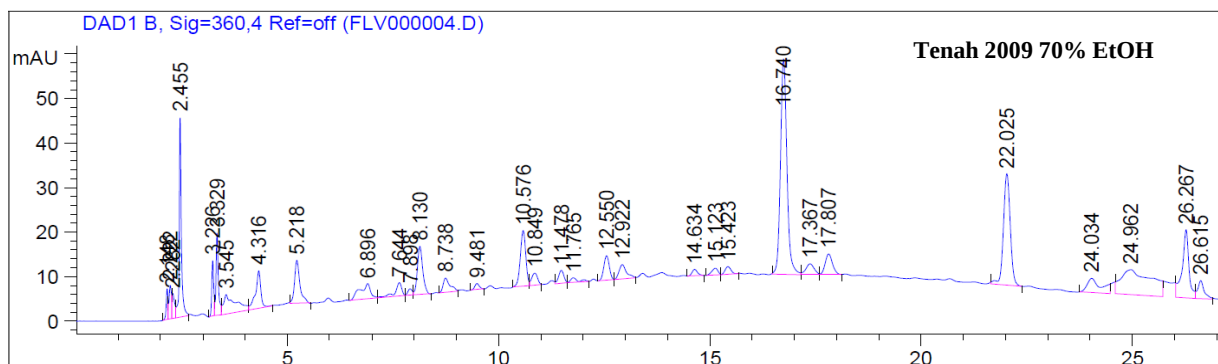
Slika 8. HPLC hromatogram flavonoida u soku sorte Tenah iz 2009. godine ($r_t=16.79 - M$, $r_t=22.07 - Q$, $r_t=26.3 - K$)



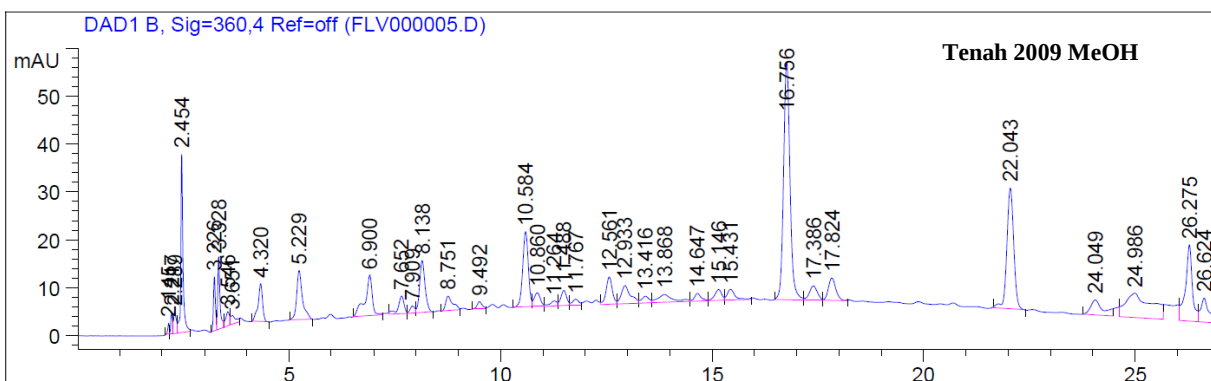
Slika 9. HPLC hromatogram flavonoida u etanolnom ekstraktu sorte Tenah iz 2009 ($r_t=16.71 - M$, $r_t=21.99 - Q$, $r_t=26.2 - K$)



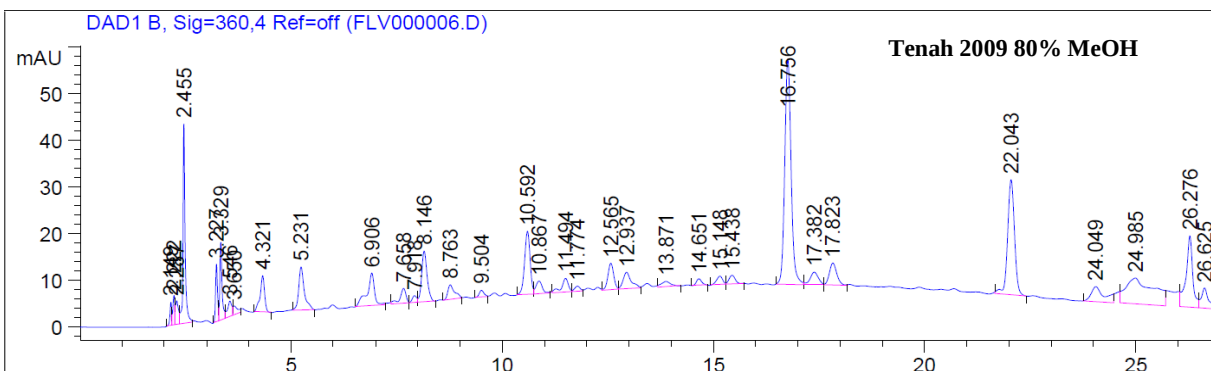
Slika 10. HPLC hromatogram flavonoida u 80% etanolnom ekstraktu sorte Tenah iz 2009 ($r_t=16.73 - M$, $r_t=22.01 - Q$, $r_t=26.3 - K$)



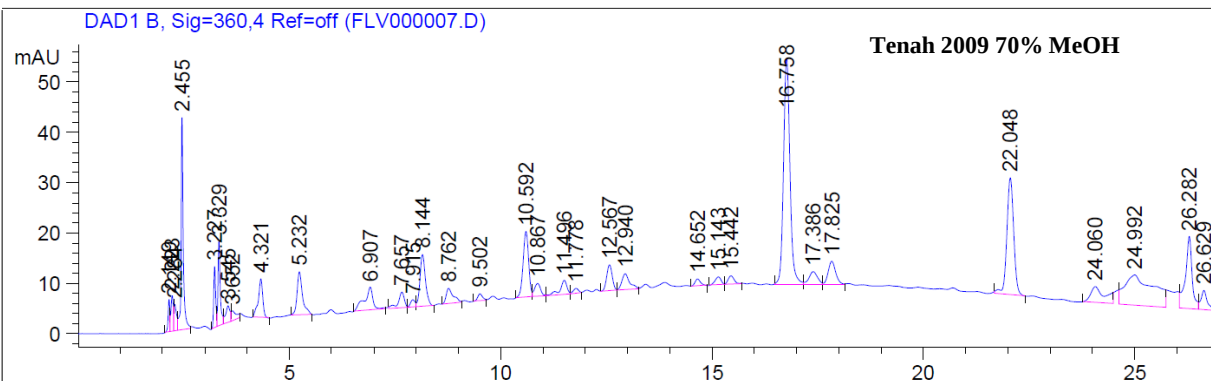
Slika 11. HPLC hromatogram flavonoida u 70% etanolnom ekstraktu sorte Tenah iz 2009 ($r_t=16.73 - M$, $r_t=22.01 - Q$, $r_t=26.3 - K$)



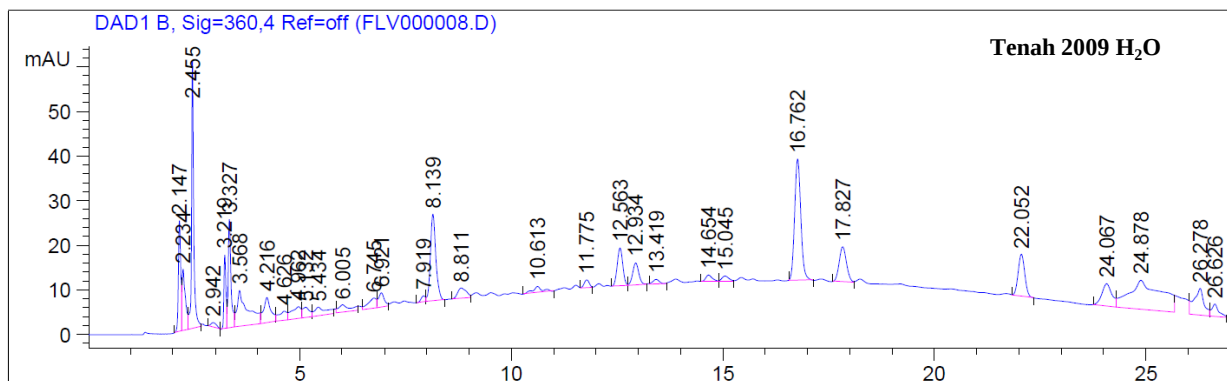
Slika 12. HPLC hromatogram flavonoida u metanolnom ekstraktu sorte Tenah iz 2009 ($r_t=16.76 - M$, $r_t=22.04 - Q$, $r_t=26.3 - K$)



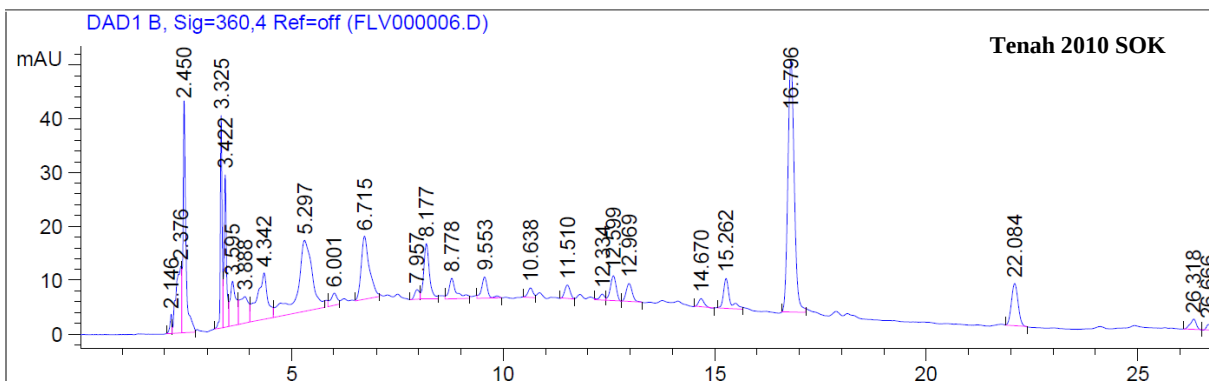
Slika 13. HPLC hromatogram flavonoida u 80% metanolnom ekstraktu sorte Tenah iz 2009 ($r_t=16.76 - M$, $r_t=22.04 - Q$, $r_t=26.3 - K$)



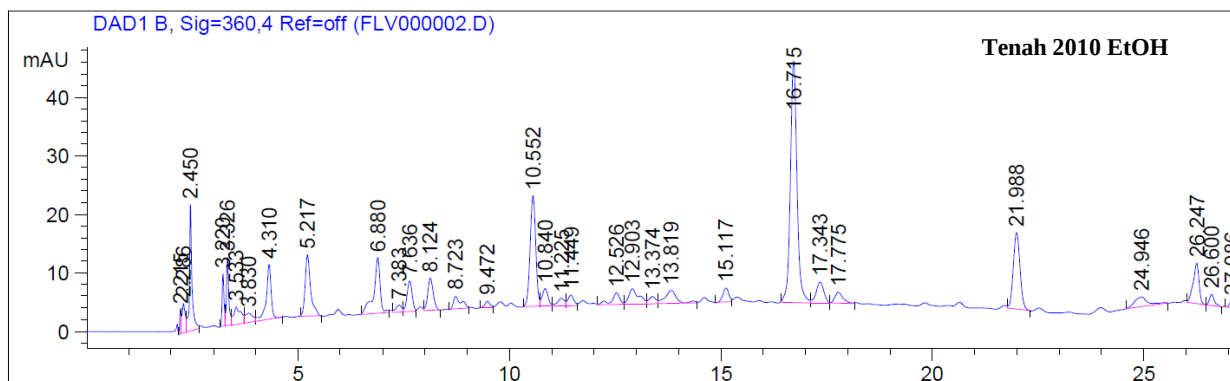
Slika 14. HPLC hromatogram flavonoida u 70% etanolnom ekstraktu sorte Tenah iz 2009 ($r_t=16.76 - M$, $r_t=22.05 - Q$, $r_t=26.3 - K$)



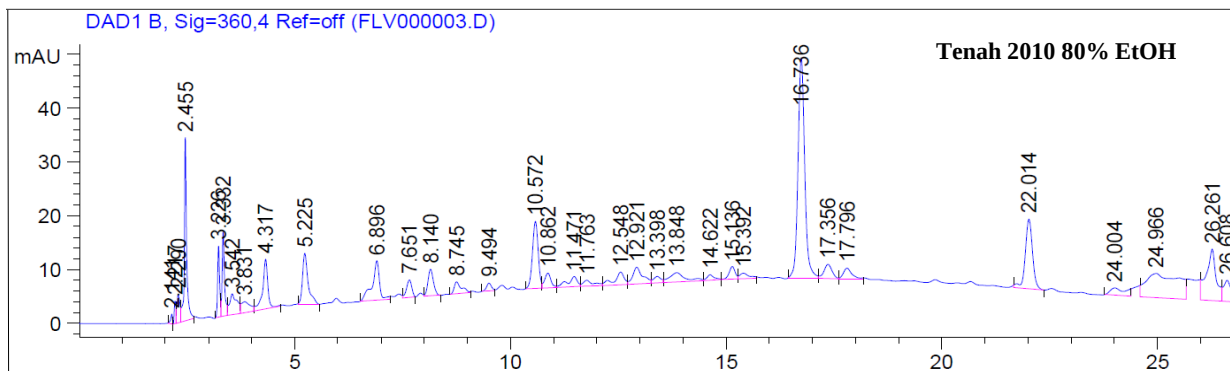
Slika 15. HPLC hromatogram flavonoida u 80% etanolnom ekstraktu sorte Tenah iz 2009 ($r_t=16.76 - M$, $r_t=22.05 - Q$, $r_t=26.3 - K$)



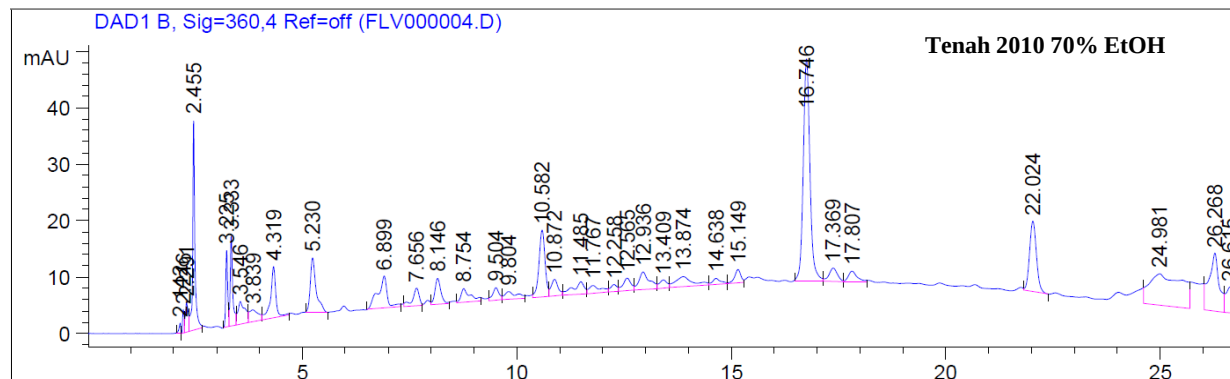
Slika 16. HPLC hromatogram flavonoida u soku sorte Tenah iz 2010. godine ($r_t=16.8 - M$, $r_t=22.08 - Q$, $r_t=26.3 - K$)



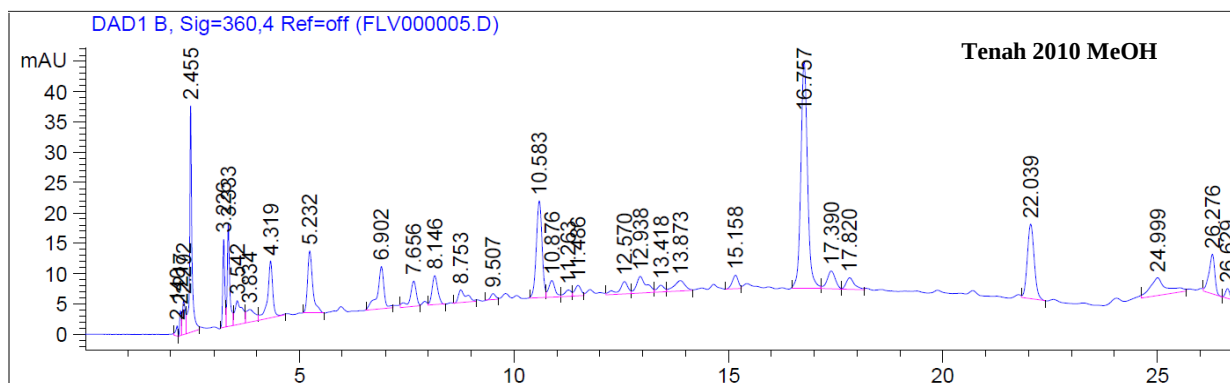
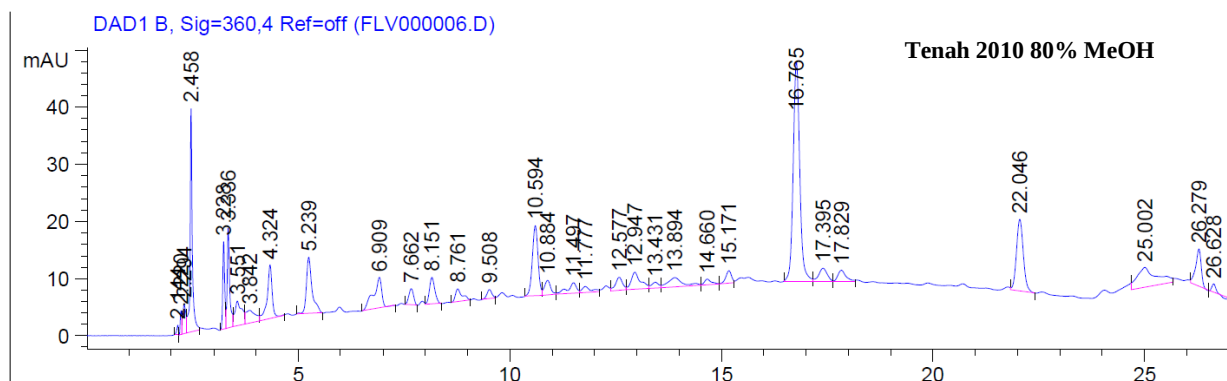
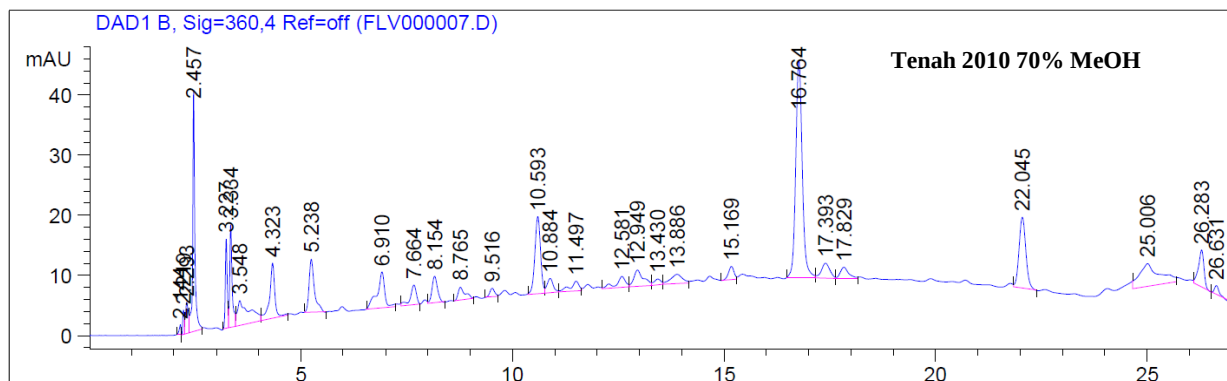
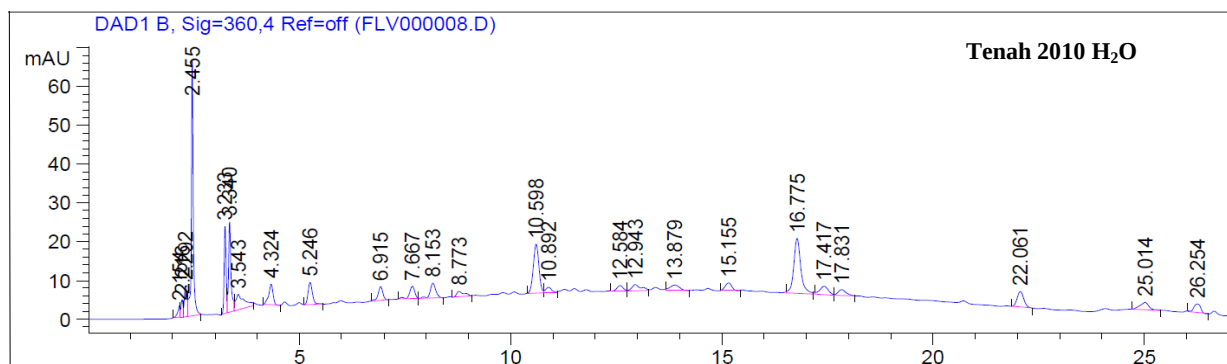
Slika 17. HPLC hromatogram flavonoida u etanolnom ekstraktu sorte Tenah iz 2010 ($r_t=16.71 - M$, $r_t=21.99 - Q$, $r_t=26.3 - K$)

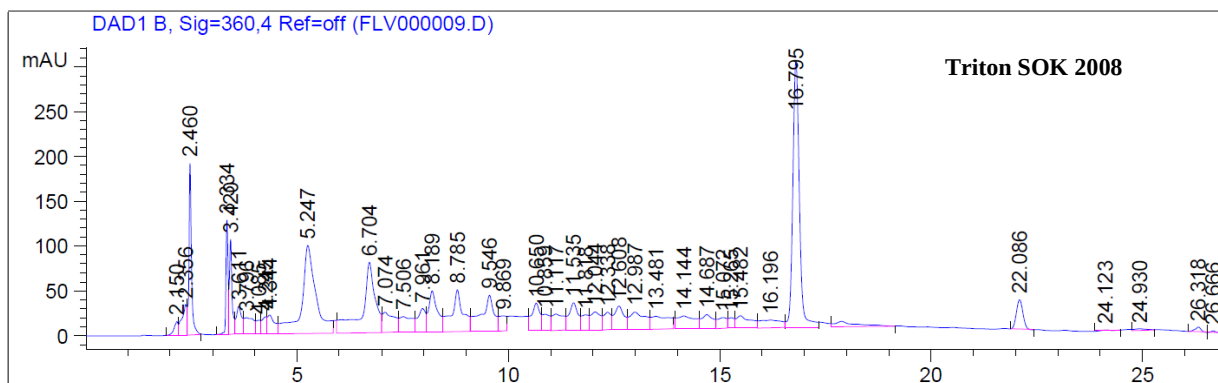


Slika 18. HPLC hromatogram flavonoida u 80% etanolnom ekstraktu sorte Tenah iz 2010 ($r_t=16.71 - M$, $r_t=21.99 - Q$, $r_t=26.3 - K$)

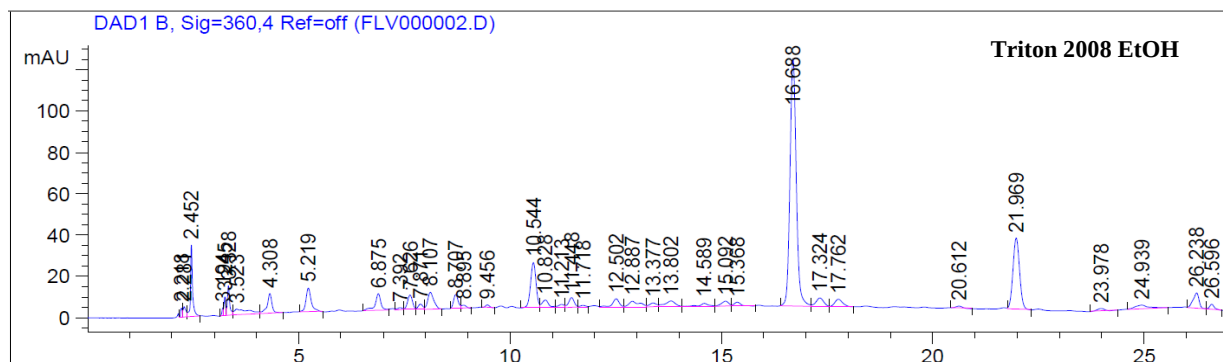


Slika 19. HPLC hromatogram flavonoida u 70% etanolnom ekstraktu sorte Tenah iz 2010 ($r_t=16.75 - M$, $r_t=22.02 - Q$, $r_t=26.3 - K$)

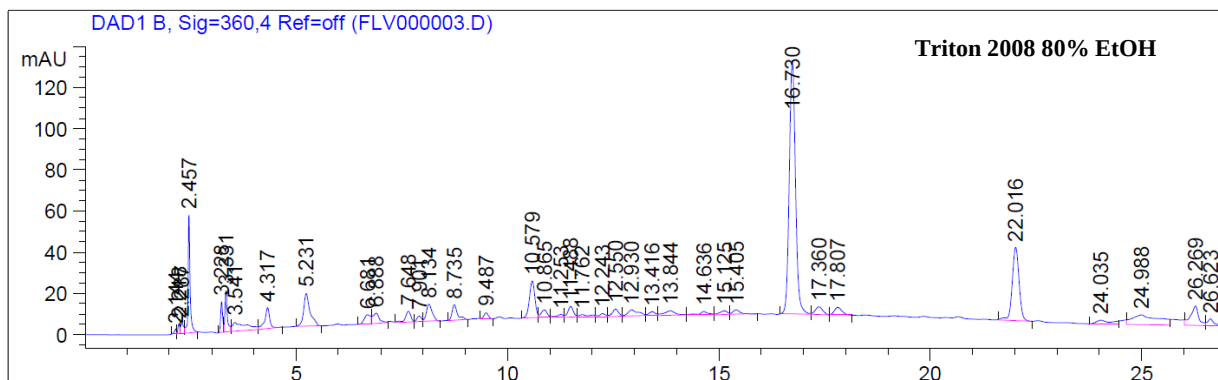
Slika 20. HPLC hromatogram flavonoida u metanolnom ekstraktu sorte Tenah iz 2010 ($r_t=16.76 - M$, $r_t=22.04 - Q$, $r_t=26.3 - K$)Slika 21. HPLC hromatogram flavonoida u 80% metanolnom ekstraktu sorte Tenah iz 2010 ($r_t=16.76 - M$, $r_t=22.05 - Q$, $r_t=26.3 - K$)Slika 22. HPLC hromatogram flavonoida u 70% metanolnom ekstraktu sorte Tenah iz 2010 ($r_t=16.76 - M$, $r_t=22.05 - Q$, $r_t=26.3 - K$)Slika 23. HPLC hromatogram flavonoida u vodenom ekstraktu sorte Tenah iz 2010 ($r_t=16.77 - M$, $r_t=22.06 - Q$, $r_t=26.3 - K$)



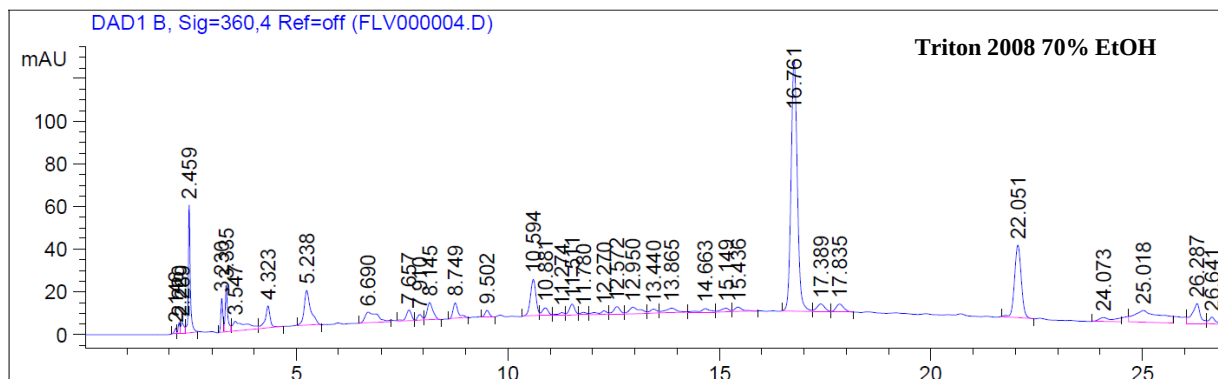
Slika 24. HPLC chromatogram flavonoida u soku sorte Triton iz 2008 ($r_t=16.79 - M$, $r_t=22.09 - Q$, $r_t=26.3 - K$)



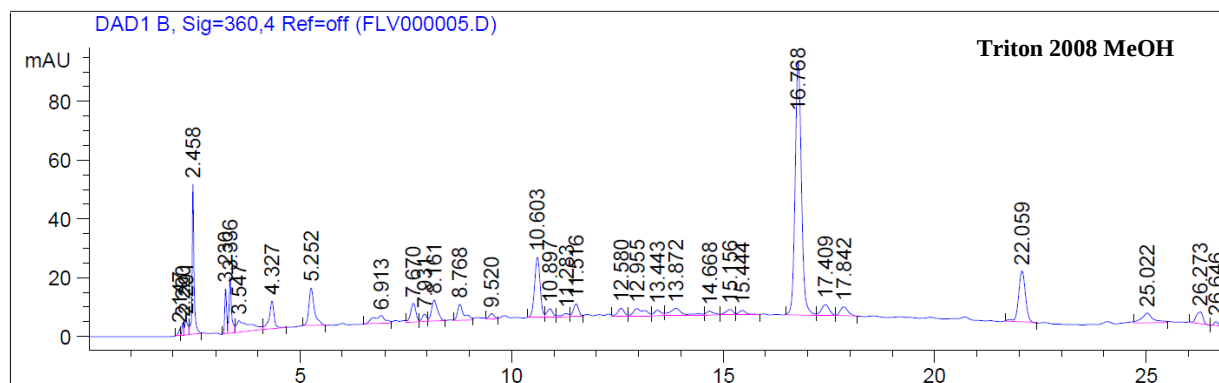
Slika 25. HPLC chromatogram flavonoida u etanolnom ekstraktu sorte Triton iz 2008 ($r_t=16.79 - M$, $r_t=22.09 - Q$, $r_t=26.3 - K$)



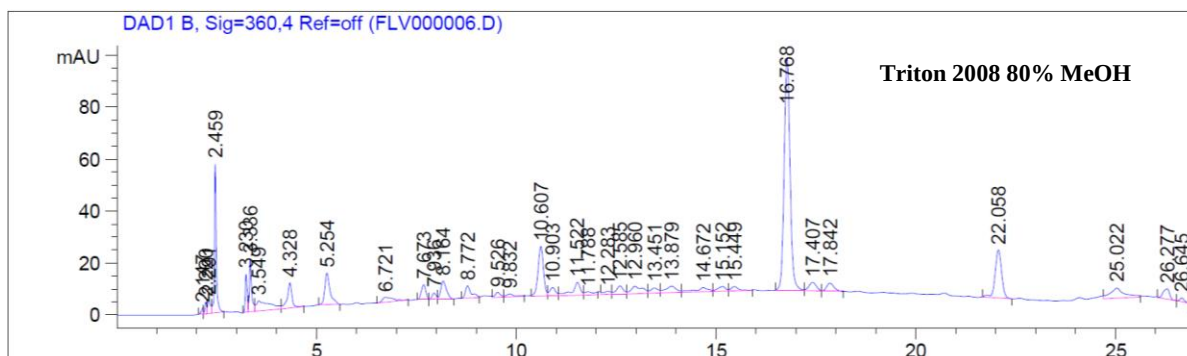
Slika 26. HPLC chromatogram flavonoida u etanolnom ekstraktu sorte Triton iz 2008 ($r_t=16.73 - M$, $r_t=22.02 - Q$, $r_t=26.3 - K$)



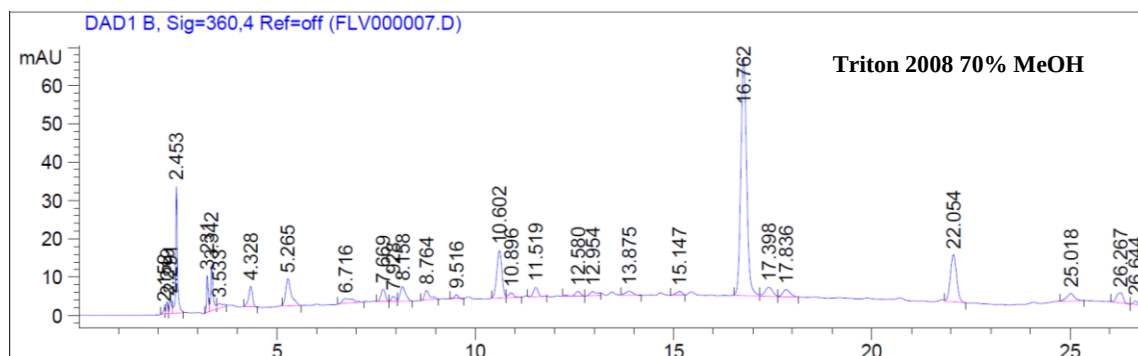
Slika 27. HPLC chromatogram flavonoida u 70% etanolnom ekstraktu sorte Triton iz 2008 ($r_t=16.76 - M$, $r_t=22.05 - Q$, $r_t=26.3 - K$)



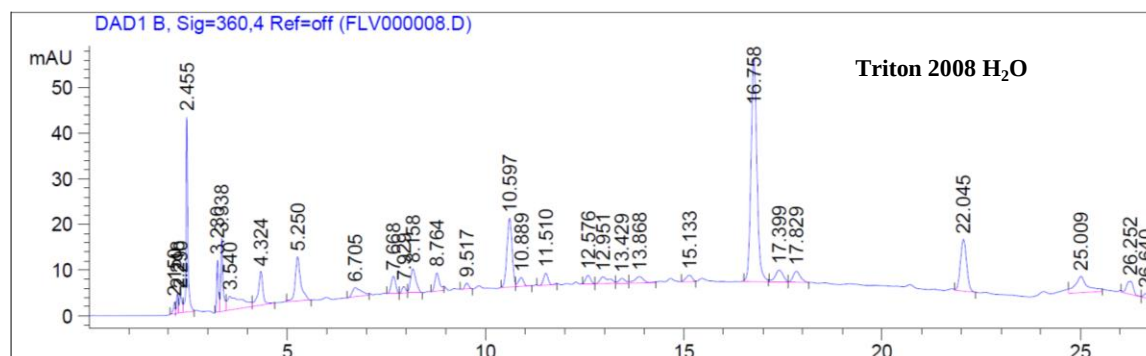
Slika 28. HPLC chromatogram flavonoida u metanolnom ekstraktu sorte Triton iz 2008 ($r_t=16.77 - M$, $r_t=22.06 - Q$, $r_t=26.3 - K$)



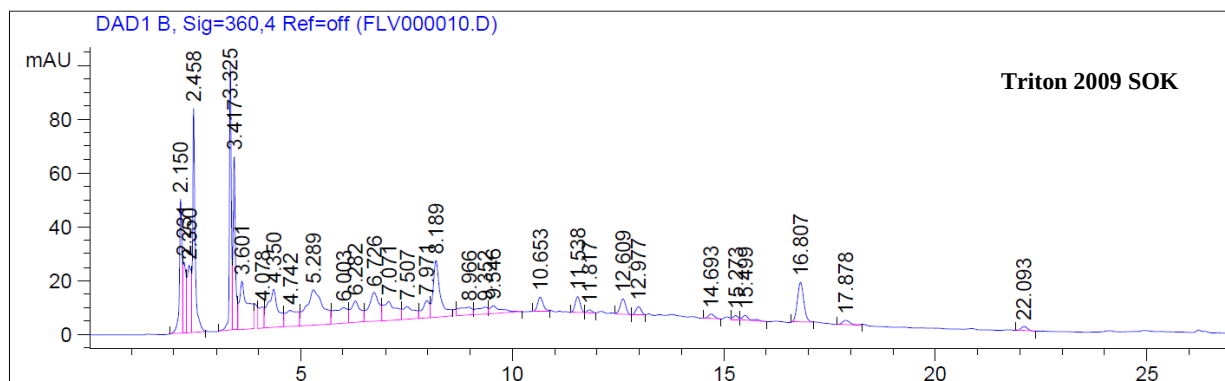
Slika 29. HPLC chromatogram flavonoida u 80% metanolnom ekstraktu sorte Triton iz 2008 ($r_t=16.77 - M$, $r_t=22.06 - Q$, $r_t=26.3 - K$)



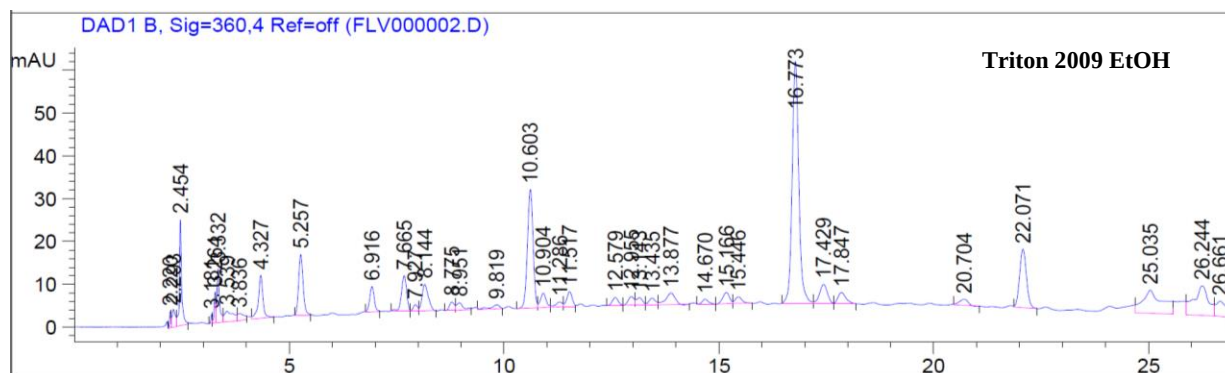
Slika 30. HPLC chromatogram flavonoida u 70% metanolnom ekstraktu sorte Triton iz 2008 ($r_t=16.76 - M$, $r_t=22.05 - Q$, $r_t=26.3 - K$)



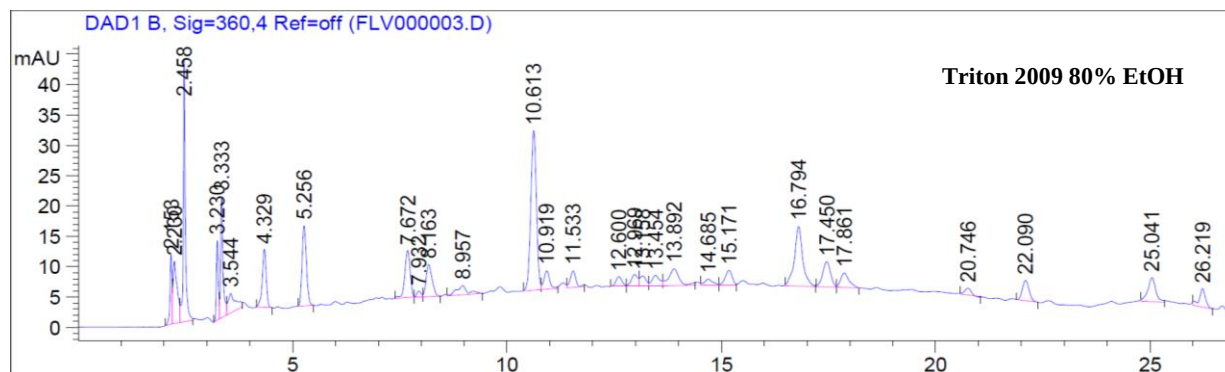
Slika 31. HPLC chromatogram flavonoida u vodenom ekstraktu sorte Triton iz 2008 ($r_t=16.76 - M$, $r_t=22.05 - Q$, $r_t=26.3 - K$)



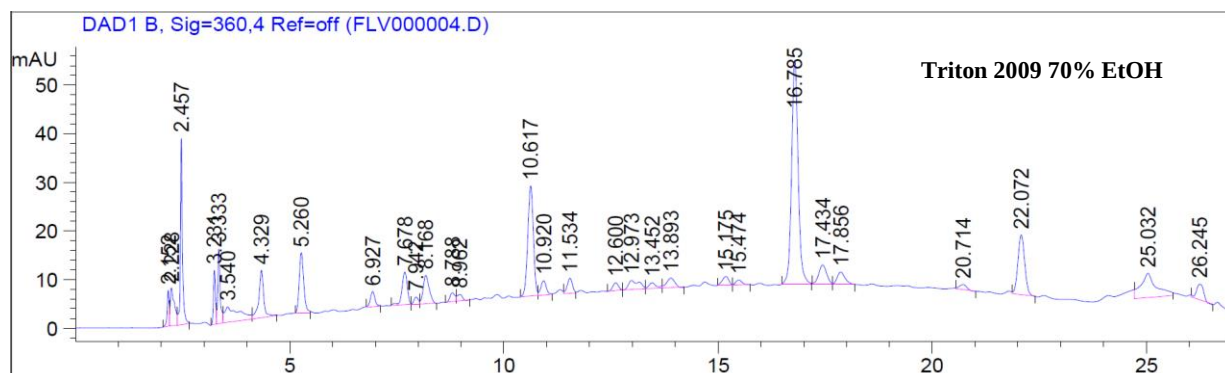
Slika 32. HPLC hromatogram flavonoida u soku sorte Triton iz 2009 ($r_t=16.81 - M$, $r_t=22.09 - Q$, $r_t=26.3 - K$)



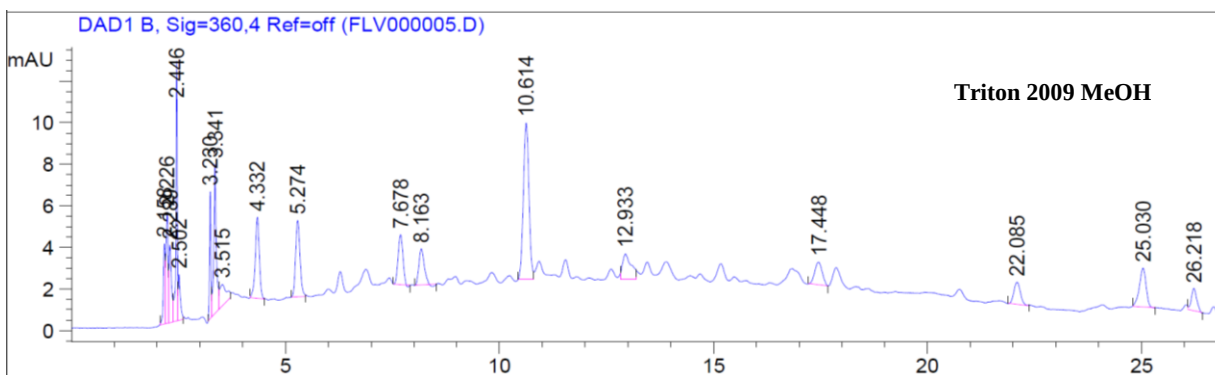
Slika 33. HPLC hromatogram flavonoida u etanolnom ekstraktu sorte Triton iz 2009 ($r_t=16.77 - M$, $r_t=22.07 - Q$, $r_t=26.3 - K$)



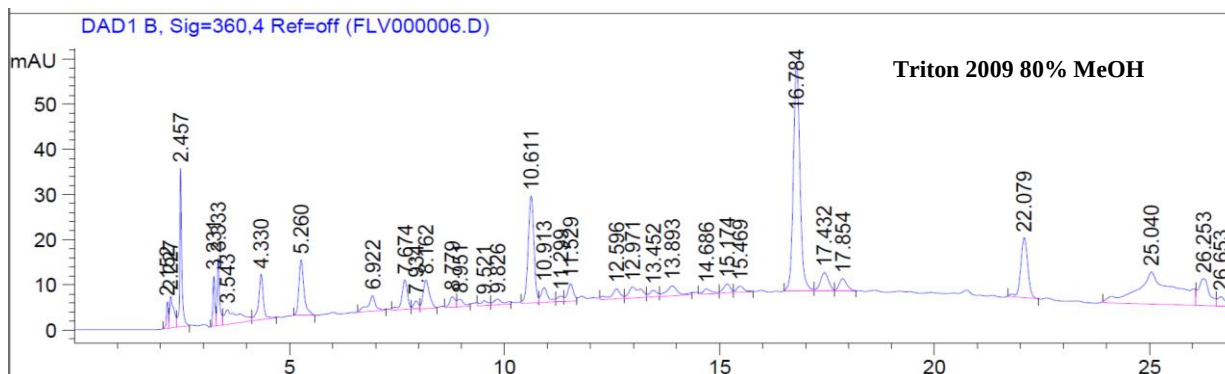
Slika 34. HPLC hromatogram flavonoida u 80% etanolnom ekstraktu sorte Triton iz 2009 ($r_t=16.79 - M$, $r_t=22.09 - Q$, $r_t=26.2 - K$)



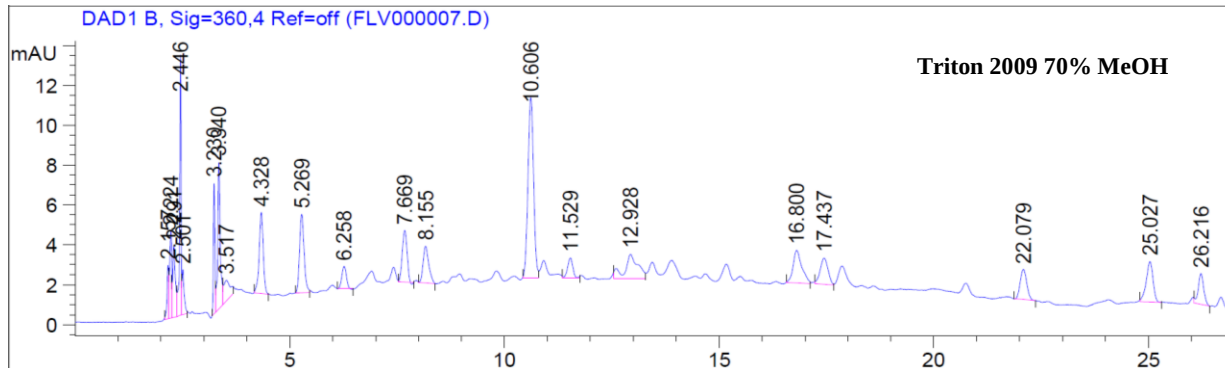
Slika 35. HPLC hromatogram flavonoida u 70% etanolnom ekstraktu sorte Triton iz 2009 ($r_t=16.79 - M$, $r_t=22.07 - Q$, $r_t=26.2 - K$)



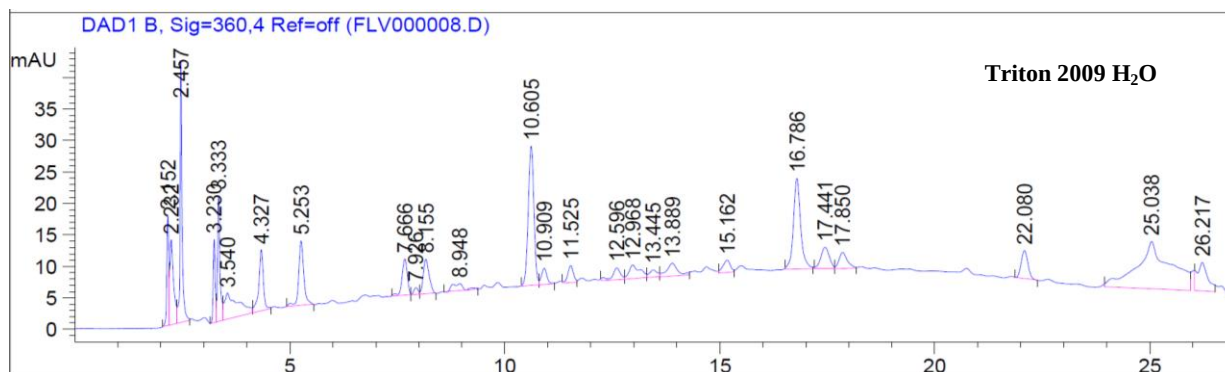
Slika 36. HPLC hromatogram flavonoida u metanolnom ekstraktu sorte Triton iz 2009 ($r_t=16.45 - M$, $r_t=22.09 - Q$, $r_t=26.2 - K$)



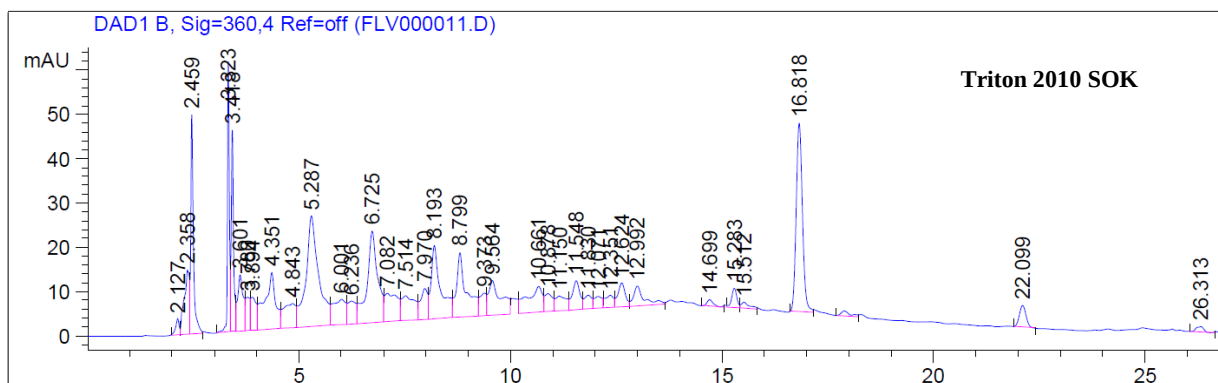
Slika 37. HPLC hromatogram flavonoida u 80% metanolnom ekstraktu sorte Triton iz 2009 ($r_t=16.78 - M$, $r_t=22.08 - Q$, $r_t=26.2 - K$)



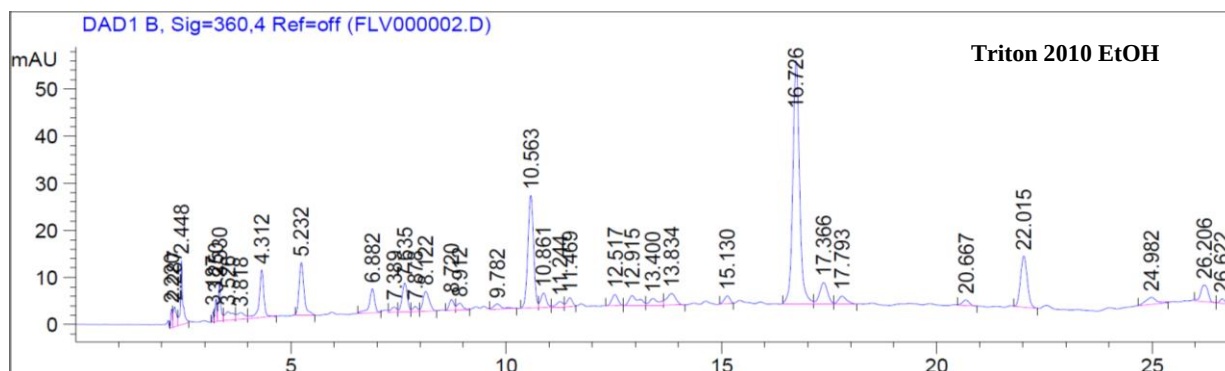
Slika 38. HPLC hromatogram flavonoida u 70% metanolnom ekstraktu sorte Triton iz 2009 ($r_t=16.8 - M$, $r_t=22.08 - Q$, $r_t=26.2 - K$)



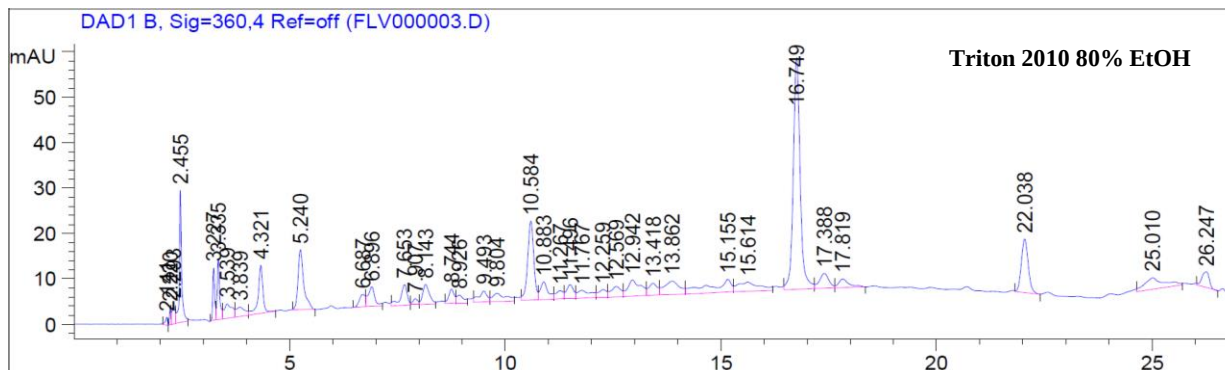
Slika 39. HPLC hromatogram flavonoida u vodenom ekstraktu sorte Triton iz 2009 ($r_t=16.8 - M$, $r_t=22.08 - Q$, $r_t=26.2 - K$)



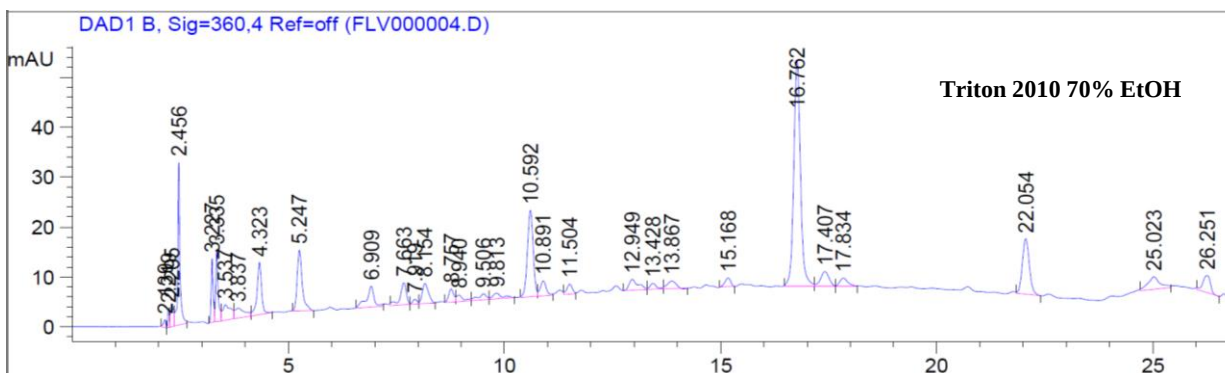
Slika 40. HPLC hromatogram flavonoida u soku sorte Triton iz 2010 ($r_t=16.82 - M$, $r_t=22.1 - Q$, $r_t=26.3 - K$)



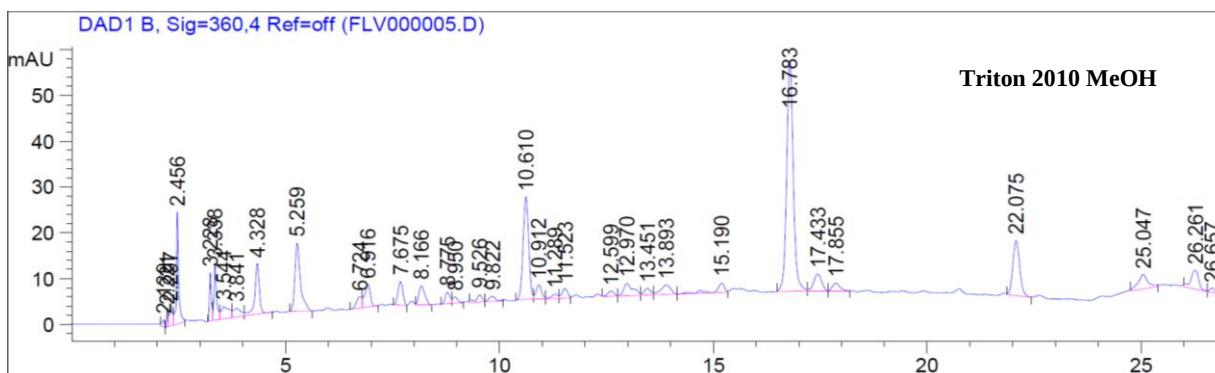
Slika 41. HPLC hromatogram flavonoida u etanolnom ekstraktu sorte Triton iz 2010 ($r_t=16.73 - M$, $r_t=22.02 - Q$, $r_t=26.2 - K$)



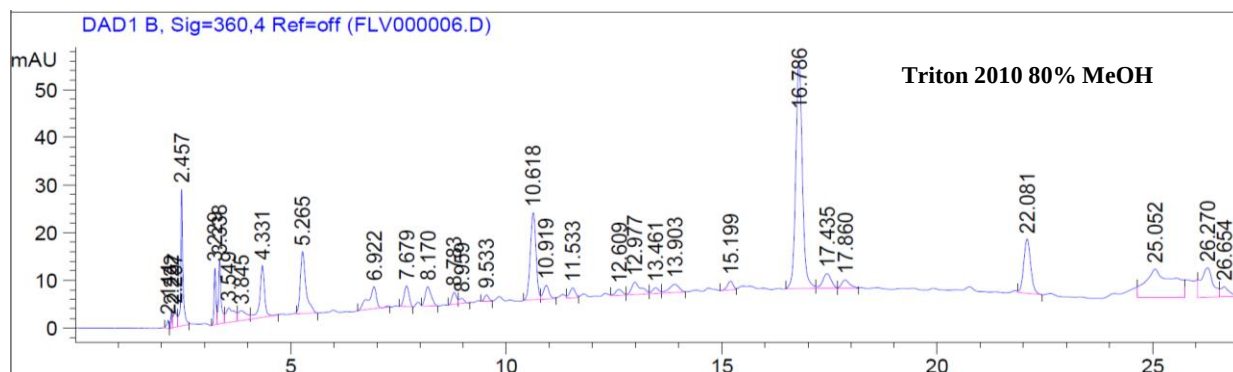
Slika 42. HPLC hromatogram flavonoida u 80% etanolnom ekstraktu sorte Triton iz 2010 ($r_t=16.75 - M$, $r_t=22.04 - Q$, $r_t=26.2 - K$)



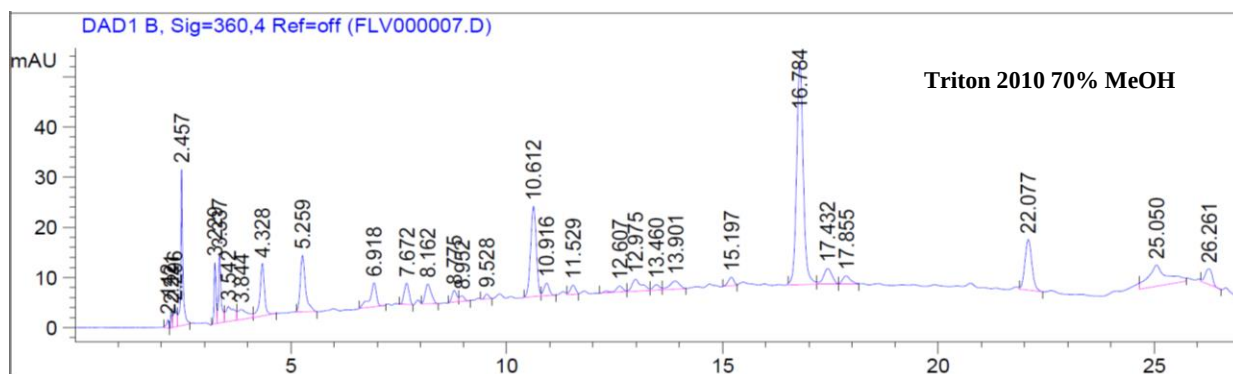
Slika 43. HPLC hromatogram flavonoida u 70% etanolnom ekstraktu sorte Triton iz 2010 ($r_t=16.76 - M$, $r_t=22.05 - Q$, $r_t=26.2 - K$)



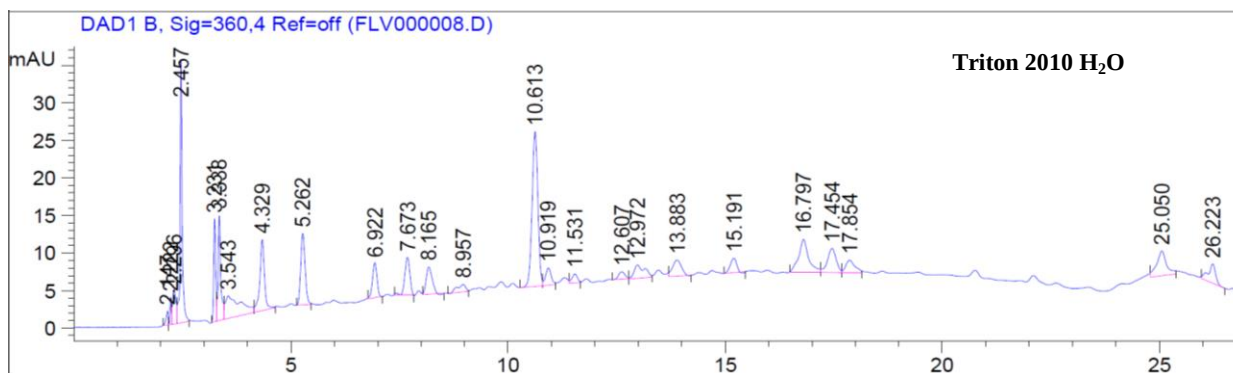
Slika 44. HPLC hromatogram flavonoida u metanolnom ekstraktu sorte Triton iz 2010 ($r_t=16.78 - M$, $r_t=22.07 - Q$, $r_t=26.2 - K$)



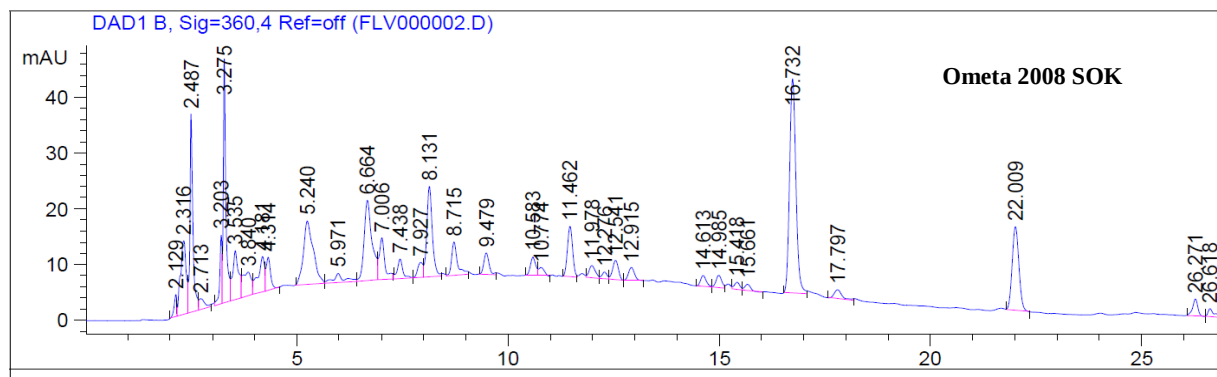
Slika 45. HPLC hromatogram flavonoida u 80% metanolnom ekstraktu sorte Triton iz 2010 ($r_t=16.79 - M$, $r_t=22.08 - Q$, $r_t=26.3 - K$)



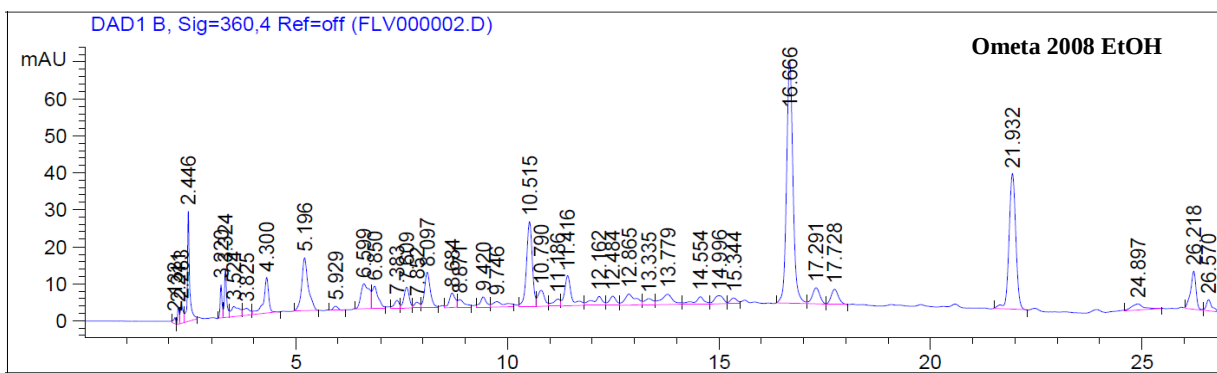
Slika 46. HPLC hromatogram flavonoida u 70% metanolnom ekstraktu sorte Triton iz 2010 ($r_t=16.78 - M$, $r_t=22.08 - Q$, $r_t=26.3 - K$)



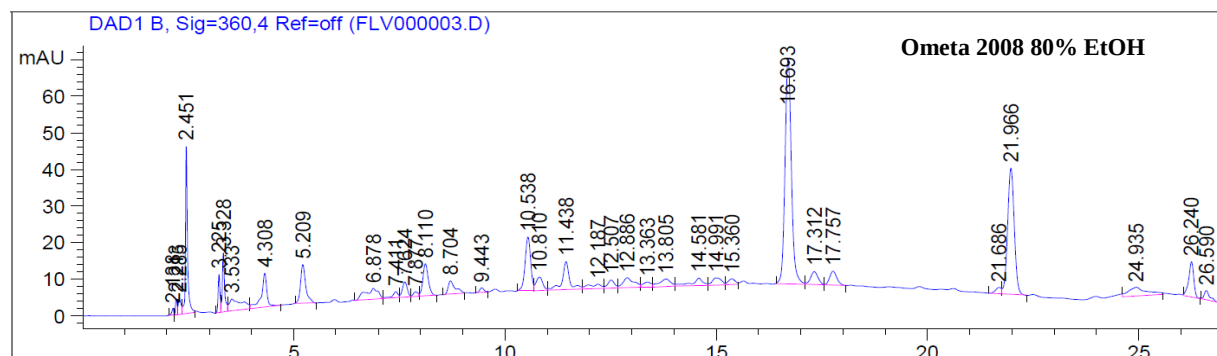
Slika 47. HPLC hromatogram flavonoida u vodenom ekstraktu sorte Triton iz 2010 ($r_t=16.8 - M$, $r_t=22.08 - Q$, $r_t=26.2 - K$)



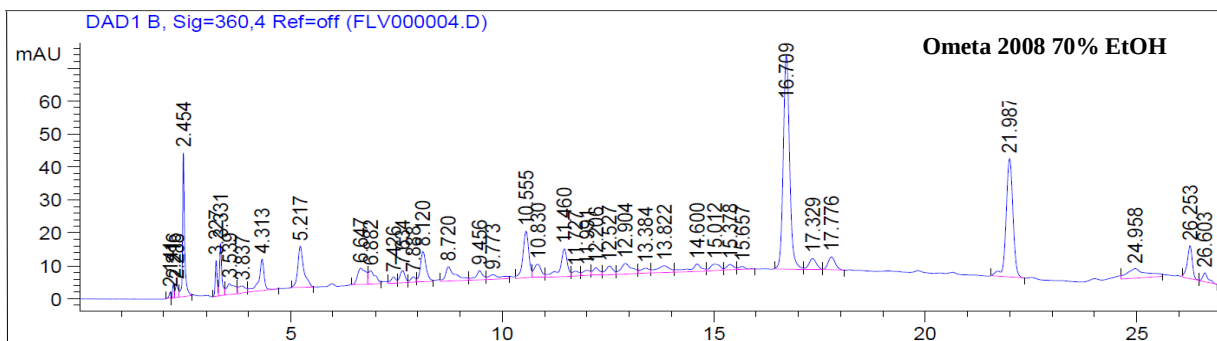
Slika 48. HPLC hromatogram flavonoida u soku sorte Ometa iz 2008 ($r_t=16.73 - M$, $r_t=22.01 - Q$, $r_t=26.3 - K$)



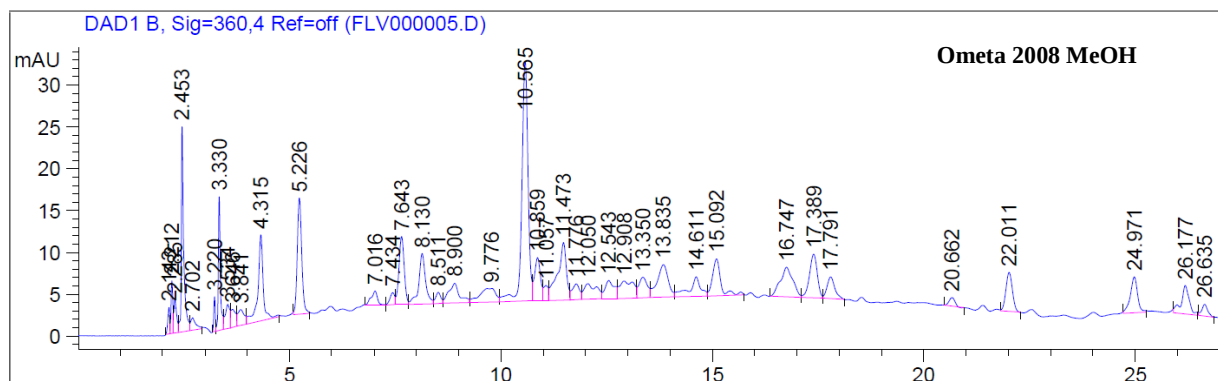
Slika 49. HPLC hromatogram flavonoida u etanolnom ekstraktu sorte Ometa iz 2008 ($r_t=16.67 - M$, $r_t=21.93 - Q$, $r_t=26.2 - K$)



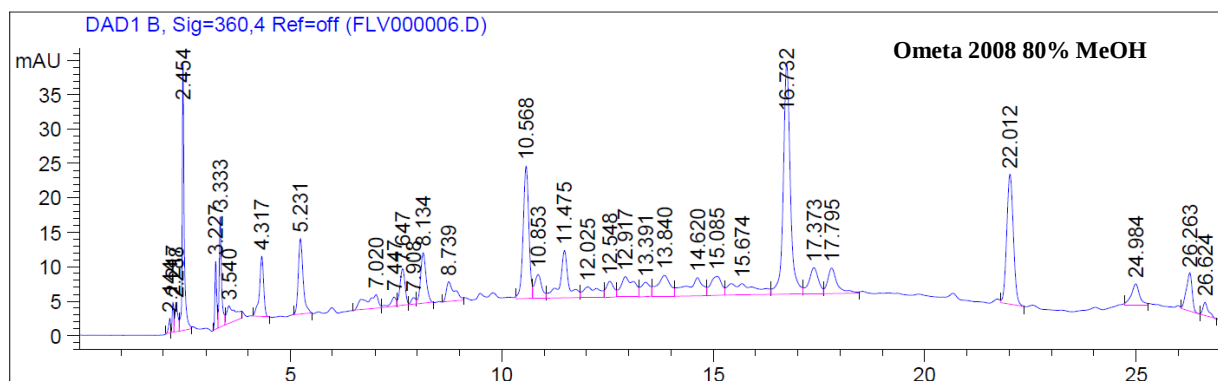
Slika 50. HPLC hromatogram flavonoida u 80% etanolnom ekstraktu sorte Ometa iz 2008 ($r_t=16.7 - M$, $r_t=21.97 - Q$, $r_t=26.2 - K$)



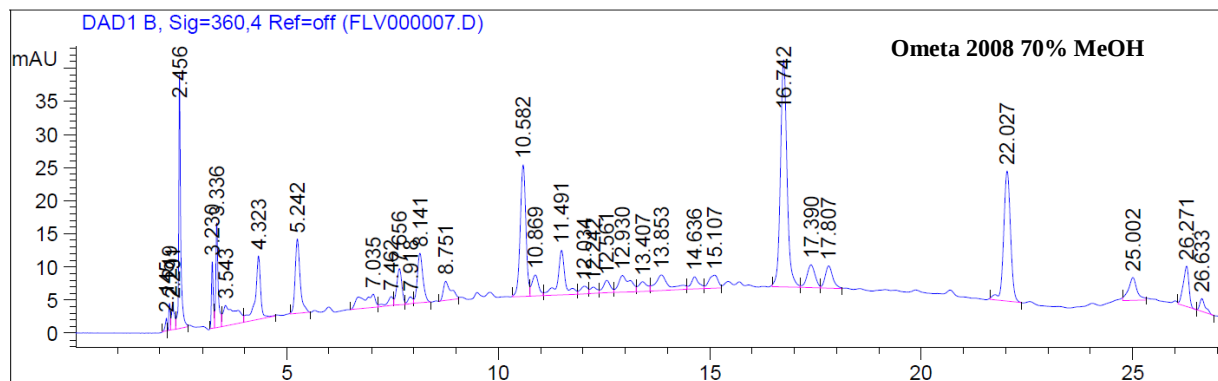
Slika 51. HPLC hromatogram flavonoida u 70% etanolnom ekstraktu sorte Ometa iz 2008 ($r_t=16.71 - M$, $r_t=21.99 - Q$, $r_t=26.2 - K$)



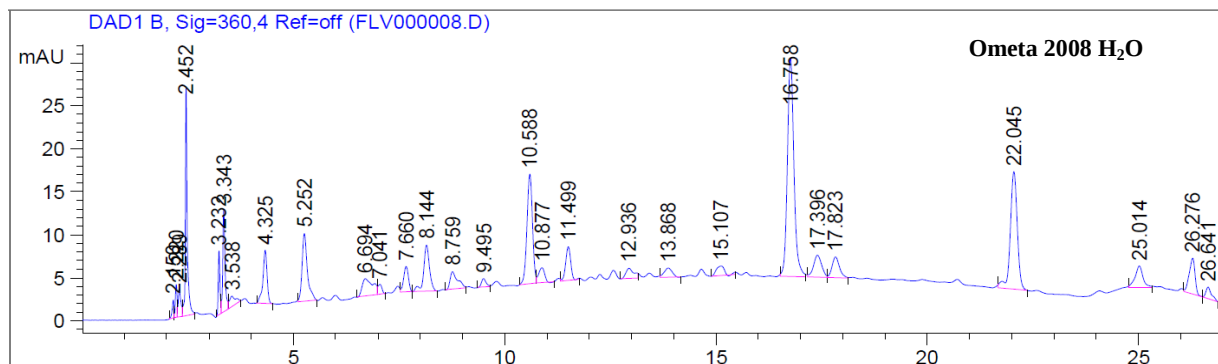
Slika 52. HPLC hromatogram flavonoida u metanolnom ekstraktu sorte Omata iz 2008 ($r_t=16.75 - M$, $r_t=22.01 - Q$, $r_t=26.2 - K$)



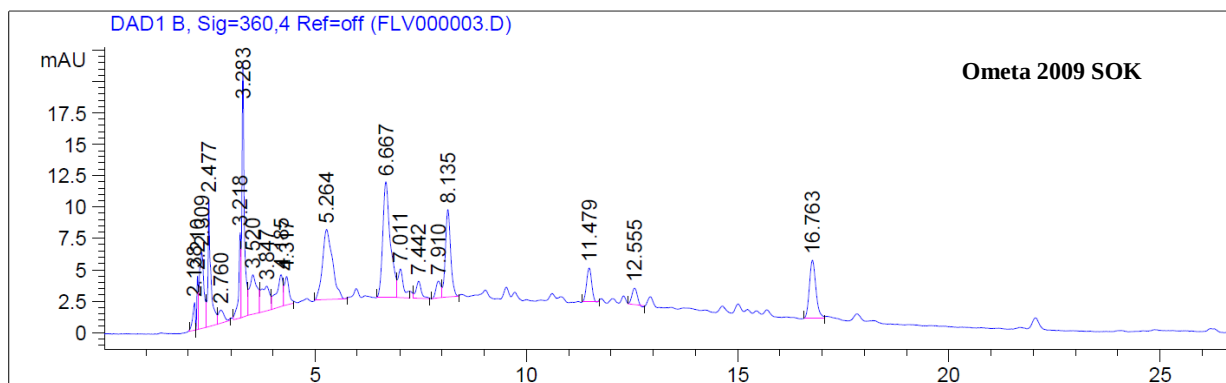
Slika 53. HPLC hromatogram flavonoida u 80% metanolnom ekstraktu sorte Omata iz 2008 ($r_t=16.73 - M$, $r_t=22.01 - Q$, $r_t=26.2 - K$)



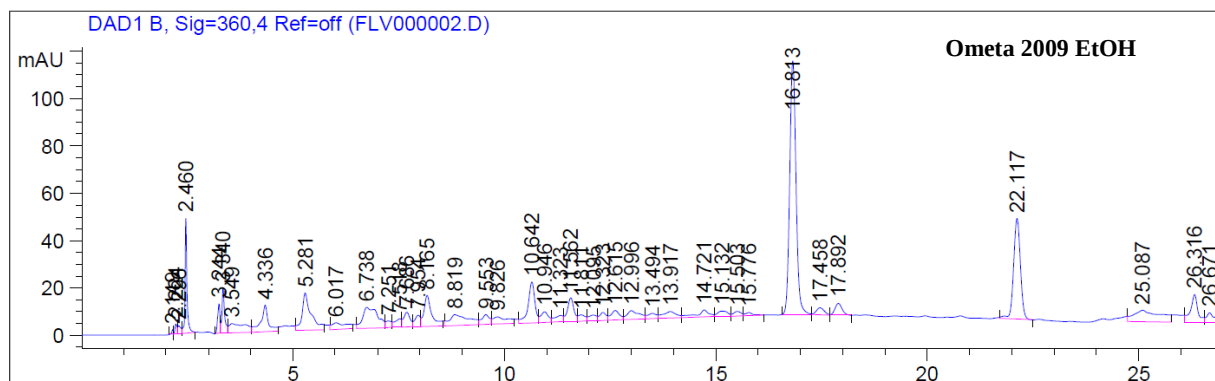
Slika 54. HPLC hromatogram flavonoida u 70% metanolnom ekstraktu sorte Omata iz 2008 ($r_t=16.74 - M$, $r_t=22.03 - Q$, $r_t=26.3 - K$)



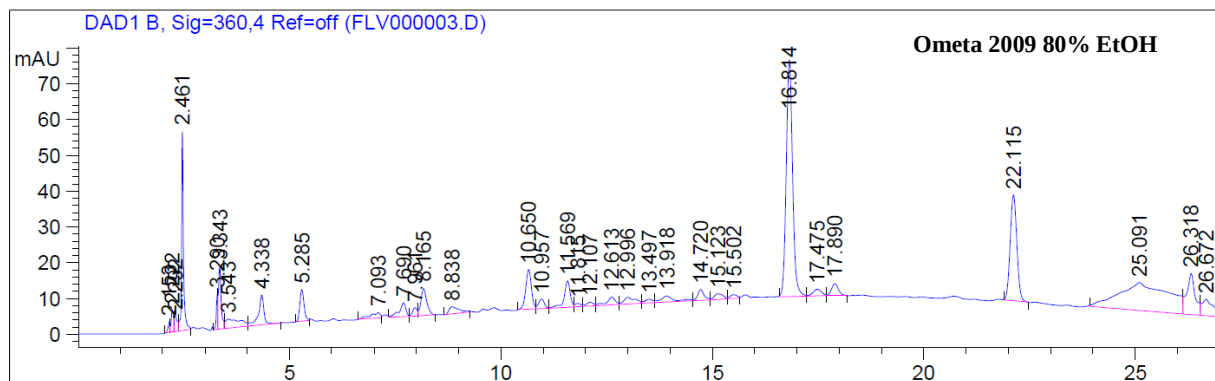
Slika 55. HPLC hromatogram flavonoida u vodenom ekstraktu sorte Omata iz 2008 ($r_t=16.76 - M$, $r_t=22.05 - Q$, $r_t=26.3 - K$)



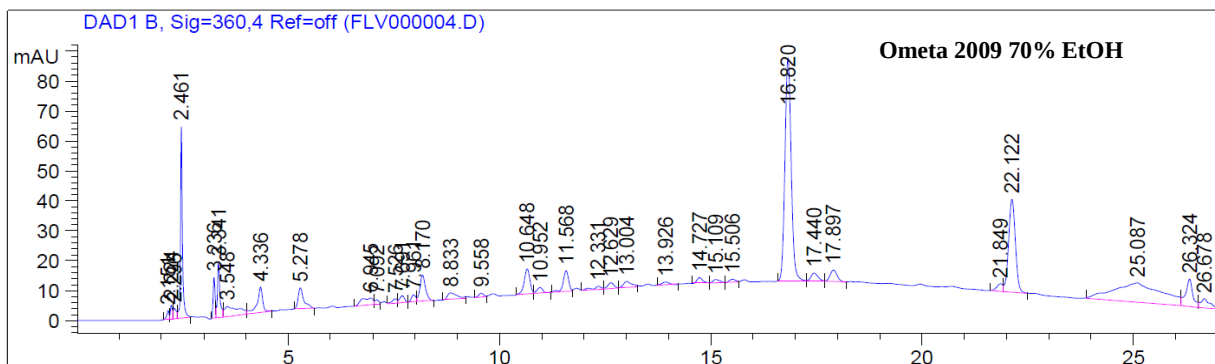
Slika 56. HPLC hromatogram flavonoida u soku sorte Omota iz 2009 ($r_t=16.76 - M$, $r_t=22.05 - Q$, $r_t=26.3 - K$)



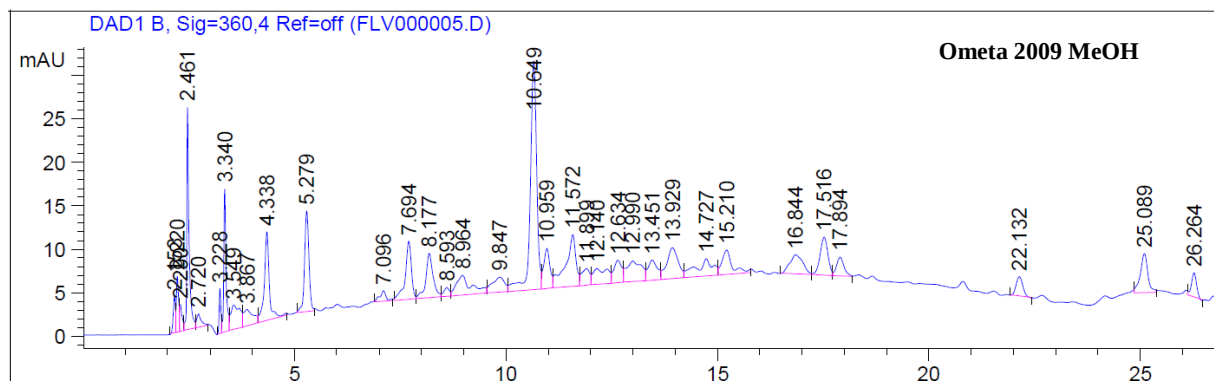
Slika 57. HPLC hromatogram flavonoida u etanolnom ekstraktu sorte Omota iz 2009 ($r_t=16.81 - M$, $r_t=22.12 - Q$, $r_t=26.3 - K$)



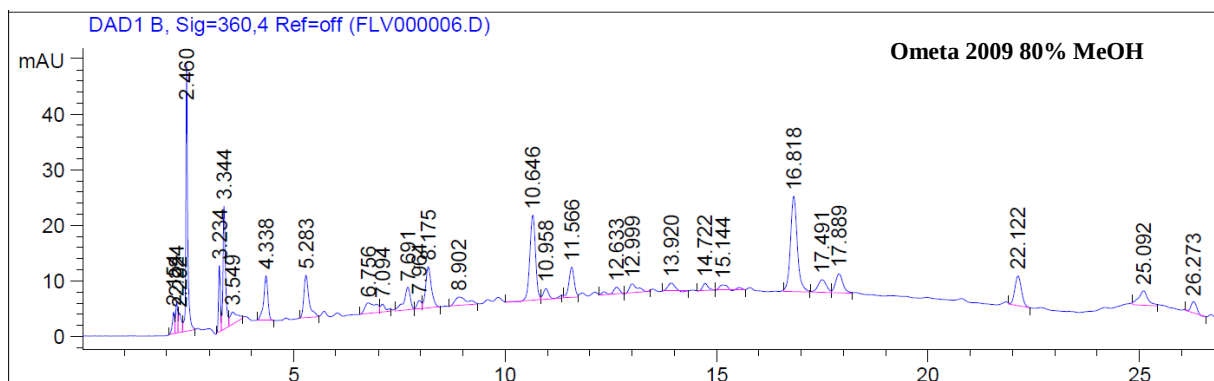
Slika 58. HPLC hromatogram flavonoida u 80% etanolnom ekstraktu sorte Omota iz 2009 ($r_t=16.81 - M$, $r_t=22.12 - Q$, $r_t=26.3 - K$)



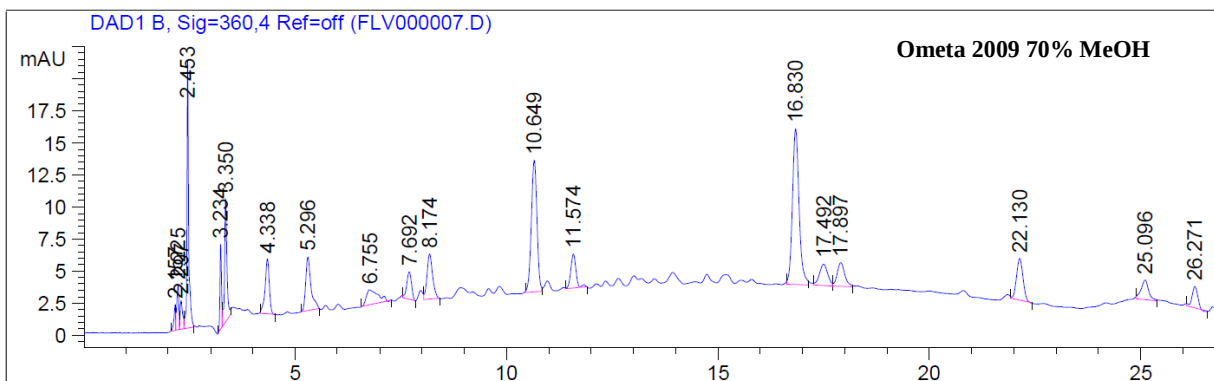
Slika 59. HPLC hromatogram flavonoida u 70% etanolnom ekstraktu sorte Omota iz 2009 ($r_t=16.82 - M$, $r_t=22.12 - Q$, $r_t=26.3 - K$)



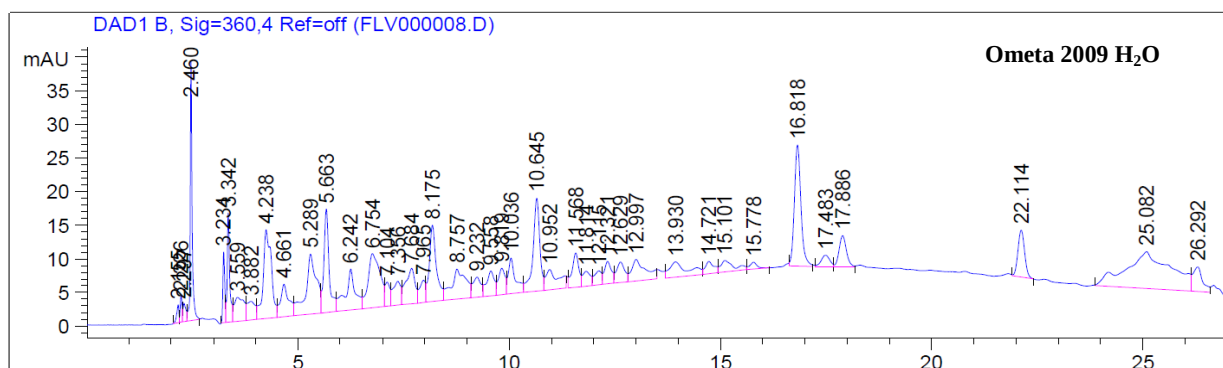
Slika 60. HPLC hromatogram flavonoida u metanolnom ekstraktu sorte Ometa iz 2009 ($r_t=16.84 - M$, $r_t=22.13 - Q$, $r_t=26.3 - K$)



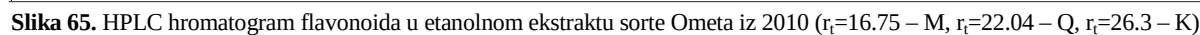
Slika 61. HPLC hromatogram flavonoida u 80% metanolnom ekstraktu sorte Ometa iz 2009 ($r_t=16.82 - M$, $r_t=22.12 - Q$, $r_t=26.3 - K$)

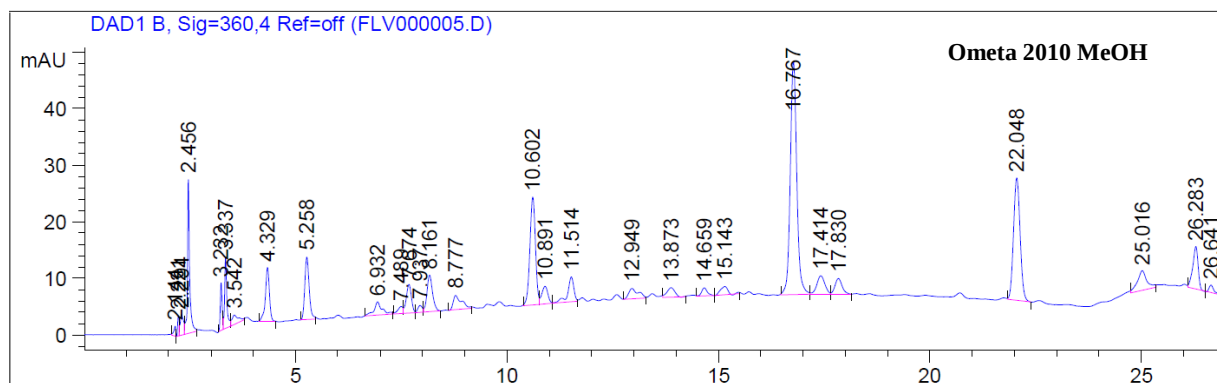


Slika 62. HPLC hromatogram flavonoida u 70% metanolnom ekstraktu sorte Ometa iz 2009 ($r_t=16.83 - M$, $r_t=22.13 - Q$, $r_t=26.3 - K$)

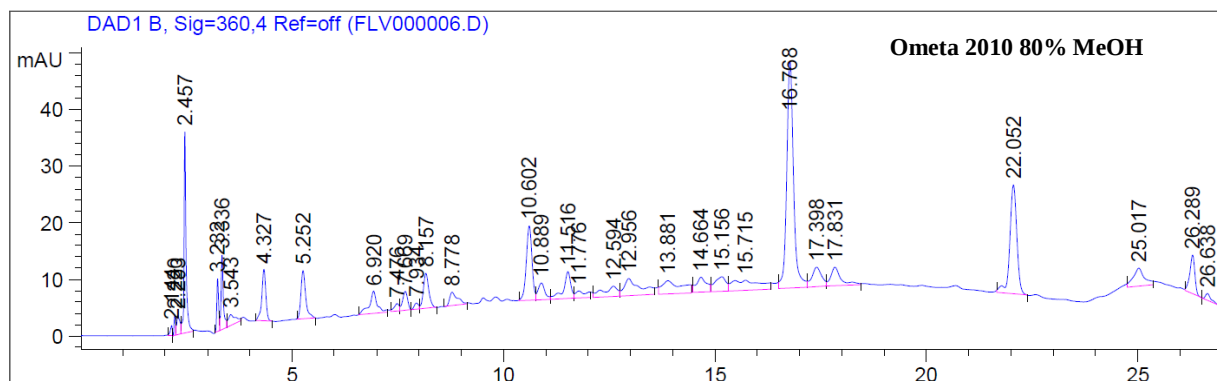


Slika 63. HPLC hromatogram flavonoida u vodenom ekstraktu sorte Ometa iz 2009 ($r_t=16.82 - M$, $r_t=22.11 - Q$, $r_t=26.3 - K$)

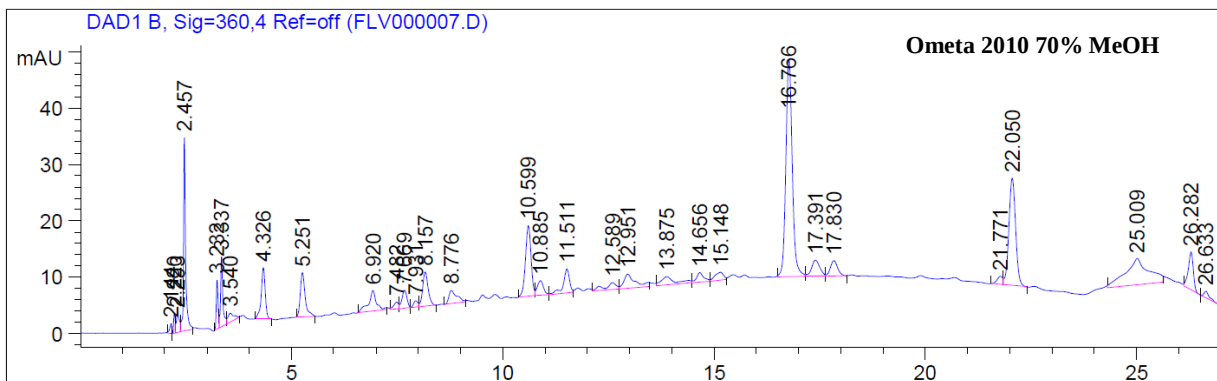




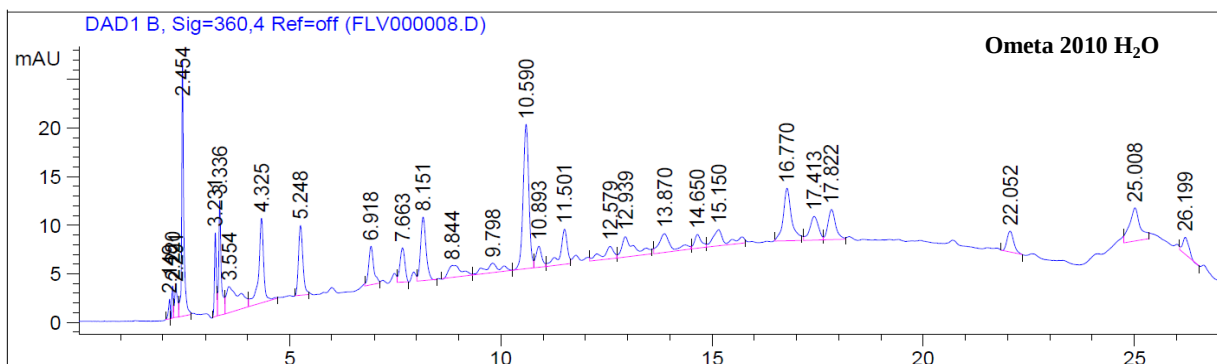
Slika 68. HPLC hromatogram flavonoida u metanolnom ekstraktu sorte Ometa iz 2010 ($r_t=16.77 - M$, $r_t=22.05 - Q$, $r_t=26.3 - K$)



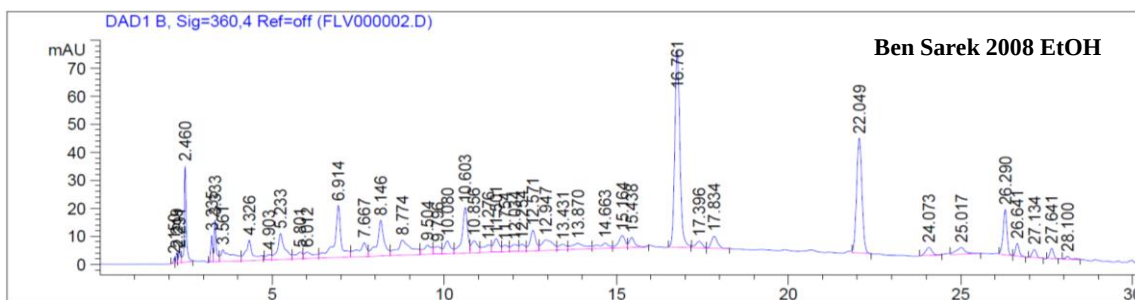
Slika 69. HPLC hromatogram flavonoida u 80% metanolnom ekstraktu sorte Ometa iz 2010 ($r_t=16.77 - M$, $r_t=22.05 - Q$, $r_t=26.3 - K$)



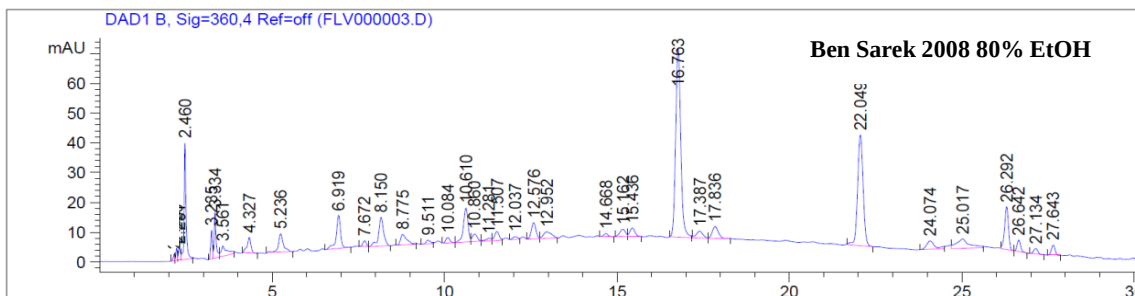
Slika 70. HPLC hromatogram flavonoida u 70% metanolnom ekstraktu sorte Ometa iz 2010 ($r_t=16.77 - M$, $r_t=22.05 - Q$, $r_t=26.3 - K$)



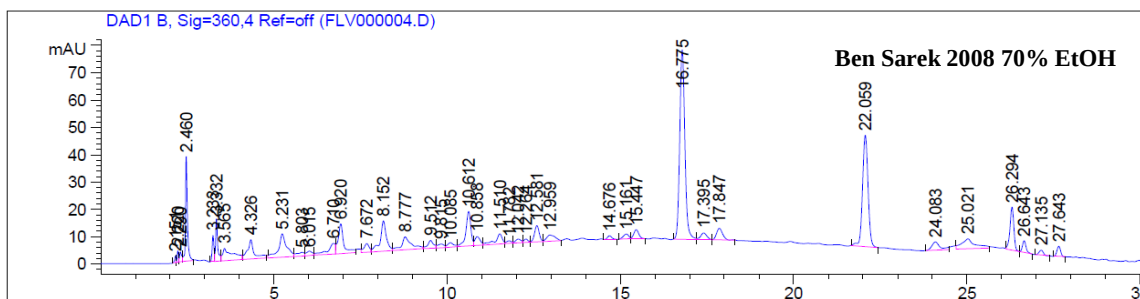
Slika 71. HPLC hromatogram flavonoida u vodenom ekstraktu sorte Ometa iz 2010 ($r_t=16.77 - M$, $r_t=22.05 - Q$, $r_t=26.2 - K$)



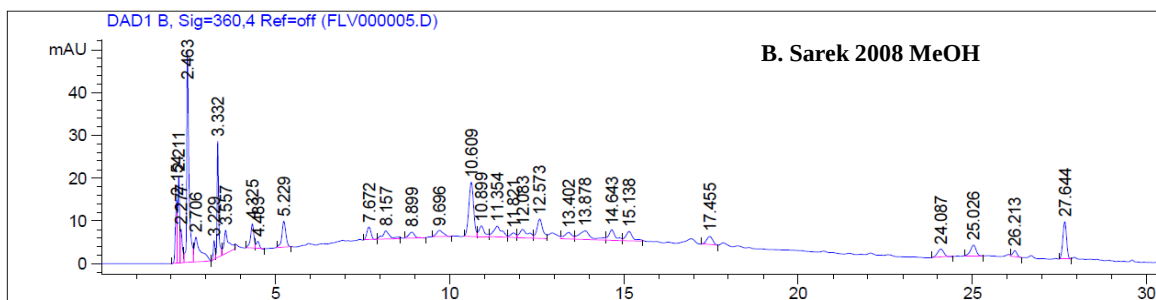
Slika 72. HPLC hromatogram flavonoida u etanolnom ekstraktu sorte B. Sareka iz 2008 ($r_t=16.76-M$, $r_t=22.05-Q$, $r_t=26.3-K$)



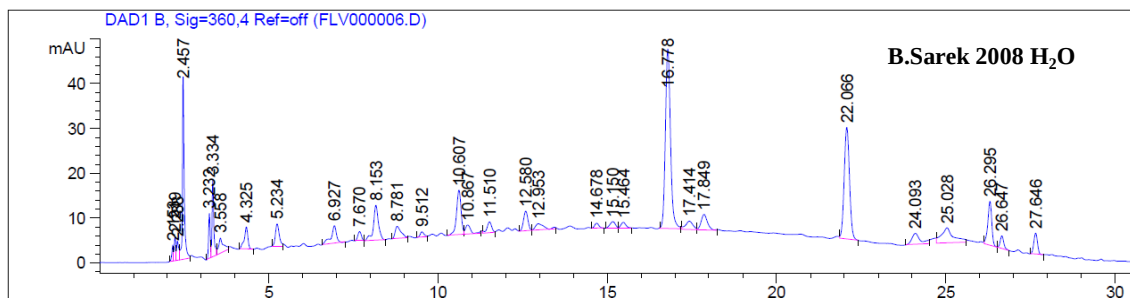
Slika 73. HPLC hromatogram flavonoida u 80% etanolnom ekstraktu sorte B. Sareka iz 2008 ($r_t=16.76-M$, $r_t=22.05-Q$, $r_t=26.3-K$)



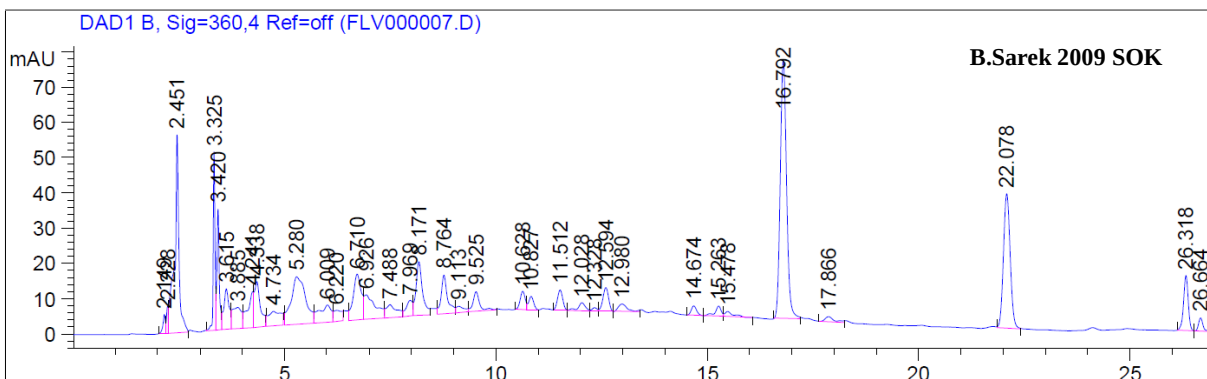
Slika 74. HPLC hromatogram flavonoida u 70% etanolnom ekstraktu sorte B. Sareka iz 2008 ($r_t=16.78-M$, $r_t=22.06-Q$, $r_t=26.3-K$)



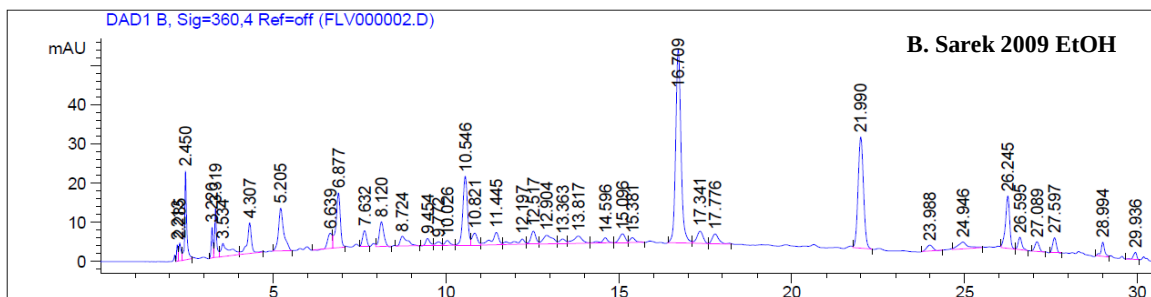
Slika 75. HPLC hromatogram flavonoida u metanolnom ekstraktu sorte B. Sarek iz 2008 ($r_t=16.64-M$, $r_t=22.05-Q$, $r_t=26.2-K$)



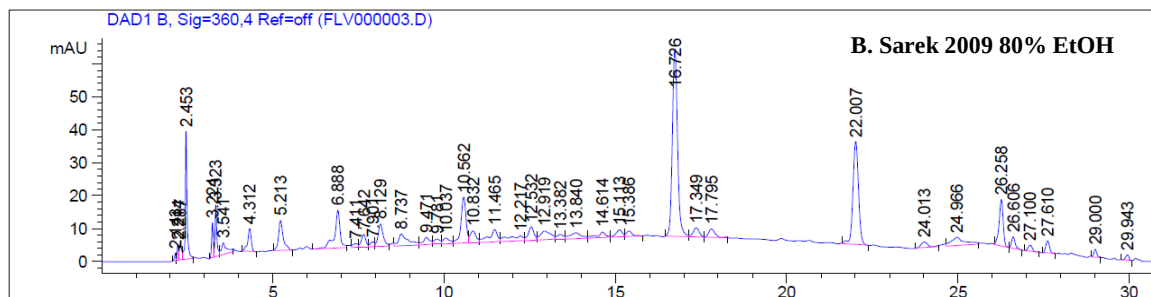
Slika 76. HPLC hromatogram flavonoida u vodenom ekstraktu sorte B. Sareka iz 2008 ($r_t=16.78-M$, $r_t=22.07-Q$, $r_t=26.3-K$)



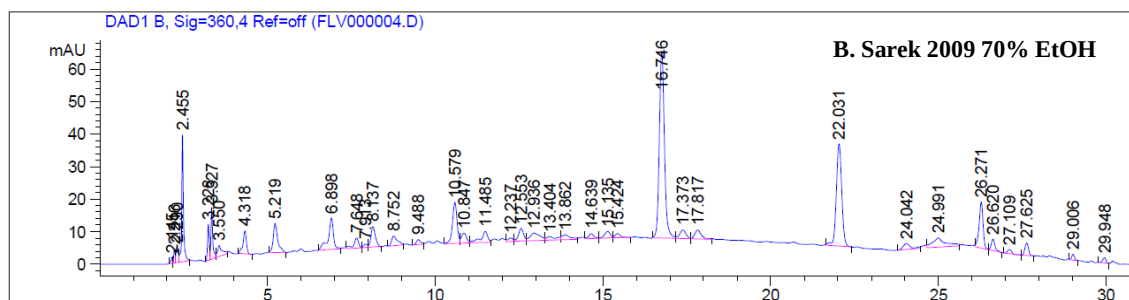
Slika 77. HPLC hromatogram flavonoida u soku sorte B. Sarek iz 2009 ($r_t=16.8-M$, $r_t=22.08-Q$, $r_t=26.3-K$)



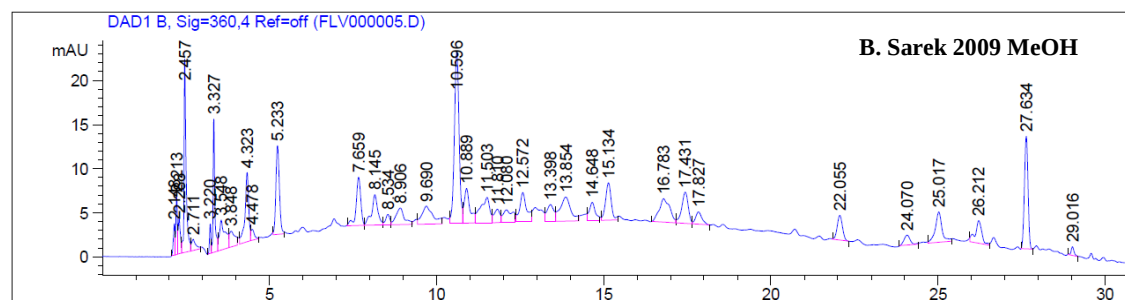
Slika 78. HPLC hromatogram flavonoida u etanolnom ekstraktu sorte B. Sarek iz 2009 ($r_t=16.71-M$, $r_t=21.99-Q$, $r_t=26.3-K$)



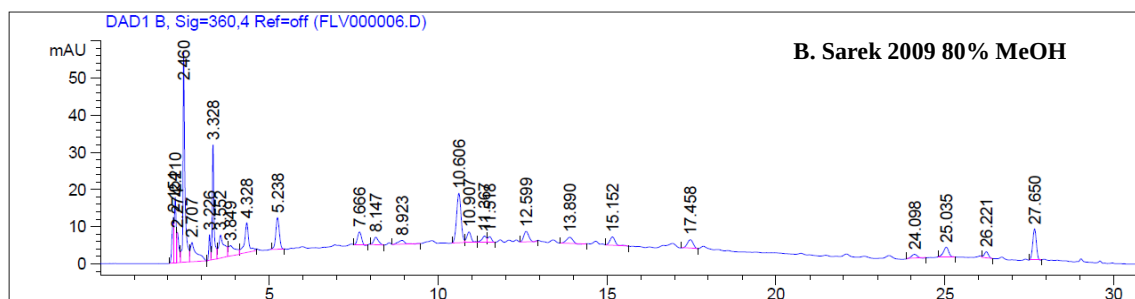
Slika 79. HPLC hromatogram flavonoida u 80% etanolnom ekstraktu sorte B. Sarek iz 2009 ($r_t=16.71-M$, $r_t=21.99-Q$, $r_t=26.3-K$)



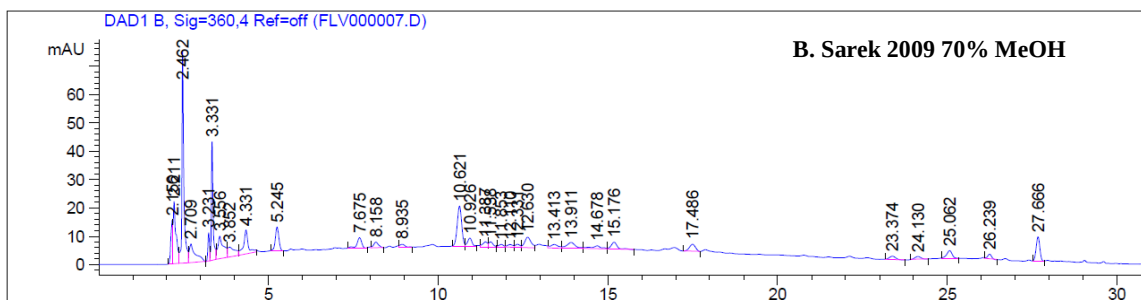
Slika 80. HPLC hromatogram flavonoida u 70% etanolnom ekstraktu sorte B. Sarek iz 2009 ($r_t=16.75-M$, $r_t=22.03-Q$, $r_t=26.3-K$)



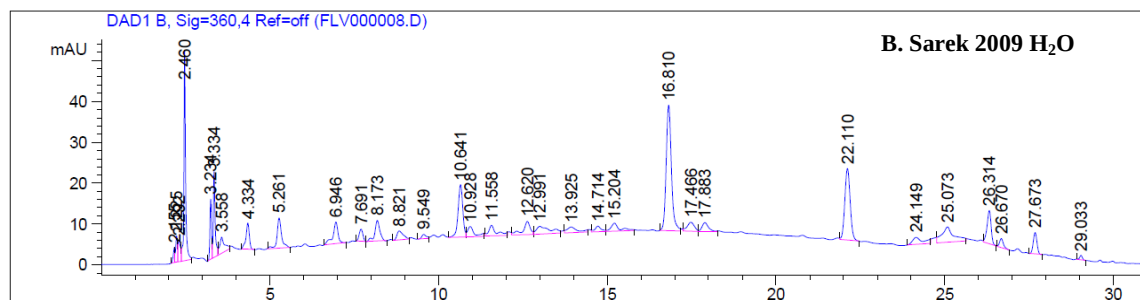
Slika 81. HPLC hromatogram flavonoida u metanolnom ekstraktu sorte B. Sarek iz 2009 ($r_t=16.78-M$, $r_t=22.05-Q$, $r_t=26.2-K$)



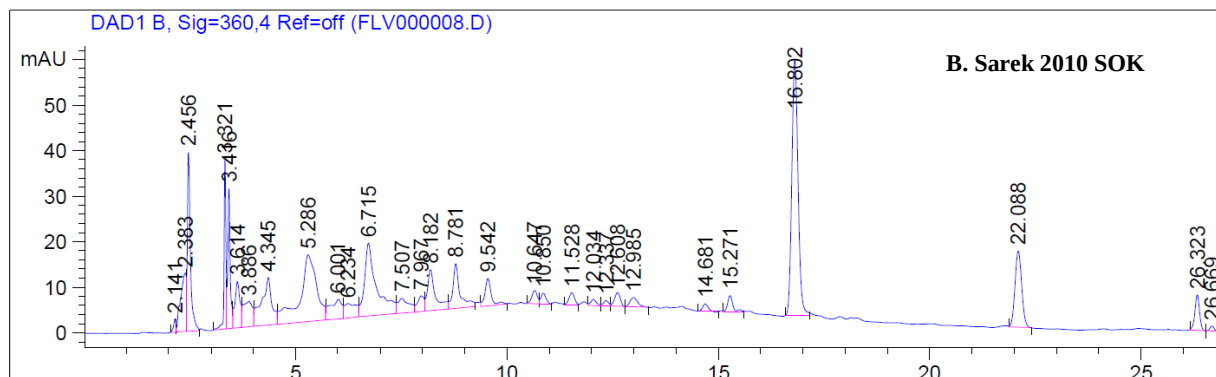
Slika 82. HPLC hromatogram flavonoida u 80% metanolnom ekstraktu sorte B. Sarek iz 2009 ($r_t=16.78-M$, $r_t=22.05-Q$, $r_t=26.2-K$)



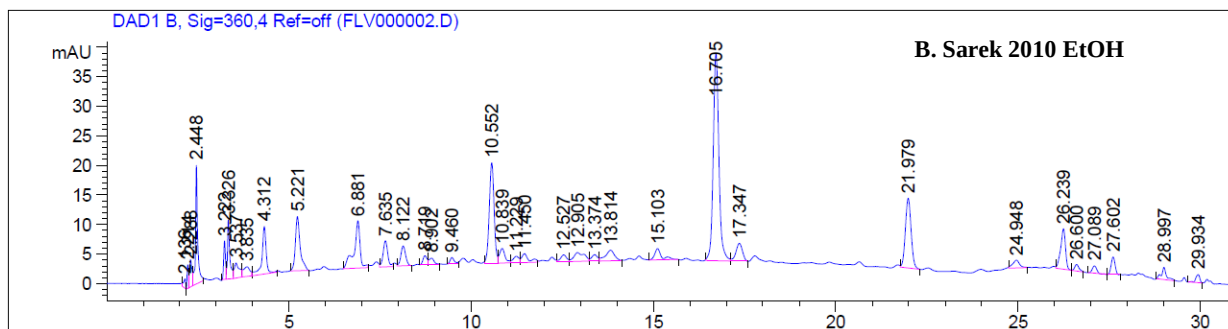
Slika 83. HPLC hromatogram flavonoida u 70% metanolnom ekstraktu sorte B. Sarek iz 2009 ($r_t=16.78-M$, $r_t=22.05-Q$, $r_t=26.2-K$)



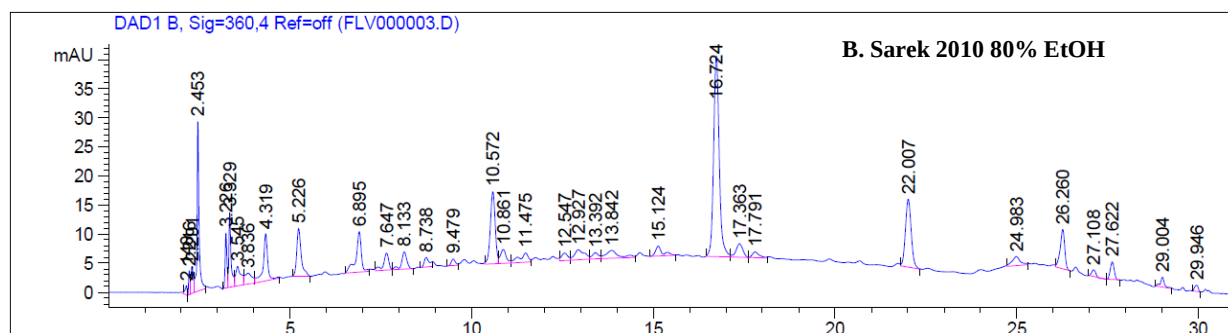
Slika 84. HPLC hromatogram flavonoida u vodenom ekstraktu sorte B. Sarek iz 2009 ($r_t=16.78-M$, $r_t=22.05-Q$, $r_t=26.2-K$)



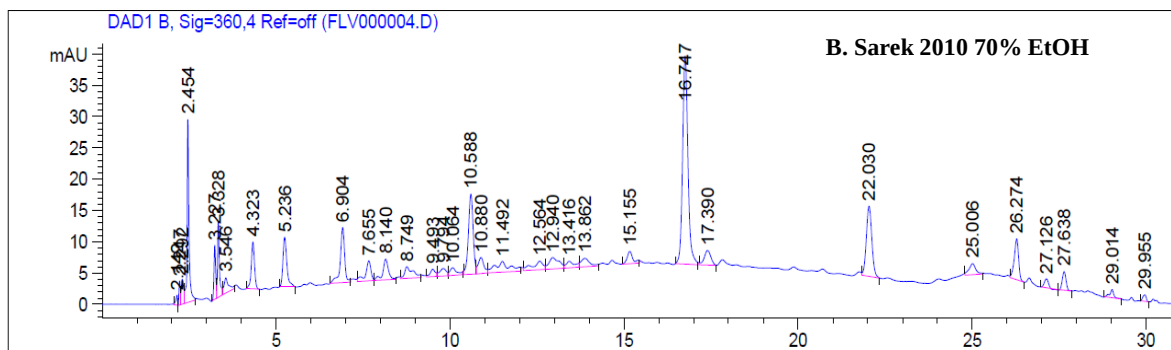
Slika 85. HPLC hromatogram flavonoida u soku sorte B. Sarek iz 2010 ($r_t=16.8-M$, $r_t=22.09-Q$, $r_t=26.3-K$)



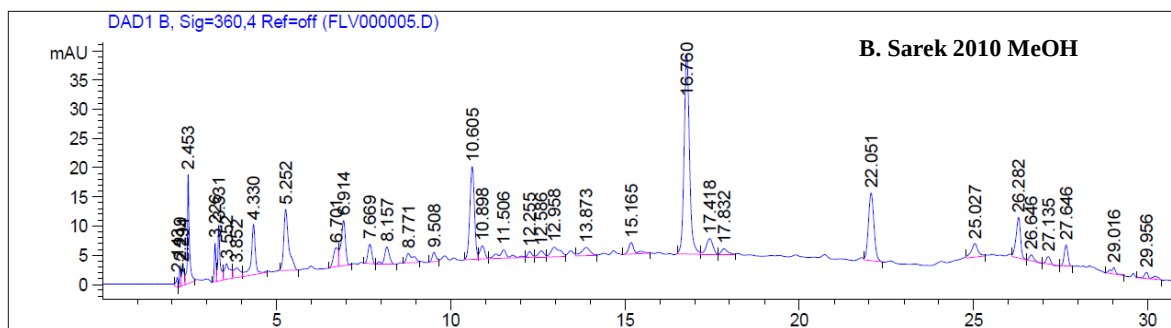
Slika 86. HPLC hromatogram flavonoida u etanolnom ekstraktu sorte B. Sarek iz 2010 ($r_t=16.7-M$, $r_t=21.98-Q$, $r_t=26.2-K$)



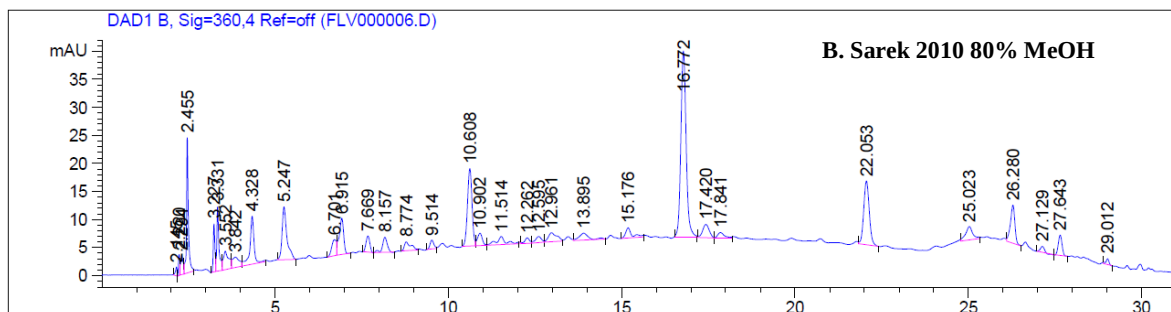
Slika 87. HPLC hromatogram flavonoida u 80% etanolnom ekstraktu sorte B. Sarek iz 2010 ($r_t=16.72-M$, $r_t=22.01-Q$, $r_t=26.3-K$)



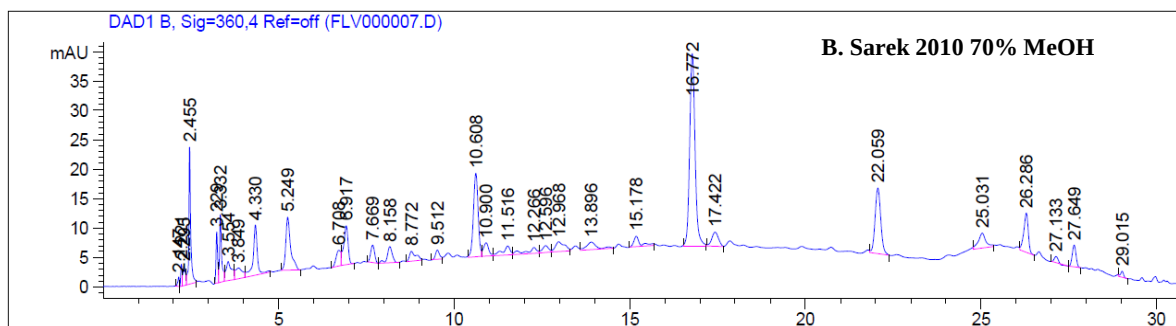
Slika 88. HPLC hromatogram flavonoida u 70% etanolnom ekstraktu sorte B. Sarek iz 2010 ($r_t=16.75-M$, $r_t=22.03-Q$, $r_t=26.3-K$)



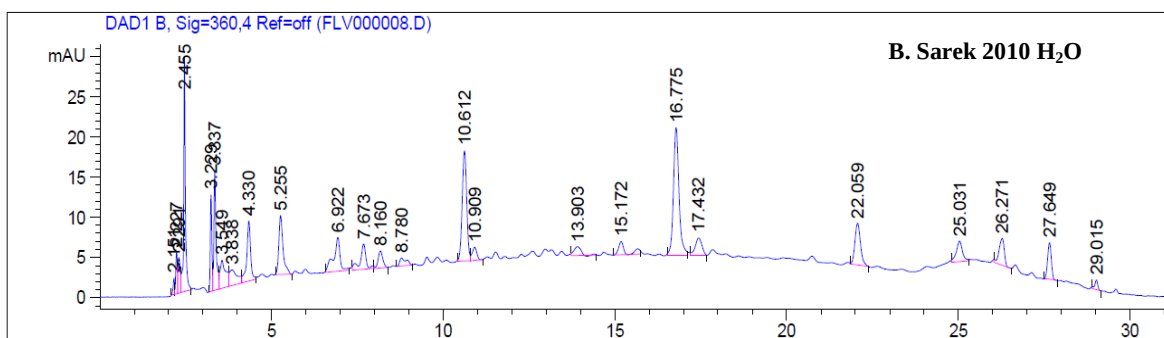
Slika 89. HPLC hromatogram flavonoida u 70% etanolnom ekstraktu sorte B. Sarek iz 2010 ($r_t=16.75-M$, $r_t=22.03-Q$, $r_t=26.3-K$)



Slika 90. HPLC hromatogram flavonoida u 80% metanolnom ekstraktu sorte B. Sarek iz 2010 ($r_t=16.77-M$, $r_t=22.05-Q$, $r_t=26.3-K$)



Slika 91. HPLC hromatogram flavonoida u 70% metanolnom ekstraktu sorte B. Sarek iz 2010 ($r_t=16.77-M$, $r_t=22.06-Q$, $r_t=26.3-K$)



Slika 92. HPLC hromatogram flavonoida u vodenom ekstraktu sorte B. Sarek iz 2010 ($r_t=16.77$ –M, $r_t=22.06$ –Q, $r_t=26.3$ –K)

BIOGRAFIJA AUTORA

Bojana Miladinović rođena je 26.06.1978. godine u Nišu. Osnovnu školu i Gimnaziju „Svetozar Marković“, prirodno-matematičkog smera završila je sa odličnim uspehom. Na smer diplomirani farmaceut-medicinski biohemičar Farmaceutskog fakulteta u Beogradu upisala se školske 1997/98. godine. Diplomirala je 2003. godine sa prosečnom ocenom 8.09 u toku studija i ocenom 10 na diplomskom ispitu. Obavezan pripravnički staž od dvanaest meseci obavila je u biohemijskoj laboratoriji Doma zdravlja i toksikološkoj i sanitarnoj laboratoriji Instituta za javno zdravlje. Od juna 2004. do avgusta 2005. radila je u apoteci Farmakop. Školske 2004/2005. i 2005/2006. godine, držala je vežbe iz Medicinske biohemije odeljenju smera farmaceutski tehničar Medicinske škole „Dr Milenko Hadžić“ u Nišu.

Školske 2009/2010. upisala je Doktorske akademske studije Farmacije - Toksikologije na Medicinskom fakultetu u Nišu.

Na Medicinskom fakultetu u Nišu radi od 01.09.2005. godine kao asistent pripravnik za užu naučnu oblast Farmacija – Bromatologija. Od 01.10.2010. godine radi na istom predmetu kao asistent. Od školske 2013/2014. asistent je i na predmetu Dijetetika, a od 2008/2009. godine i na predmetu Sanitarna hemija Strukovnih studija smera Sanitarni inženjer. Pored rada u nastavi, angažovana je kao istraživač na projektu Ministarstva prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije. Autor je i koautor većeg broja radova objavljenih u domaćim i stranim časopisima: 6 radova kategorije M22-23 (1 autorski), 2 rada kategorije M52, 18 radova kategorije M34 (5 autorskih) i 6 radova kategorije M64 (1 autorski).



Прилог 1.

ИЗЈАВА О АУТОРСТВУ

Изјављујем да је докторска дисертација, под насловом
Потенцијална употреба сокова и екстракта биљних сорти црне рибизле
(*Ribes nigrum* L.) као функционалне хране

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

У Нишу, _____

Аутор дисертације: Бојана Миладиновић

Потпис докторанда:

Бојана Миладиновић



Прилог 2.

**ИЗЈАВА О ИСЛОВЕТНОСТИ ШТАМПАНЕ И ЕЛЕКТРОНСКЕ ВЕРЗИЈЕ ДОКТОРСKE
ДИСЕРТАЦИЈЕ**

Име и презиме аутора: Бојана Миладиновић

Студијски програм: ДАС Токсикологија

Наслов рада: Потенцијална употреба сокова и екстракта биљних сорти црне рибизле
(*Ribes nigrum* L.) као функционалне хране

Ментор: Проф.др Душанка Китић

Изјављујем да је штампана верзија моје докторске дисертације истоветна електронској верзији, коју сам предао/ла за уношење у **Дигитални репозиторијум Универзитета у Нишу.**

Дозвољавам да се објаве моји лични подаци, који су у вези са добијањем академског звања доктора наука, као што су име и презиме, година и место рођења и датум одбране рада, и то у каталогу Библиотеке, Дигиталном репозиторијуму Универзитета у Нишу, као и у публикацијама Универзитета у Нишу.

У Нишу, _____

Аутор дисертације: Бојана Миладиновић

Потпис докторанда:

Bojana Miladinovic



Прилог 3.

ИЗЈАВА О КОРИШЋЕЊУ

Овлашћујем Универзитетску библиотеку „Никола Тесла“ да, у Дигитални репозиторијум Универзитета у Нишу, унесе моју докторску дисертацију, под насловом:

Потенцијална употреба сокова и екстракта биљних сорти црне рибизле

(*Ribes nigrum* L.) као функционалне хране

која је моје ауторско дело.

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

Моју докторску дисертацију, унету у Дигитални репозиторијум Универзитета у Нишу, могу користити сви који поштују одредбе садржане у одабраном типу лиценце Креативне заједнице (Creative Commons), за коју сам се одлучио/ла.

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

(Молимо да подвучете само једну од шест понуђених лиценци; кратак опис лиценци је у наставку текста).

У Нишу, _____

Аутор дисертације: Бојана Миладиновић

Потпис докторанда:

Bojana Miladinovic