

**UDK**  
**631.57:663.2**  
**577.1**

## **ISKORIŠĆENJE BIOAKTIVNIH JEDINJENJA SPOREDNIH PROIZVODA VINSKE INDUSTRIJE**

**Kalušević Ana**

*Academy for Applied Studies Belgrade, Belgrade, Serbia*  
*ana.kalusevic@vhs.edu.rs*

**Salević Ana, Nedović Viktor**

*University of Belgrade, Faculty of Agriculture,*  
*Department of Food Technology and Biochemistry, Belgrade, Serbia*

### **Abstract**

Grape pomace is the main byproduct of wine industry that represents valuable source of bioactive compounds. The aim of this research was optimization of bioactive compounds extraction from grape skin. For this purpose, cultivars typical for production of red and rosé wine in the region of Southeastern Europe: *Prokupac*, *Pinot noir* and *Cabernet Sauvignon* were used. The extraction conditions was optimized in terms of: extraction time, addition of acids, ethanol, solid/liquid ratio, and ultrasound application. Extracts were analyzed by the content of total phenols, total anthocyanins, macro-elements and antioxidant activity. The results have indicated a significant influence of ethanol (70% *V/V*) and ultrasound application (40 kHz) on the extraction efficiency. Among all analyzed macro-elements, potassium was predominant. The grape skin of black varieties should be extensively used as a source of various bioactive compounds, especially anthocyanins. Additionally, in appropriate form, it could replace artificial colourants in food products.

*Keywords:* byproducts, grape skin, extraction, bioactive compounds

### **UVOD**

Maksimalno iskorišćenje sporednih proizvoda i otpada prehrambene industrije ima sve veći kako ekonomski tako i ekološki značaj. U svetu postoji izražen trend razvoja onih tehnologija u kojima su sporedni proizvodi maksimalno iskorišćeni čime se ostvaruje podizanje produktivnosti uz minimalno zagađenje životne sredine (Galanakis, 2015). Stoga se sporedni proizvodi proizvodnje vina kao segmenta prehrambene industrije mnogo učestalije razmatraju kao važan izvor za dobijanje različitih funkcionalnih jedinjenja (npr. antocijani i druga fenolna jedinjenja), a samim tim i potencijal za razvoj proizvoda sa dodatnom vrednošću.

Rezultati pojedinih studija ukazuju na izrazito visoku antioksidativnu aktivnost pokožice crnih sorti grožđa zahvaljujući prisustvu različitih fenolnih jedinjenja (Iriti i Faoro, 2011). Ekstrakti iz pokožice crnih sorti grožđa mogu predstavljati dobre izvore antioksidanata i prirodnih pigmenata, a time i potencijalne dodatke hrani. U pokožici crnih sorti grožđa je skoncentrisan najveći

udeo prisutnih antocijana grožđa, od kojih je najdominantniji malvidin-3-glukozid (Liang et al., 2008).

Pomenuta jedinjenja se mogu koristiti kao zamena veštačkim prehranbenim bojama, ujedno ispoljujući i svoj blagotvorni efekat na zdravlje doprinoseći tako razvoju prirodnih i kvalitetnijih finalnih proizvoda. Ovo je naročito značajno imajući u vidu niske cene sirovina, iskorišćenje otpada i zamene veštačkih dodataka hrani prirodnim (Kalušević, 2017). Uz to, reč je i o potencijalnoj proizvodnji funkcionalne hrane, a ona predstavlja trend kojem u današnje vreme teži većina proizvođača, ali i samih potrošača.

Cilj ovog rada je bio da se ispita optimizacija ekstrakcije bioaktivnih jedinjenja iz sporednih proizvoda na primerima crnih sorti grožđa.

## MATERIJAL

U eksperimentalnom delu rada, kao izvor biološki aktivnih jedinjenja, prvenstveno antocijana, za optimizaciju ekstrakcije korišćena je pokožica grožđa sorte prokupac. Prokupac je odabran, jer predstavlja najrasprostranjeniju autohtonu sortu Srbije (Cvetković et al., 2013; Radojević et al., 2013). Radi potvrde kvaliteta i potencijala ove sorte kao izvora fenolnih jedinjenja, rezultati su upoređivani sa rezultatima dobijenim korišćenjem dve veoma rasprostranjene sorte cabernet sauvigon i pinot noir (burgundac crni).

Prokupac je domaća autohtona sorta koja se najviše gaji u užem području Srbije, na Kosovu i Metohiji i mestimično u Vojvodini. Gaji se i u susednim zemljama, Bugarskoj i Makedoniji, a sporadično se javlja i u Rusiji. Pripada veoma prinostnim sortama i daje 15 do 20 tona grožđa po hektaru. Groždani sok ove sorte je bezbojan i neutralnog mirisa, a pri odgovarajućim agroekološkim uslovima sadrži 18-22% šećera i 5-7 g/L ukupnih kiselina. Pri jačem ceđenju grožđa šira je roze boje, a randman soka se obično kreće oko 65-70%. Prokupac se koristi za proizvodnju stonih i kvalitetnih ružičastih i crvenih vina, za kupaziranje sa drugim sortama i za proizvodnju lozovače i vinskog destilata. Vina uglavnom sadrže 11-13% V/V alkohola i 5-6 g/L ukupnih kiselina, a odlikuju se crvenom ili rubin crvenom bojom (Avramov & Žunić, 2001). Za razliku od prokupca, šira burgundca crnog i cabernet sauvigon-a obično sadrži 20-24% šećera i 5,5-9,0 g/L ukupnih kiselina. Randman pri ceđenju im je nešto niži, oko 60 %. Grožđe obe sorte se koristi za proizvodnju vrhunskih i kvalitetnih crvenih vina, nešto ređe i roze vina. U Francuskoj se burgundac često koristi i za proizvodnju belih penušavih vina – šampanjca (Milosavljević & Jović, 1999). Kratkim uvidom u karakteristike ove tri sorte, zaključuje se da se upotrebljavaju u iste ili slične svrhe i da su ekstrakti pokožica uporedivi.

## METODE

### EKSTRAKCIJA FENOLNIH JEDINJENJA IZ POKOŽICE GROŽĐA

Usitnjena pokožica grožđa je ekstrahovana rastvaračima vodom i etanolnovodenim rastvorima različite koncentracije (0 do 70% V/V etanola) u različitim odnosima čvrste i tečne faze (1:1 do 1:40) radi ispitivanja optimalnih uslova ekstrakcije. Iz istih razloga ispitivan je efekat ultrazvuka različite jačine (40 i 59 kHz) za šta je korišćeno ultrazvučno kupatilo FALC i Elma (Zingen, Nemačka). Mešanje tokom ekstrakcije je vršeno na mešalici (šejkeru GFL 3005) 100 obr/minut (Stajnfurt, Nemačka). Pri ispitivanju efikasnosti ekstrakcije, ispitivan je dodatak sirćetne i limunske kiseline, kao i vreme neophodno za maksimalnu ekstrakciju.

### ODREĐIVANJE SADRŽAJA UKUPNIH FENOLNIH JEDINJENJA

Sadržaj ukupnih fenolnih jedinjenja određen je metodom po Folin-Ciocalteu. Tačna hemijska priroda Folin-Ciocalteu-ovog reagensa nije potpuno poznata, ali je prihvaćeno da sadrži kompleks fosfovolframove/fosfomolibdenske kiseline (Singleton et al., 1999). Uzorak za analizu je predstavljao ekstrakt bioaktivnih jedinjenja razblažen destilovanom vodom ili etanolom (u zavisnosti od upotrebljenog rastvarača za ekstrakciju, kao i sadržaja fenolnih jedinjenja), kao i mikroinkapsulat rastvoren u destilovanoj vodi. 0,25 mL uzorka dodato je 1,25 mL reagensa po Folin-Ciocalteu. Reakciona smeša je dobro promešana i ostavljena na tamnom mestu 6 minuta. Nakon toga, smeši je dodat 1 mL rastvora Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, a posle homogenizacije dobijena reakciona smeša je ostavljena na inkubaciju 2 časa na sobnoj temperaturi i na tamnom mestu (Singleton i Rossi, 1965). Apsorbanca je merena na 760 nm na spektrofotometru HALO-DB/2S Dynamica (Ditikon, Švajcarska). Uporedo je pripremana i slepa proba, kod koje je uzorak bio zamenjen destilovanom vodom. Koncentracija fenolnih jedinjenja je očitavana sa kalibracione krive standardnog rastvora galne kiseline, a rezultati su izraženi u ekvivalentima galne kiseline (mg GAE/L).

### ODREĐIVANJE SADRŽAJA UKUPNIH MONOMERNIH ANTOCIJANA

Sadržaj ukupnih monomernih antocijana određivan je pH diferencijalnom metodom koja se zasniva na strukturnoj transformaciji antocijana pri promeni pH vrednosti sredine (Lee et al., 2005). Važno je naglasiti da monomerni antocijani podležu reverzibilnoj strukturnoj transformaciji u funkciji pH, pri čemu se pri pH = 1 nalaze u obliku intenzivno obojenog flavilijum katjona, a pri pH = 4,5 prelaze u bezbojni hemiketalni oblik. Sadržaj antocijana se određuje merenjem promene apsorbance pri dve različite pH vrednosti (pH = 1 i pH = 4,5), pri čemu je razlika apsorbanci pigmenta na talasnoj dužini od 520 nm proporcionalna koncentraciji

pigmenta. Antocijani u polimernom obliku ne podležu promeni boje pri promeni pH vrednosti, tako da se njihov sadržaj ovom metodom ne može odrediti.

Odgovarajući faktor razblaženja određen je razblaživanjem uzorka sa puferom pH = 1 i merenjem njegove apsorbanca na talasnoj dužini od 520 nm. Uzorak je razblaživan sve dok njegova apsorbanca nije bila u linearnom opsegu spektrofotometra (0,1 - 1,0 AU). Koristeći dobijeni faktor razblaženja za svaki uzorak su pripremljena dva rastvora: jedan sa puferom pH = 1 i drugi sa puferom pH = 4,5. Zapremina uzorka ne sme preći 20% V/V u ukupnoj zapremini rastvora kako se ne bi prevazišao kapacitet pufera. Apsorbanca dobijenih rastvora sa puferima pH = 1 i pH = 4,5 merena je na dve talasne dužine: 520 i 700 nm. Apsorbanca na 700 nm je merena radi korekcije greške koja se javlja zbog eventualnog stvaranja pene u reakciji sa uzorkom.

#### ODREĐIVANJE ANTIOKSIDATIVNOG KAPACITETA ABTS METODOM

ABTS metoda je zasnovana na sposobnosti molekula antioksidanasa da redukuju stabilni ABTS\*<sup>+</sup> (2,2'-azinobis(3-etilbenzotiazolin-6-sulfonska kiselina)) radikal. Plavo-zeleni katjonski ABTS\*<sup>+</sup> radikal se dobija reakcijom između ABTS i kalijum-persulfata (K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub>) i pokazuje apsorpcione maksimume na 645 nm, 734nm i 815 nm. Dodatkom antioksidanasa, radikal se redukuje, pri čemu dolazi do dekolorizacije, koja je proporcionalna koncentraciji antioksidanasa i trajanju reakcije (Re et al., 1999).

U epruvetu sa 30 µL uzorka adekvatnog razblaženja dodato je 3 mL radnog ABTS\*<sup>+</sup> rastvora, a nakon mešanja i inkubiranja u trajanju od 6 minuta apsorbanca je merena na 734 nm. Za slepu probu je korišćen 5 mM fosfatni pufer. Inhibicija ABTS\*<sup>+</sup> radikala nakon 6 minuta je izračunata upotrebom formule: I – procenat inhibicije ABTS\*<sup>+</sup> radikala; A<sub>s</sub> – apsorbanca slepe probe; A<sub>uz</sub> – apsorbanca analize Kao standard je korišćen rastvor Trolox-a u 5 mM fosfatnom puferu. Antioksidativni kapacitet predstavljen je kao ekvivalent antioksidativnog kapaciteta Trolox-a (TE) i izražen je u mikromolima standarda po gramu uzorka (µmol TE/g).

#### ODREĐIVANJE MAKROELEMENTA I ELEMENTA U TRAGOVIMA

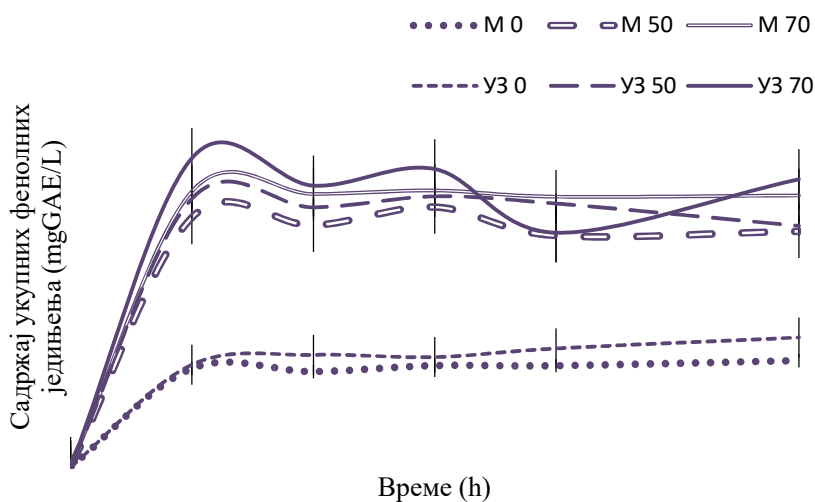
Priprema uzoraka (ekstrakata) za analizu pomoću ICP-MS-a je podrazumevala predigestiju odnosno dodatak N<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ekstraktima bioaktivnih jedinjenja i delovanje tokom 1 časa. Potom je uzorcima dodata azotna kiselina. Digestija je vršena u mikrotalasnoj peći MARS (Dablin, Irska) i to u dva koraka, od 20 i 15 minuta, oba pri snazi od 1200 W. Nakon toga uzorci su filtrirani. Priprema uzoraka za samu analizu podrazumevala je razblaženje i to 1:4 za retke zemljišne elemente i 1:10 za elemente u tragovima. Analize su vršene na uređaju Perkin Elmer SCIEX (Ontario, Kanada) model serije 9000. Kalibracioni standardi su pripremljeni u 1% V/V azotnoj kiselini. Germanijum je korišćen kao standard za elemente u tragovima i to u koncentracijama 50x10<sup>-9</sup> g/L. Operativni

uslovi su bili sledeći: protok gasa 0,75 L/min, snaga ICP RFa 950 W, napon objektiva 7 V, napon pulsne fazne 950 V. Slepe probe su pripremljene po istoj proceduri kao i sami uzorci (Drivelos et al., 2016). Po opisanoj proceduri ekstrakti bioaktivnih jedinjenja pokožice grožđa su analizirani i na sadržaj makroelemenata (Ca, K, P, Na, Mg).

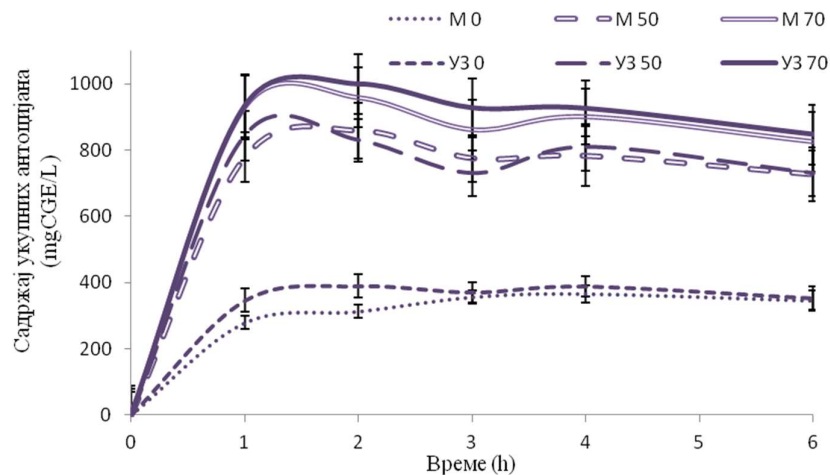
## REZULTATI

Parametri ekstrakcije bioaktivnih jedinjenja čiji su uticaji na efikasnost bili ispitivani su: vreme ekstrakcije, primena mešanja, primena ultrazvučnih talasa različitih frekvencija, primenjeni rastvarači, kao i dodatak kiselina rastvaračima. Prvi ispitani tretmani podrazumevali su vodu kao rastvarač i tretman konstantnog mešanja (M) tokom ekstrakcije bioaktivnih jedinjenja iz obe sirovine, zatim primenu ultrazvučnih talasa frekvencije 40 kHz (UZ) i to 10 minuta svakog sata trajanja ekstrakcije.

Rezultati analize sadržaja fenolnih jedinjenja i antocijana u zavisnosti od uslova ekstrakcije i vremena prikazani su na slikama 1 i 2.



Slika 1. Sadržaj ukupnih fenolnih jedinjenja ekstrahovanih iz pokožice grožđa u zavisnosti od uslova ekstrakcije i vremena (M-mešanje, UZ-ultrazvuk 0, 50, 70 – procenat etanola u rastvaraču)



Slika 2. Sadržaj ukupnih antocijana ekstrahovanih iz pokožice grožđa u zavisnosti od uslova primenjenih postupaka ekstrakcije i vremena (M-mešanje, UZ-ultrazvuk, 0, 50, 70 – procenat etanola u rastvaraču)

Na osnovu dobijenih rezultata zaključuje se da primenjen postupak ekstrakcije ima uticaja na prinos ukupnih ekstrahovanih bioaktivnih jedinjenja i kinetiku ekstrakcije. U poređenju sa klasičnom maceracijom, primena ultrazvučnih talasa značajno utiče na sadržaj fenolnih jedinjenja i vreme trajanja procesa ekstrakcije. Rezultati ispitivanja ekstrakcije monomernih antocijana tokom 6 sati (slika 2) potvrdili su u značajan efekat ultrazvučnih talasa na povećanje ekstrahovanih aktivnih komponenti koje se postiže već u prvih 90 minuta. Ekstrakcija bez primene ultrazvučnih talasa (odnosno samo konstantno mešanje) pokazala je najveću efikasnost tek nakon tri časa ekstrakcije. Ispitivanjem uticaja ultrazvuka na sadržaj ekstrahovanih monomernih antocijana iz pokožice grožđa, pokazan je statistički značajan efekat njegove primene u odnosu na samo mešanje kao primenjen tretman tokom ekstrakcije. Ovaj efekat primene ultrazvučnih talasa se pripisuje kavitaciji koja utiče na razaranje ćelijskog zida i ubrzan prenosa mase ekstraktivnih antocijana. Primena ultrazvuka doprinosi uštedi vremena i energije u ekstrakciji antocijana, ali i ukupnih fenolnih jedinjenja iz pokožice grožđa. Rezultati studije Corrales i saradnika (2008) potvrdili su, takođe, značajan uticaj primene ultrazvuka na ekstrakciju antocijana i ostalih fenolnih jedinjenja iz pokožice grožđa.

Takođe, ispitan je uticaj rastvarača, preciznije vode i etanola različite koncentracije kao tečne faze uz mešanje i primenu ultrazvuka tokom ekstrakcije. U ovom delu istraživanja upotrebom pomenutih rastvarača i tretmana dobijeno je šest različitih ekstrakata bioaktivnih jedinjenja pokožice grožđa.

Kao što se može zaključiti sa slika 1 i 2, vreme koje je potrebno za optimalnu ekstrakciju fenolnih jedinjenja i antocijana je 90 minuta ekstrakcije. Etanol (obe primenjene koncentracije, 50 i 70% V/V) su u odnosu na vodu (bez etanola) pokazali značajan efekat na ekstrakciju antocijana, konkretno 55% m/V viši

sadržaj antocijana je postignut korišćenjem ovog rastvarača. Za ekstrakciju antocijana ispitivan je efekat frekvencije ultrazvuka od 40 i 59 kHz, međutim nije postojala značajna razlika između ove dve primenjene vrednosti te je u nastavku eksperimenata primenjivana frekvencija od 40 kHz u svim uzorcima. Efikasnija ekstrakcija je omogućena dodatkom kiseline (tabela 1), odnosno zakišeljavanjem rastvarača limunskom ili sirćetnom kiselinom, a samim tim delimičnom hidrolizom vezanih antocijana što je u saglasnosti sa literaturom (Wang et al., 2016). Sem tog efekta, dodatkom kiseline se postigao i niži rN što antocijane održava u stabilnijoj formi, a posledica toga je i atraktivnija boja ekstrakta bioaktivnih jedinjenja, a kasnije i boja mikroinkapsulata tih ekstrakata.

Tabela 1. Uticaj dodatka kiseline rastvaraču na sadržaj ukupnih fenolnih jedinjenja (TRS, mg GAE/gsm) i antocijana (TAS, mg CGE/gsm) pokožice grožđa

	P		K		B	
	TPC	TAC	TPC	TAC	TPC	TAC
OK	83,1 ± 1,6	16,3 ± 0,8	73,3 ± 2,4	15,2 ± 0,7	87,0 ± 1,4	19,3 ± 0,9
LK	71,7 ± 2,1	14,4 ± 0,7	66,8 ± 1,9	13,6 ± 0,7	83,4 ± 1,4	16,5 ± 0,8
SK	83,4 ± 1,4	16,8 ± 0,6	74,2 ± 2,7	16,0 ± 0,6	89,1 ± 1,6	21,5 ± 1,0

OK – bez dodatka kiseline, LK – dodatak 1% limunske kiseline, SK – dodatak 1% sirćetne kiseline, P-prokupac, K- cabernet sauvignon, B-burgundac crni

U slučaju pokožice grožđa (tabela 1) dodatak kiseline nije imao tako značajan efekat na efikasnost ekstrakcije, a to se može objasniti sastavom sirovine i formama fenolnih jedinjenja. Takođe, analiziran je i efekat različitih koncentracija kiseline (0,1-1% m/V), gde se njen dodatak u koncentraciji od 1% m/V bio najznačajniji. Mora se spomenuti i da dodatak ove kiseline ima uticaj na senzorna svojstva ekstrakta. To je ujedno razlog zašto se nije razmatrao veći udeo kiseline (senzorna (ne)prihvatljivost). Uticaj odnosa čvrste i tečne faze na efikasnost ekstrakcije prikazan je u tabeli 2. Cilj je bio optimizovati proces i pronaći adekvatnu zapreminu rastvarača imajući u vidu efikasnost istog, ali i cenu te zapremine. Iz ove tabele (tabela 2) može se zaključiti da je prokupac kao izvor fenolnih jedinjenja pogotovo antocijana, sorta sa značajnim potencijalom,. U slučaju sve tri sorte najviši sadržaj fenolnih jedinjenja je postignut pri odnosu čvrste i tečne faze 1:3 i/ili 1:4 što je, generalno, u skladu sa literaturom (Katalinić et al., 2010).

Tabela 2. Sadržaj ukupnih fenolnih jedinjenja (TRS, mg CGE/gsm) i antocijana (TAS, mg CGE/gsm) u ekstraktu u zavisnosti od odnosa čvrste i tečne faze pri ekstrakciji

Однос Ч-Т	П		К		Б	
	TPC	TAC	TPC	TAC	TPC	TAC
1:2	44,9 ± 1,5	9,3 ± 0,5	40,1 ± 3,1	8,1 ± 0,5	49,2 ± 4,5	10,4 ± 0,8
1:3	82,1 ± 2,8	16,3 ± 0,9	79,4 ± 4,0	11,9 ± 0,7	83,8 ± 3,9	17,0 ± 0,9

1:4	87,5 ± 2,9	15,1 ± 1,6	80,4 ± 3,5	9,8 ± 0,9	85,2 ± 3,9	12,9 ± 0,5
1:10	74,7 ± 1,1	9,9 ± 0,8	70,8 ± 4,1	8,9 ± 0,6	78,0 ± 4,8	10,9 ± 0,7
1:20	68,1 ± 2,6	8,5 ± 0,9	61,9 ± 3,6	7,8 ± 0,5	65,5 ± 3,1	8,9 ± 0,5
1:40	53,3 ± 2,1	7,4 ± 0,8	49,8 ± 2,5	6,4 ± 0,4	58,1 ± 2,6	8,0 ± 0,4

Svim uzorcima ekstrakata je antioksidativna aktivnost određena spektrofotometrijskim metodama, a rezultati ovih analiza su prikazali da je prokupac, odnosno ekstrakt pokožice ove sorte, iznova dao značajne rezultate ( $757,5 \pm 34,9 \mu\text{mol TE/gsm}$ ). Poređenja radi druge dve sorte su imale antioksidativnu aktivnost  $699,0 \pm 24,9$  i  $801,4 \pm 39,9 \mu\text{mol TE/gsm}$ .

Ekstraktima bioaktivnih jedinjenja pokožice crne sorte grožđa određeni su sadržaji 5 makroelemenata (tabela 3) i 26 elemenata u tragovima (tabela 4).

Tabela 13. Sadržaj makro elemenata u pokožici grožđa ( $\mu\text{g/gsm}$ )

Makro element	Prokupac	<i>Pinot noir</i>	<i>Cabernet sauvignon</i>
Ca	535,83	515,06	328,44
K	1302,04	4142,23	1593,54
Mg	222,70	493,27	278,85
Na	349,41	87,35	70,19
P	613,24	1073,99	29,95*

\*vrednost niža od limita detekcije

Tabela 14. Sadržaj elemenata u tragovima u ekstraktima ( $\mu\text{g/gsm}$ )

Elementi u tragovima	Prokupac	<i>Pinot noir</i>	<i>Cabernet sauvignon</i>
Ag	0,02*	0,02*	0,05
Al	7,03	10,86	7,80
As	0,01*	0,01*	0,02*
Ba	0,23	0,44	0,19
Be	12,50	31,95	7,23
Bi	0,02	0,01	0,03
Cd	0,04*	0,05*	0,06*
Cr	2,86	1,93	1,78
Co	0,03	0,02	0,06
Cu	6,68*	15,06*	9,82*
Fe	18,86	17,01	86,82
Ga	0,02	0,03	0,02
Pb	0,56	0,25	0,21
Li	0,16	0,26	0,12
Mn	2,21	3,16	1,24
Mo	0,24*	0,28*	0,25*



Ni	0,43	0,49	8,48
Rb	3,84*	10,41*	0,89*
Sb	0,07*	0,07*	0,08*
Se	0,30*	0,59*	0,59*
Sn	0,01*	0,03*	0,02*
Sr	0,32*	0,23*	0,05*
Tl	0,16	0,03	0,03
V	0,12*	0,11*	0,12*
Zn	23,71*	41,64*	22,02*

\*vrednost niža od limita detekcije

Iz tabela 3 i 4 u kojima je predstavljeno poređenje sadržaja elemenata pokožica sorte prokupac sa dve najrasprostranjenije sorte se može videti da sadržaj pojedinih elemenata u uzorcima veoma varira u zavisnosti od sorte grožđa. Razlike između različitih kultura, ali čak i sorti u literaturi su objašnjene pojavom da biljne vrste ispoljavaju selektivan proces bioakumulacije različitih elemenata (Fabani et al., 2013). Takođe, sem što dospevaju iz zemljišta u tkivo biljaka, prisustvo raznih elemenata je posledica različitih zaštitnih tretmana. Kalijum je najzastupljeniji makronutrijent u pokožicama sve tri ispitivane sorte grožđa, a prate ga fosfor, kalcijum, natrijum i magnezijum što odgovara literaturni podacima (Stanković, 2008). Tokom sazrevanja plodova, u ovom slučaju bobica grožđa, a kasnije i tokom berbe i manipulacije može doći do raznih vidova kontaminacije, a jedan od njih je kontaminacija metalima. To je jedan od glavnih razloga za analizu korišćenih ekstrakata u kojima je određeno i prisustvo toksičnih i potencijalno toksičnih metala, kao što su Ag, Al, As, Bi, Cd, Co, Ga, Ni, Pb, Sb, Sn, Tl i V. Ovi elementi imaju potencijal da se akumuliraju u raznim organima ljudskog organizma, ispoljavajući toksične efekte (Dhiman et al., 2011). U ispitivanim uzorcima prisutni su elementi u veoma malim koncentracijama, a opadajući redosled koncentracija najzastupljenijih elemenata je: Al > Ni > Pb > Cr. Ovi elementi vode poreklo iz zemljišta ili raznih kontaminanata, kao što su ostaci fungicida i drugih fitosanitarnih sredstava (De Nisco et al., 2013)

Najzastupljeniji mineralni elementi u tragovima prikazani su po opadajućem redosledu: Fe > Zn > Mo i odnose se na sve uzorke. Svi pomenuti elementi važni su i za funkcionisanje ljudskog organizma, kao što je obrazovanje hemoglobina, moždane funkcije, izgradnja kostiju, regulacija temperature i krvnog pritiska i druge (Stanković, 2008).

## ZAKLJUČAK

Na osnovu dobijenih rezultata i činjenica izloženih u radu može se zaključiti sledeće:

Rezultati ekstrakcije fenolnih jedinjenja su pokazale da je najefikasnije koristiti etanolni rastvor i to koncentracije 70% tokom 90 minuta uz primenu

mešanja i ultrazvuka. Ovakvi ekstrakti su pokazali najviši sadržaj ukupnih fenolnih jedinjenja, ukupnih i individualnih antocijana, kao i antioksidativnu aktivnost.

Sadržaj 30 elemenata u pokožici grožđa i semenjači crne soje određen je primenom tehnike induktivne kuplovane plazme- masene spektrometrije nakon mikrotalasne digestije. Dobijeni rezultati ukazali su da pokožice ispitivanih sorti grožđa sadrže značajan udeo makroelemenata, pre svega kalijum, ali i natrijum, kalcijum, magnezijum i fosfor što ukazuje na potencijal njihove primene kao sastojka funkcionalne hrane. Analiza toksičnih i potencijalno toksičnih elemenata pokazuje da su oni prisutni u veoma niskim koncentracijama, dok su koncentracije nekih elemenata (npr. arsena, kadmijuma i antimona) ispod limita detekcije što dovodi do zaključka da je primena ekstrakata pokožice grožđa kao dijetetskih suplementa bezbedna.

Korišćenje sporednih proizvoda prehrambene industrije za dobijanje jedinjenja sa funkcionalnim svojstvima predstavlja izuzetno važan pristup.

Konzumiranje prehrambenih proizvoda sa dodacima koji predstavljaju dokazan izvor prirodnih antioksidanata, ali i prirodnih pigmenata, može korisno uticati na zdravlje ljudi sprečavanjem ili inhibicijom oksidativnih oštećenja kao glavnim uzročnikom mnogih hroničnih oboljenja. Ujedno, zbog povećanja konkurencije na tržištu pred proizvođačima prehrambenih proizvoda se postavlja obaveza da njihovi gotovi proizvodi u pogledu nutritivne vrednosti, organoleptičke primamljivosti, zdravstvene bezbednosti i cene zadovolje očekivanja svih potencijalnih kupca, a jedna od mogućnosti je primena mikroinkapsulata bioaktivnih jedinjenja.

#### REFERENCE

- Avramov, L., Žunić, D. (2001): Posebno vinogradarstvo. Poljoprivredni fakultet, Beograd.
- Cvetković, D., Hristov, P., Janković, B., Milosavljević, S., Trajković, J., Hristov, R. (2013): Effect of altitude on the quality and quantity of the indigenous variety of Prokupac grape. In: Proceedings of 36th World Congress of vine and wine: "Vine and Wine between Tradition and Modernity", Bucharest – Romania. pp. 232-235
- Corrales, M., Toepfl, S., Butz, P., Knorr, D., Tauscher, B. (2008): Extraction of anthocyanins from grape by-products assisted by ultrasonics, high hydrostatic pressure or pulsed electric fields: a comparison. *Innovative Food Science & Emerging Technologies* 9: 85-91.
- De Nisco, M., Manfra, M., Bolognese, A., Sofu, A., Scopa, A., Tenore G.C., Pagano, F., Milite C. Ruso, M.T. (2013): Nutraceutical properties and polyphenolic profile of berry skin and wine of *Vitis vinifera* L. (cv. Aglianico). *Food Chemistry* 140: 623–629.
- Drivelos, S. A., Danezis, G. P., Haroutounian, S. A., Georgiou, C. A. (2016): Rare earth elements minimal harvest year variation facilitates robust geographical origin discrimination: The case of PDO "Fava Santorinis". *Food Chemistry* 213: 238-245.
- Galanakis, C.M. (2015): Food waste recovery processing technologies and industrial techniques. Academic Press, London

- Fabani, M.P., Luna, L., Baroni, M.V., Monferran, M.V., Ighani, M., Tapia, A., Wunderlin, D.A., Feresin, G.E. (2013): Pistachio (*Pistacia vera* var Kerman) from Argentinean cultivars. A natural product with potential to improve human health. *Journal of Functional Foods* 5: 1347–1356
- Iriti, M., Faoro, F. (2011): Health-promoting effects of grape bioactive phytochemicals. In: Watson R.R. (Ed.), *Complementary and Alternative Therapies and the Aging Population: An Evidence-Based Approach*. Elsevier, pp. 445-474.
- Kalušević, A. M. (2017). Mikrokapsulacija bioaktivnih jedinjenja iz sporednih proizvoda prehrambene industrije (Doctoral dissertation, Univerzitet u Beogradu-Poljoprivredni fakultet).
- Katalinić, V., Možina, S. S., Skroza, D., Generalić, I., Abramović, H., Miloš, M., Ljubenković, I., Piskernik, S., Pezo, I., Terpinč, P., Boban, M. (2010): Polyphenolic profile, antioxidant properties and antimicrobial activity of grape skin extracts of 14 *Vitis vinifera* varieties grown in Dalmatia (Croatia). *Food Chemistry*, 119: 715-723.
- Lee, J., Durst, R.W., Wrolstad, R.E. (2005): Determination of total monomeric anthocyanin pigment content of fruit juices, beverages, natural colorants, and wines by pH differential method: Collaborative study. *Journal of AOAC International* 88: 1269-1278.
- Liang, Z., Wu, B., Fan, P., Yang, C., Duan, W., Zheng, X., Li, S. (2008): Anthocyanin composition and content in grape berry skin in *Vitis* germplasm. *Food Chemistry* 111: 837-844.
- Милосављевић, М., Јовић, С. (1999): Винова лоза, грождје и вино. Агена, Београд.
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., Rice-Evans, C. (1999): Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine* 26: 1231-1237.
- Singleton, V.L. Rossi, J.A. (1965): Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagent. *American Journal of Enology and Viticulture* 16: 144-158. Singleton, V.L., Orthofer, R., Lamuela-Raventó, R.M. (1999): Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology* 299: 152-178
- Stanković, M.(2008): *Vino-hrana i lek*. Zadužbina Andrejević, Beograd, Srbija
- Wang, W., Jung, J., Tomasino, E., Zhao, Y. (2016): Optimization of solvent and ultrasound-assisted extraction for different anthocyanin rich fruit and their effects on anthocyanin compositions. *LWT-Food Science and Technology* 72: 229-238.