



UNIVERZITET U  
Kragujevcu  
AGRONOMSKI FAKULTET U  
ČAČKU



UNIVERSITY OF  
Kragujevac  
FACULTY OF  
AGRONOMY  
ČAČAK

---

# XXV SAVETOVANJE O BIOTEHNOLOGIJI

sa međunarodnim učešćem

- ZBORNIK RADOVA 2 -



---

Čačak, 13 - 14. mart 2020. godine

# **XXV SAVETOVANJE O BIOTEHNOLOGIJI**

**sa međunarodnim učešćem**

**- Zbornik radova 2 -**

## **ORGANIZATOR I IZDAVAČ**

**Univerzitet u Kragujevcu,  
Agronomski fakultet u Čačku**

### **Organizacioni odbor**

Prof. dr Gordana Šekularac, predsednik;  
dr Pavle Mašković, vanr. prof., sekretar;  
dr Dalibor Tomić, docent; mast. inž. polj. Radmila Nikolić, asistent;  
dipl. inž. Jelena Pantović, asistent; Miloš Petrović, istraživač pripravnik;  
dipl. inž. Dušan Marković, asistent

### **Programski odbor**

Dr Vladimir Kurćubić, vanredni profesor, predsednik;  
prof. dr Tomo Milošević, dekan; prof. dr Leka Mandić;  
prof. dr Vladeta Stevović; prof. dr Snežana Bogosavljević-Bošković;  
prof. dr Radojica Đoković; prof. dr Milomirka Madić;  
prof. dr Aleksandar Paunović; prof. dr Milena Đurić;  
prof. dr Lenka Ribić-Zelenović; prof. dr Mlađan Garić;  
dr Goran Marković, vanredni profesor; dr Gorica Paunović, vanredni profesor;  
dr Tomislav Trišović, vanredni profesor; dr Milan Lukić, viši naučni saradnik;  
dr Snežana Tanasković, vanredni profesor

### **Tehnički urednici**

Dr Pavle Mašković, vanr. prof.; Miloš Petrović, istraživač pripravnik;  
dipl. inž. Dušan Marković, asistent

**Tiraž:** 150 primeraka

### **Štampa**

*JP SLUŽBENI GLASNIK, Jovana Ristića 1, Beograd*  
Godina izdavanja, 2020

## PREDGOVOR

Promene koje se ubrzano dešavaju na globalnom i lokalnom nivou, od naučnih, klimatskih, ekonomskih, pa do političkih, podstiču potrebu da proučimo njihov uticaj na živi svet i na jednu od najvažnijih ljudskih delatnosti - proizvodnju hrane.

Naša poljoprivreda, selo, poljoprivredni proizvođači nisu danas to što su bili pre trideset ili četrdeset godina, srpsko selo se danas više nego ikad ubrzano i u hodu menja. Poljoprivredna nauka mora preuzeti deo odgovornosti u pogledu proizvodnje dovoljne količine kvalitetne hrane za ljudsku ishranu, jer prolaze vremena kada se za svaku lošu žetvu traže opravdanja u klimi.

S' ciljem da budemo u toku aktuelnih zbivanja, kao i da sami svojim rezultatima utičemo na razvoj poljoprivrede i na delatnosti koje je prate, Agronomski fakultet u Čačku, pored edukacije studenata, redovno, godišnje, organizuje i Savetovanje o biotehnologiji, ovaj put, jubilarno, dvadeset peto po redu.

Osnovni cilj Savetovanja je upoznavanje šire naučne i stručne javnosti sa rezultatima najnovijih naučnih istraživanja, domaćih i inostranih naučnika iz oblasti osnovne poljoprivredne proizvodnje i prerade, kao i zaštite životne sredine. Na taj način Fakultet nastoji da omogući direktan prenos naučnih rezultata široj proizvodnoj praksi, pa pored naučnih radnika, agronoma, tehnologa, na ovogodišnjem Savetovanju biće i značajan broj poljoprivrednih proizvođača, stručnih savetodavaca, nastavnika, itd.

U Zborniku radova jubilarnog XXV Savetovanja o biotehnologiji sa međunarodnim učešćem, predstavljeno je ukupno 86 radova iz oblasti Ratarstva, povrtarstva i krmnog bilja, Voćarstva i vinogradarstva, Zootehnike, Zaštite bilja, proizvoda i životne sredine i Prehrambene tehnologije.

Pokrovitelj jubilarnog XXV Savetovanja o biotehnologiji sa međunarodnim učešćem je Ministarstvo prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije, a materijalnu i organizacionu podršku su nam pružili grad Čačak, privrednici, dugogodišnji prijatelji Agronomskog fakulteta, kojima se i ovim putem zahvaljujemo.

U Čačku, marta 2020. godine

Programski i Organizacioni odbor  
XXV Savetovanja o biotehnologiji



## SADRŽAJ

### Sekcija: Ratarstvo, povrtarstvo i krmno bilje

- Jasmina Knežević, Andrej Šekularac, Desimir Knežević, Ljubiša Živanović, Dalibor Tomić, Nebojša Gudžić, Snežana Tošković, Dragoslav Đokić: MOGUĆNOST UTICAJA NA GLUTEN INDEKS IZBOROM SORTI I REGIONA GAJENJA PŠENICE* ..... 331
- Jordan Marković, Snežana Anđelković, Tanja Vasić, Dragoslav Đokić, Jasmina Milenković, Filip Bekčić, Olivera Stanojević Vasilov: ISPITIVANJE PLODNOSTI ZEMLJIŠTA NA TERITORIJI OPŠTINE KRUŠEVAC – LOKACIJA VELIKI ŠILJEGOVAC* ..... 337
- Dragoslav Đokić, Rade Stanisavljević, Jasmina Milenković, Snažana Anđelković, Dragan Terzić, Saša Barać, Jasmina Knežević: UTICAJ RAZLIČITIH PARTIJA NATURALNOG SEMENA LUCERKE (*Medicago sativa* L.) NA PROCES ČIŠĆENJA* ..... 343
- Borislav Petković, Novo Pržulj, Vojo Radić: VARIJABILNOST KVALITETA SIJENA CRVENE DJETELINE (*Trifolium pratense* L.) U BRDSKOM PODRUČJU GRADA BANJA LUKA* ..... 349
- Kristina Luković, Veselinka Zečević, Milivoje Milovanović, Vera Rajčić, Vladimir Perišić, Marko Jauković: UTICAJ KOLIČINE I RASPOREDA PADAVINA NA OSOBINE TEHNOLOŠKOG KVALITETA RAZLIČITIH GENOTIPOVA PŠENICE* ..... 355
- Sanid Pašić, Aleksandra Govedarica-Lučić, Alma Rahimić: UTICAJ RAZLIČITIH DOZA PIROFILITA NA RAST I RAZVOJ KUPUSA (*Brassica oleraceae* var. *capitata*.)* ..... 363
- Nebojša Gudžić, Aleksandar Đikić, Gordana Šekularac, Slaviša Gudžić, Miroljub Aksić, Jasmina Knežević: UTICAJ RAZLIČITIH KOLIČINA AZOTA I FOLIJARNOG ĐUBRENJA NA PRINOS I KOMPONENTE PRINOSA OZIME PŠENICE (*Triticum aestivum* L.)* ..... 369
- Ljubiša Živanović, Ljubiša Kolarić, Jela Ikanović, Jelena Golijan, Ljubica Šarčević-Todosijević, Vera Popović: ĐUBRENJE I INOKULACIJA SEMENA U FUNKCIJI STABILNE PROIZVODNJE PASULJA* ..... 375
- Nezir Tanović, Svetlana Hadžić, Alma Mićijević: KVALITATIVNE VREDNOSTI ETERIČNOG ULJA SMILJA (*Helichrysum italicum*) U ODNOSU NA RAZVOJNU FAZU* ..... 383
- Dalibor Tomić, Vladeta Stevović, Dragan Đurović, Miloš Marijanović, Jasmina Knežević, Milomirka Madić: GAJENJE LUPINE I SOJE NA KISELOM ZEMLJIŠTU* ..... 389
- Dušan Radivojević, Biljana Veljković, Ranko Koprivica, Zoran Mileusnić: ANALIZA STANJA POLJOPRIVREDNIH OBJEKATA U REPUBLICI SRBIJI* ..... 395
- Vera Rajčić, Dragan Terzić, Vesna Perišić, Vladimir Perišić, Kristina Luković, Marijana Dugalić, Milomirka Madić: UTICAJ KLIMATSKIH PROMENA NA PRINOS JEČMA* ..... 401

<i>Jelena Nikolić, Violeta Mitić, Marija Dimitrijević, Gordana Stojanović, Vesna Stankov Jovanović: ANTIOKSIDATIVNE KARAKTERISTIKE BESEMENE LUBENICE Citrullus lanatus</i> Gipsi F1 .....	407
<i>Milomirka Madić, Milan Biberdžić, Dragan Đurović, Aleksandar Paunović, Desimir Knežević, Vladeta Stevović, Dalibor Tomić, Vera Rajičić: PRINOS ZRNA SORTI TRITIKALEA U ZAVISNOSTI OD MINERALNE ISHRANE</i> .....	413
<i>Evgenia P. Klyuchka, Alexander D. Lukyanov, Danila Yu. Donskoy, Marko Petković: DIGITAL ROENTGENOGRAPHY IS AN INNOVATIVE METHOD OF ASSESSING SEED QUALITY</i> .....	421

### Sekcija: Prehrambena tehnologija

<i>Jelena Pantović, Saša Despotović, Viktor Nedović, Miomir Nikšić: PROIZVODNJA PIVA I JAKIH ALKOHOLNIH PIĆA SA DODATKOM PLODONOSNOG TELA GLJIVA Coriolus versicolor i Ganoderma lucidum</i> .....	429
<i>Nikolina Lisov, Ivana Plavšić, Valerija Madžgalj, Danijela Petrović, Aleksandar Petrović, Ljiljana Gojković-Bukarica: UTICAJ DUŽINE MACERACIJE CV. CABERNET SAUVIGNON NA FENOLNI SASTAV I ANTIOKSIDATIVNI POTENCIJAL VINA</i> .....	437
<i>Jelena S. Katanić Stanković, Sanja Matić, Nikola Srećković, Snežana Stanić, Vladimir Mihailović: PRELIMINARNO ISPITIVANJE ANTIMIKROBNOG I ANTIGENOTOKSIČNOG POTENCIJALA EKSTRAKATA ČEŠNJAČE (Alliaria petiolata, Brassicaceae)</i> .....	443
<i>Milan Stanković, Nenad Zlatić, Zora Dajić Stevanović, Danijela Stešević: MALABAILA AUREA (SM.) BOISS. (APIACEAE): PRELIMINARNI SKRINING ANTIOKSIDATIVNE AKTIVNOSTI</i> .....	451
<i>Nevena Petrović, Mirjana Grujović, Katarina Mladenović, Marijana Kosanić: ANTIMICROBIAL POTENTIAL OF LACTARIUS VOLEMUS, EDIBLE MUSHROOM</i> .....	457
<i>Katarina G. Mladenović, Mirjana Ž. Grujović, Nevena N. Petrović, Marijana M. Kosanić, Ljiljana R. Čomić: ALLIUM URSINUM SOS (ORIGINALNI PROIZVOD): MIKROBIOLOŠKA ISPRAVNOST I ANTIMIKROBNA SVOJSTVA</i> .....	463
<i>Nedim Čučević, Marija Jokanović, Predrag Ikonić, Snežana Škaljac, Maja Ivić, Branislav Šojić, Vladimir Tomović: PROMENE FIZIČKOHEMIJSKIH KARAKTERISTIKA SJENIČKOG SUDŽUKA TOKOM LETNJE PROIZVODNJE U TRADICIONALNIM USLOVIMA</i> .....	471
<i>Igor Đurović, Marko Petković, Nemanja Miletić, Jovana Radovanović: ISPITIVANJE TOPLOTNIH SVOJSTAVA HLEBA SA VOĆNIM PRAHOM ARONIJE (ARONIA MELANOCARPA L.)</i> .....	479
<i>Slaviša Stajić, Dušan Živković: PROTEOLITIČKE PROMENE TOKOM PROIZVODNJE I SKLADIŠTENJA SUVIH FERMENTISANIH KOBASICA SA LANENIM ULJEM</i> .....	487

<i>Tomislav Trišović, Lidija Rafailović, Branimir Grgur, Svetomir Milojević, Branimir Jugović, Trišović Zaga: APARATURA ZA ODREĐIVANJE TEHNIČKIH KARAKTERISTIKA PUMPI I KOMPRESORA .....</i>	495
<i>Vladimir Kurćubić, Slavica Vesković: UPOTREBA BILJNIH EKSTRAKTA U KONZERVISANJU PROIZVODA OD MESA .....</i>	503
<i>Milan Mitić, Sonja Janković, Jelena Mašković, Aleksandra Marković, Violeta Ivanović, Pavle Mašković, Ivana Matović-Purić, Snežana Mitić: ANTOCIJANI KAO BIOHEMIJSKI MARKERI U VINU PROKUPAC .....</i>	509
<i>Goran Vučić, Ladislav Vasilišin, Zoran Kukrić: UTICAJ NAČINA EKSTRAKCIJE NA ODREĐIVANJE KOLIČINE KAPSAICINA U ZAČINSKOJ PAPRICI .....</i>	515
<i>Biljana Bojović, Milica Kanjevac, Jovana Momčilović, Dragana Jakovljević: EFEKAT PRETRETMANA KLIJANJA EKSTRAKTOM LISTA <i>Urtica dioica</i> L. NA PRODUKTIVNOST ODABRANIH GAJENIH BILJAKA .....</i>	523
<i>Biljana Bojović, Jovana Momčilović, Milica Kanjevac, Milan Stanković, Dragana Jakovljević: PROTEKTIVNI EFEKAT SALICILNE KISELINE NA RAZVIĆE <i>Triticum aestivum</i> L. U USLOVIMA STRESA IZAZVANOG SOLIMA .....</i>	529
<i>Dragana Stanisavljević, Svetlana Lakićević, Aleksandra Cvetković, Nemanja Ristić, Predrag Ilić: UTICAJ SADRŽAJA FENOLNIH JEDINJENJA NA KVALITET RAZLIČITIH VRSTA PIVA .....</i>	535
<i>Dušan Vasić, Dragana Paunović, Bojana Špirović Trifunović, Jelena Miladinović, Lazar Vujošević, Ilinka Pećinar, Jelena Popović-Đorđević: PRELIMINARY ASSESSMENT OF FATTY ACID PROFILE IN ROSEHIP SEEDS: APPLICATION OF ULTRASOUND-ASSISTED EXTRACTION .....</i>	543
<i>Nikola Srečković, Vladimir Mihailović, Jelena S. Katanić Stanković, Sanja Matić, Snežana Stanić: IN VITRO ANTIGENOTOKSIČNA AKTIVNOST ETANOLSKIH EKSTRAKATA KORENA BILJKE <i>Salvia verticillata</i> L. DOBIJENIH RAZLIČITIM METODAMA EKSTRAKCIJE .....</i>	549
<i>Mirjana Ž. Grujović, Katarina G. Mladenović, Nevena N. Petrović, Marijana M. Kosanić, Ljiljana R. Čomić: EVALUACIJA ANTIMIKROBNE AKTIVNOSTI KANTARIONOVOG ULJA POREKLOM SA PLANINE GOČ (SRBIJA) .....</i>	557
<i>Marko Petković, Igor Đurović, Nemanja Miletić, Alexander D. Lukyanov, Evgenia P. Klyuchka, Jovana Radovanović, Danila Y. Donskoy: MODEL OF CONVECTIVE DRYING OF BLACK CHOKEBERRY (<i>ARONIA MELANOCARPA</i> L.) .....</i>	563
<i>Sabina Šaćirović, Nedeljko Manojlović, Mališa Antić, Zoran Marković: HPLC ANALIZA VINA VINARIJE MILETIĆ: CABERNET SAUVIGNON, MERLOT I FRANKOVKA .....</i>	571
<i>Nikola Srečković, Vladimir Mihailović, Sanja Matić, Nevena Mihailović, Jelena S. Katanić Stanković, Milan S. Stanković, Snežana Stanić: PROTEKTIVNI EFEKAT EKSTRAKATA BILJKE <i>Pulmonaria officinalis</i> L. NA OKSIDATIVNO OŠTEĆENJE DNK U IN VITRO USLOVIMA .....</i>	579

<i>Jelena Mladenović, Jelena Sarić, Milena Đurić, Ljiljana Bošković-Rakočević, Nenad Pavlović, Jasmina Zdravković: KORELACIJA SADRŽAJA BIOAKTIVNIH KOMPONENATA I VRSTE EKSTRAKATA U LISTU CRVENOG KUPUSA .....</i>	587
<i>Jelena Mladenović, Jovana Simić, Milena Đurić, Ljiljana Bošković-Rakočević, Nenad Pavlović, Jasmina Zdravković: ODREĐIVANJE SADRŽAJA VITAMINA C U RAZLIČITIM EKSTRAKTIMA BILJNE VRSTE <i>ALCHEMILLA VULGARIS</i> L. ....</i>	593
<i>Vladislava Nebrigić, Milena Vujanović, Gokhan Zengin, Pavle Mašković, Marija Radojković: UTICAJ SUŠENJA NA BIOLOŠKU AKTIVNOST EKSTRAKATA SMILJA (<i>HELICHRYSUM ITALICUM</i> (ROTH) G. DON) .....</i>	601
<i>Marija Milošević, Miloš Matić, Milica Paunović, Pavle Mašković, Branka Ognjanović: HEPATOTOKSIČNI I HEMATOTOKSIČNI EFEKTI IMIDAKLOPRIDA KOD MUŽJAKA I ŽENKI PACOVA WISTAR ALBINO .....</i>	609



## MOGUĆNOST UTICAJA NA GLUTEN INDEKS IZBOROM SORTI I REGIONA GAJENJA PŠENICE

*Jasmina Knežević<sup>1</sup>, Andrej Šekularac<sup>1</sup>, Desimir Knežević<sup>1</sup>, Ljubiša Živanović<sup>2</sup>, Dalibor Tomić<sup>3</sup>, Nebojša Gudžić<sup>1</sup>, Snežana Tošković<sup>4</sup>, Dragoslav Đokić<sup>5</sup>*

**Izvod:** U ovom radu je na osnovu vrednosti gluten indeksa i mogućnosti predviđanja kvaliteta finalnih proizvoda, izučavan kvalitet hleba pšenice, pod uticajem sorti i lokaliteta gajenja, odnosno agroekoloških uslova koji su pratili lokalitete tokom trajanja eksperimenta. Ispitivane sorte: Simonida, NS-40-S, Rapsodija, Pobeda i Zvezdana, kao faktor su imale značajan uticaj na gluten indeks. Na drugoj strani region, odnosno agroekološki uslovi u kojima se odvijala proizvodnja pšenice u pojedinim regionima nije pokazala značajnog uticaja. Takođe i interakcija sorta x region nije značano uticala na pokazatelj kvaliteta hleba (gluten indeksa).

**Ključne reči:** pšenica, sorte, agroekološki uslovi, kvalitet

### Uvod

Kvalitet pšenice je između ostalog determinisan fizičkim osobinama zrna, sadržajem i sastavom proteina i sadržajem skroba (Dowell i sar., 2008). Pri tome važan parameter, koji je istovremeni pokazatelj kvaliteta i kvantiteta proteina je gluten indeks (Gil i sar., 2011). U poslednje vreme gluten indeks je često korišćen parameter tehnološkog kvaliteta, obzirom da se u odnosu na farinografske i ekstenzografske pokazatelje, određuje brže i zahteva manju količinu brašna (Oikonomou i sar., 2015). Gluten indeks predstavlja procentima izražen deo ukupnog glutena zadržanog na situ nakon mašinskog ispiranja slanim rastvorom i naknadnog centrifugiranja (Bonfil i Posner, 2012). Gluten indeks (GI) je merilo snage glutena. Slab gluten ima vrednost GI <30%, normalan GI = 30–80% i jak gluten GI >80%, (Oikonomou i sar., 2015). Ćurić i sar. (2001) navode da je optimalna vrednost gluten indeksa između 75 i 90.

Cilj ovog istraživanja bio je utvrđivanje značaja uticaja genotipa i lokaliteta gajenja na vrednost gluten indeksa.

---

<sup>1</sup>Univerzitet u Prištini, Poljoprivredni fakultet, Kopaonička bb, Lešak, Srbija ([jasmina.kneska@gmail.com](mailto:jasmina.kneska@gmail.com));

<sup>2</sup>Univerzitet u Beogradu, Poljoprivredni fakultet, Nemanjina 6, Zemun;

<sup>3</sup>Univerzitet u Kragujevcu, Agronomski fakultet u Čačku, Cara Dušana 34, Čačak, Srbija;

<sup>4</sup>Visoka poljoprivredna škola strukovnih studija, Vojvode Putnika 56, Šabac, Srbija;

<sup>5</sup>Institut za krmno bilje, Globoder, Srbija.

## Materijal i metode rada

Pet domaćih sorti ozime pšenice (Simonida, NS-40-S, Rapsodija, Pobeda, Zvezdana) je uzgajano na makro ogledu u tri lokaliteta (Novi Sad, Čačak, Sombor), tokom dve sezone (2011/2012 и 2012/2013). Žetva je u prvoj eksperimentalnoj godini izvršena 21.06. u lokalitetima Novi Sad i Sombor, a 26.06. u lokalitetu Čačak. U drugoj eksperimentalnoj godini, žetva je izvršena 02.07. u lokalitetima Novi Sad i Sombor, odnosno 03.07. u lokalitetu Čačak. Izučavan je uticaj genotipa i faktora spoljašnje sredine-lokalitet na parametar tehnološkog kvaliteta, gluten indeks, kao i mogućnost predviđanja kvaliteta finalnih proizvoda na osnovu vrednosti gluten indeksa.

Određivanje vrednosti gluten indeksa je vršeno metodom ICC *standard method* 155 (1996), sa modifikacijom-mašinskim ispiranjem glutena (*Theby*). Isprani gluten je pod standardizovanim uslovima propušten kroz sito centrifuge (2015, *Perten Instruments, Huddinge, Sweden*). Procentima izražen odnos mase vlažnog glutena koja se zadržala na situ i ukupne mase vlažnog glutena predstavlja gluten indeks. Zapremina hleba određena je računski, uz aproksimaciju da se vekna sastoji od zarubljene piramide i polovine elipsoida. Potrebne dimenzije izmerene su nonijusom. Statistička analiza rezultata izvršena je pomoću programa IBM SPSS Statistics 20.

## Rezultati istraživanja i diskusija

Najveću prosečnu vrednost gluten indeksa (96,5%) u sva tri lokaliteta i dve eksperimentalne godine imala je sorta NS-40-S, a najmanju (80,5%), sorta Zvezdana. Sorta NS-40-S je u prvoj eksperimentalnoj godini imala najveću vrednost parametra (98%) a sorta Zvezdana najmanju, 80%. Sorta Zvezdana je i u drugoj eksperimentalnoj godini imala najmanju vrednost gluten indeksa, (81%) dok su sorte NS-40-S i Rapsodija imale najveću vrednost, 95%, a u drugoj 89,6%, a ukupna prosečna vrednost parametra je iznosila 88,3%. Najmanje variranje parametra pokazala je sorta NS-40-S sa koeficijentom varijacije 2,52%, dok je sorta Simonida sa koeficijentom varijacije 14,39% pokazala najveće variranje (tabela 1.).

Tabela 1. Prosečne vrednosti gluten indeksa sorti i ukupne prosečne vrednosti u eksperimentalnim godinama, sortni koeficijent (cv) gluten indeks  
*Table 1. Average values of gluten index of varieties and total average values in experimental years, gluten index coefficient of variation (cv)*

Sorte <i>Varieties</i>	Godine/Year		Prosek sorte <i>Variety average</i>	Cv
	2012	2013		
Simonida	81,33	90	85,67	14,39
NS-40-S	98	95	96,5	2,52
Rapsodija	91,67	95	93,33	4,96
Pobeda	84	87	85,5	7,85
Zvezdana	80	81	80,5	14,14
Prosek godina <i>Year average</i>	87	89,6	88,3	8,77

Analizom varijanse je utvrđeno da su razlike prosečnih vrednosti između sorti statistički značajne, dok razlike prosečnih vrednosti parametra između dve eksperimentalne godine, kao i interakcija nemaju statističkog značaja (tabela 2).

Tabela 2. Analiza varijanse za parametar gluten indeks  
*Table 2. Variance analysis for gluten index parameter*

Uzroci variranja <i>Causes of variation</i>	SS	SK	F	0,05	0,01
Sorta (S) <i>Variety (V)</i>	4	252,283	3,131**	10,807	14,747
Godina (G) <i>Year (Y)</i>	1	50,7	0,629	6,84	9,326
SxG/VxY	4	26,783	0,322	15,286	20,851

Izostanak statistički značajnog uticaja faktora spoljašnje sredine (lokaliteta) na vrednost gluten indeksa u skladu je sa rezultatima na koje ukazuju Šimić i sar., (2006). Prema Hristov i sar. (2013) sorte NS-40-S, Rapsodija i Pobjeda u *Glu-D1* lokusu sadrže 5+10 podjedinicu glutenina velike molekulske mase, dok Zvezdana i Simonida sadrže podjedinicu 2+12. U našem istraživanju prosečna vrednost gluten indeksa sorti sa podjedinicom 5+10 iznosi 91,78%, značajno više u odnosu na 83,09%, koliko iznosi prosečna vrednost parametra sorti sa podjedinicom 2+12. Vrednosti koeficijenta varijacije (cv) pojedinih sorti prikazani u tabeli 1., jasno pokazuju da sorte sa manjom vrednošću gluten indeksa, tj. sorte sa slabijim glutenom, imaju veće koeficijente, što je u skladu sa rezultatima koje navode Vida i sar. (2013). Očiglednu negativnu zavisnost potvrđuje i koeficijent korelacije ( $r=-0,9$ ) između vrednosti cv i GI pojedinih sorti.

Više srednje dnevne temperature i manja ukupna količina padavina u periodu od početka fenofaze nalivanja zrna do žetve, zabeležene su tokom prve eksperimentalne godine. Prosečna količina padavina na tri lokaliteta u fenofazi nalivanja zrna je u prvoj eksperimentalnoj godini iznosila 23,2 mm, a u drugoj 93,2 mm, dok je istovremeno prosečna srednja temperatur tri lokaliteta u istom periodu, u prvoj godini bila 22,9°C, a u drugoj 20,2°C. Utvrđene su prosečne vrednosti indeksa temperaturnog stresa 26,33 u prvoj godini, odnosno 23,6 u drugoj. Ukupan broj dana sa temperaturama iznad 30°C tokom fenofaze nalivanja zrna u sva tri lokaliteta bio je 28 u prvoj eksperimentalnoj godini, dok je u drugoj godini, uprkos kasnije obavljenoj žetvi, ovaj broj bio manji, 23. Veći broj dana sa temperaturom iznad 30°C, kao i veća vrednost indeksa temperaturnog stresa u prvoj eksperimentalnoj godini delimično su uzrokovani i kasnijom žetvom u lokalitetu Čačak obzirom da je maksimalna dnevna temperatura svakog od pet dana kašnjenja žetve bila iznad 30°C. Kasnija žetva u drugoj eksperimentalnoj godini nije uticala na vrednost dva parametra obzirom da su maksimalne dnevne temperature u sva tri lokaliteta tokom dodatnog perioda bile ispod 30°C. Relativno hladno i kišovito vreme tokom poslednje dekade juna, druge eksperimentalne

godine je i uzrokovalo kasniju žetvu u odnosu na prvu eksperimentalnu godinu. Razlike navedenih faktora spoljašnje sredine manje su ako se posmatraju u širem vremenskom periodu, odnosno od početka cvetanja do žetve. Broj dana sa temperaturom iznad 30°C je 32 u prvoj prema 33 u drugoj eksperimentalnoj godini, indeks temperaturnog stresa 27,23 prema 28,2, srednja temperatura 19,5 prema 18,5, dok je prosečna količina padavina iznosila 94,6 mm u prvoj, odnosno 216,3 mm u drugoj eksperimentalnoj godini (tabela 3).

Tabela 3. Vrednosti gluten indeksa u pojedinim lokalitetima i eksperimentalnim godinama. Vrednosti faktora spoljašnje sredine u dva perioda (I - period od početka cvetanja do žetve; II - period od početka fenofaze nalivanja zrna do žetve).

Koeficijenti korelacije (r) između faktora spoljašnje sredine u dva perioda i gluten indeksa

Table 3. Gluten index values in individual localities and experimental years. Values of environmental factors in two periods (I - period from the beginning of flowering to harvest; I - period from the beginning of the grain filling phenophase to harvest). Correlation coefficients (r) between environmental factors in two periods and gluten index

Faktori spoljašnje sredine / Environmental factors									
Lokal/god Loc/yr	Broj dana sa temperaturama iznad 30°C Number of days with temperatures above 30°C		Indeks temperaturnog stresa Temperature stress index		Sednja temperatura vazduha 0°C Mean air temperature 0°C		Ukupna količina padavina u mm Total amount of precipitation in mm		Gluten indeks (%) Gluten index (%)
	I	II	I	II	I	II	I	II	-
NS/12	7	7	16,9	16,9	19,7	23	79,7	27,5	95,8
ČA/12	15	14	45,2	44,7	19,2	23,1	123,3	17,8	81,4
SO/12	10	7	19,6	17,4	19,5	22,6	80,8	24,3	83,8
Prosek/Average	-	-	27,23	26,33	19,5	22,9	94,6	23,2	87
Ukupno/Total	32	28	-	-	-	-	283,8	69,6	-
NS/13	10	7	25,8	22,1	18,5	20,2	243,8	125,7	86,4
ČA/13	11	7	27,8	22,8	18,8	20	219,5	96,1	94,4
SO/13	12	9	30,9	25,9	18,2	20,4	185,5	57,8	88
Prosek/Average	-	-	28,2	23,6	18,5	20,2	216,3	93,2	89,6
Ukupno/Total	33	23	-	-	-	-	648,8	279,6	-
r	-0,68	-0,61	-0,56	-0,58	0,09	-0,26	0,1	0,24	-

Rezultati našeg ispitivanja pokazuju slabu negativnu zavisnost vrednosti gluten indeksa i zapremine hleba i koeficijent korelacije  $r = -0,328$ . Više srednje dnevne temperature i manja ukupna količina padavina u period od početka fenofaze nalivanja zrna do žetve su zabeležene tokom prve eksperimentalne godine. Prosečna količina padavina u tri lokaliteta u fenofazi nalivanja zrna je u prvoj eksperimentalnoj godini iznosila 23,2 mm, a u drugoj 93,2 mm, dok je istovremeno prosečna srednja temperature tri lokaliteta u istom period u prvoj godini bila 22,9°C, a u drugoj 20,2°C. Utvrđene su prosečne vrednosti indeksa temperaturnog stresa 26,33 u prvoj godini, odnosno 23,6 u drugoj. Ukupan broj dana sa temperaturama iznad 30°C tokom fenofaze nalivanja zrna u sva tri

lokaliteta bio je 28 u prvoj eksperimentalnoj godini, dok je u drugoj godini, uprkos kasnije obavljenoj žetvi ovaj broj bio manji, 23. Veći broj dana sa temperaturom iznad 30°C, kao i veća vrednost indeksa temperaturnog stresa u prvoj eksperimentalnoj godini delimično su uzrokovani i kasnijom žetvom u lokalitetu Čačak obzirom da je maksimalna dnevna temperatura svakog od pet dana kašnjenja žetve bila iznad 30°C (tabela 3).

### Zaključak

Utvrđen je statistički značajan uticaj genotipa na vrednost parametra gluten indeks, dok uticaj spoljašnje sredine kao i interakcija nisu imale statistički značajnog uticaja. Sorte sa podjedinicom 2+12 imale su značajno nižu vrednost gluten indeksa u odnosu na sorte sa podjedinicom 5+10.

### Napomena

Istraživanja u ovom radu deo su TR 31092 „Izučavanje genetičke osnove poboljšanja prinosa i kvaliteta strnih žita u različitim ekološkim uslovima”, koji finansira Ministarstvo prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije.

### Literatura

- Bonfil D.J., Posner E.S. (2012): Can bread wheat quality be determined by gluten index *Journal of Cereal Science*, 56: 115-118.
- Čurić D., Karlović D., Tušak D., Petrović B., Đugum J. (2001): Gluten as a Standard of Wheat Flour Quality. *Food Technology and Biotechnology*, 39: 353-361.
- Dowell F.E., Maghirang E.B., Pierce R.O., Lockhart G.L., Bean S.R., Xie F., Caley M.S., Wilson J.D., Seabourn B.W., Ram M.S., Park S.H., Chung O. K. (2008): Relationship of Bread Quality to Kernel, Flour and Dough Properties. *Cereal Chem*, 85(1):82-91.
- Gil D.H., Bonfil D.J., Svoraya T. (2011): Multi scale analysis of the factors influencing wheat quality as determined by Gluten Index. *Field Crops Research*, 123:1-9.
- Hristov N., Mladenov N., Jocković B., Đurić V., Kondić-Špika A., Obreht D. (2013): High Molecular Weight (HMW) Glutenin Subunit Composition of NS Wheat Cultivars Released in 1987-2008. *Ratarstvo. Povrtarstvo*, 50: 29-36.
- Oikonomou N.A., Bakalis S., Rahman M.S., Krokida M.K. (2015): Gluten Index for Wheat Products: Main Variables in Affecting the Value and Nonlinear Regression Model. *International Journal of Food Properties*, 18: 1-11.
- Šimić G., Horvat D., Jurković Z., Drezner G., Novoselović D., Dvojković K. (2006): The genotype effect on the ratio of wet gluten content to total wheat grain protein. *Journal of Central European Agriculture*, 7: 13-18.
- Vida G., Szunics L., Veisz O., Bedő Z., Láng L., Árendás T., Bónis P., Rakszegi M. (2013): Effect of genotypic, meteorological and agronomic factors on the gluten index of winter durum wheat. *Euphytica*, 197: 61-71.

## POSSIBILITY OF INFLUENCE ON GLUTEN INDEX BY SELECTION OF WHEAT VARIETIES AND GROWING REGIONS

*Jasmina Knežević<sup>1</sup>, Andrej Šekularac<sup>1</sup>, Desimir Knežević<sup>1</sup>, Ljubiša Živanović<sup>2</sup>, Dalibor Tomić<sup>3</sup>, Nebojša Gudžić<sup>1</sup>, Snežana Tošković<sup>4</sup>, Dragoslav Đokić<sup>5</sup>*

### Abstract

In this paper, through the gluten index and the possibility of predicting the quality of final products based on the gluten index values, the quality of wheat bread was studied, under the influence of varieties and cultivation locality i.e. agroecological conditions accompanying the localities during the experiment. The varieties tested: Simonida, NS-40-S, Rapsodija, Pobeda, Zvezdana had a significant influence on the gluten index. On the other hand, the region, i.e. the agro-ecological conditions under which wheat production took place in certain regions, did not show any significant impact. Further, the varieties x region interaction did not significantly affect the indicator of bread quality (gluten index).

**Key words:** wheat, varieties, agroecological conditions, quality

---

<sup>1</sup>Univerzitet u Prištini, Poljoprivredni fakultet, Kopaonička bb, Lešak, Srbija ([jasmina.kneska@gmail.com](mailto:jasmina.kneska@gmail.com));

<sup>2</sup>Univerzitet u Beogradu, Poljoprivredni fakultet, Nemanjina 6, Zemun;

<sup>3</sup>Univerzitet u Kragujevcu, Agronomski fakultet u Čačku, Cara Dušana 34, Čačak, Srbija;

<sup>4</sup>Visoka poljoprivredna škola strukovnih studija, Vojvode Putnika 56, Šabac, Srbija;

<sup>5</sup>Institut za krmno bilje, Globoder, Srbija.

## ISPITIVANJE PLODNOSTI ZEMLJIŠTA NA TERITORIJI OPŠTINE KRUŠEVAC – LOKACIJA VELIKI ŠILJEGOVAC

*Jordan Marković<sup>1</sup>, Snežana Anđelković<sup>1</sup>, Tanja Vasić<sup>2</sup>, Dragoslav Đokić<sup>1</sup>,  
Jasmina Milenković<sup>1</sup>, Filip Bekčić<sup>1</sup>, Olivera Stanojević Vasilov<sup>1</sup>*

**Izvod:** U ovom radu ukratko su prikazani rezultati rada naučnih radnika Instituta za krmno bilje Kruševac na projektu „Istraživanje plodnosti poljoprivrednog zemljišta i mogućnosti povećanja prinosa i kvaliteta kabele stočne hrane u cilju razvoja stočarstva na teritoriji grada Kruševca“ koji je realizovan u toku 2018. godine. U radu je prikazano ispitivanje odabranih parametara plodnosti zemljišta kao pokazatelja održivog upravljanja, a u cilju očuvanja zemljišta. Uvidom u izmerene vrednosti zaključeno je da je dominantno prisustvo jako kiselih i kiselih zemljišta, a u pogledu količine humusnih materija dominiraju slabo humusna zemljišta.

**Ključne reči:** plodnost zemljišta, kiselost zemljišta, sadržaj humusa

### Uvod

Srbija se odlikuje značajnim prirodnim potencijalima za razvoj poljoprivrede, a posebno stočarstva kao najvažnije poljoprivredne grane. Naša zemlja, zahvaljujući geografskom položaju i reljefnim karakteristikama, obiluje mnoštvom tipova zemljišta koji su različiti, ne samo zbog geološke podloge, već i zbog različite nadmorske visine, načina korišćenja i klimatskih uslova. Svi navedeni uslovi utiču na mehanička, fizička i hemijska svojstva zemljišta, odnosno na njegovu plodnost i proizvodne sposobnosti (Nešić i sar., 2008; Vasin i sar., 2004; Hodžić i sar., 2004). Sa povećanjem nadmorske visine, proizvodne sposobnosti zemljišta se smanjuju, ne samo zbog smanjenje plodnosti, već i zbog nepovoljnijih vremenskih uslova, a posebno smanjene sume temperatura koja je posledica značajnog smanjenja dužine vegetacione sezone. Osnovni nedostaci zemljišta u Srbiji su povećana kiselost na preko 60% ukupnih površina, kao i nedovoljna obezbeđenost fosforom i humusom. To veoma često predstavlja ograničavajući faktor efikasnijem korišćenju zemljišta i uspešnom gajenju željenih biljnih vrsta. U zavisnosti od načina i intenziteta korišćenja, u zemljištu se odvijaju dinamični procesi koji vode promenama u strukturi, plodnosti, kiselosti, mikrobiološkoj aktivnosti. Neadekvatno i intenzivno iskorišćavanje zemljišnih resursa dovodi do toga da ovi procesi idu u nepovoljnom pravcu, što nameće potrebu veće brige o poljoprivrednom zemljištu u cilju njegove zaštite za buduće generacije (Kljajić i sar., 2012; Subić i sar., 2005).

<sup>1</sup>Institut za krmno bilje Kruševac, 37251 Globoder, Kruševac, Srbija ([jordan.markovic@ikbks.rs](mailto:jordan.markovic@ikbks.rs))

<sup>2</sup>Univerzitet u Nišu, Poljoprivredni fakultet Kruševac

S obzirom na činjenicu da je stočarstvo, posebno u brdskim područjima grada Kruševca najvažnija poljoprivredna delatnost, a da je uzročno-posledično povezano sa načinom i stepenom korišćenja zemljišta, to je neophodno pitanje razvoja stočarstva, korišćenja zemljišta i zaštite poljoprivrednog zemljišta rešavati istovremeno tako da bude ekonomski održivo i ekološki prihvatljivo. Stočarstvo kao grana poljoprivrede je direktno u zavisnosti od biljne proizvodnje, odnosno proizvodnje kukuruza, lucerke, crvene deteline, ostalog krmnog bilja i ispaše na livadama i pašnjacima, pa je samim tim struktura stočarske proizvodnje u direktnoj zavisnosti od zemljišnih i klimatskih uslova. Pored pozitivnog uticaja zemljišta na stočarsku proizvodnju postoji i pozitivan uticaj stočarstva na osobine zemljišta preko stajnjaka i osoke. Od samog kvaliteta gazdovanja zemljištem upravo i zavisi ekonomičnost stočarske poljoprivredne proizvodnje (Aksentijević i sar., 2017).

Obradivo zemljište u brdskim i planinskim područjima izloženo je jednobraznom načinu korišćenja, često bez poštovanja elementarnih principa zaštite zemljišta i primene plodoreda kao veoma bitne agrotehničke mere. Kao posledica takvog odnosa, neadekvatnog đubrenja i nedovoljne primene organskih đubriva dolazi do sekundarnog zakišeljavanja zemljišta, ali i do izraženih degradativnih procesa, kao što je na primer erozija. Cilj ovih istraživanja je bio ispitivanje plodnosti i proizvodnih sposobnosti poljoprivrednog zemljišta na stočarskim farmama na teritoriji grada Kruševca – lokacija Veliki Šiljegovac.

### **Materijal i metode rada**

U toku realizacije postavljenih ciljeva izvršena su istraživanja na stočarskim farmama u brdsko-planinskom području Opštine Kruševac – lokacija Veliki Šiljegovac. Na ovoj lokaciji je izabrano 10 stočarskih farmi i sa svake je uzeto po 3 uzorka zemljišta. Uzorci zemljišta su prikupljeni pomoću agrohemijske sonde sa dubine od 0 do 30 cm. Jedan reprezentativni uzorak predstavlja 10-15 pojedinačnih uzoraka, zavisno od veličine ispitivane parcele. Prikupljeni uzorci su vazdušno sušeni i samleveni mlinom za zemljište do veličine čestice < 2 mm.

Na prikupljenim uzorcima zemljišta određeni su parametri plodnosti zemljišta:

- Aktivna kiselost u H<sub>2</sub>O i supstituciona kiselost u 1M KCl – potenciometrijski
- Sadržaj karbonata u zemljištu – volumetrijski na Scheibler-ovom kalcimetru
- Sadržaj humusa – volumetrijski metodom po Tjurin-u
- Sadržaj ukupnog azota – metodom po Kjeldahl-u
- Lakopristupačni fosfor (mg P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>/100 g zemlje) - prema Al-metodi po Egner Riehm-u, spektrofotometrijski
- Lakopristupačni kalijum (mg K<sub>2</sub>O/100 g zemlje) - prema Al-metodi po Egner Riehm-u na AAS, Perkin Elmer 1100 B, emisijom u plamenu (Pantović i sar., 1989).



Statističkom obradom podataka određena je srednja vrednost ( $\bar{X}$  sr) za svaki ispitivani parametar, maksimalna vrednost ( $X_{max}$ ), minimalna vrednost ( $X_{min}$ ) i standardna devijacija (SD).

## Rezultati istraživanja i diskusija

Zemljište je ograničeno i uništivo dobro. Sporo se obrazuje, a u procesu degradacije brzo uništava. Zato je potrebno zaštititi naša najbolja zemljišta, a to se postiže samo sistematskom kontrolom plodnosti zemljišta, tj. stalnim monitoringom kvaliteta zemljišta. Dobijeni rezultati ispitivanja plodnosti zemljišta prikazani su u Tabeli 1.

Vrednosti aktivne kiselosti zemljišta, pH u  $H_2O$  za sve analizirane uzorke kreću se u rasponu od 4,69 do 7,30, a srednja vrednost iznosi 5,428. Najveći broj uzoraka, čak 63,33% ima pH vrednost u vodi manju od 4,5, što ukazuje na izuzetno kiselu reakciju zemljišta. Rezultati ispitivanja supstitucione kiselosti potvrđuju poznatu činjenicu da u Srbiji dominiraju zemljišta kisele reakcije. Od ukupnog broja ispitivanih uzoraka oni sa jako kiselim reakcijom (pH <4,5) zastupljeni su sa 63,33%, kiselim (pH = 4,5-5,5) sa 23,33%, slabo kiselim (pH = 5,5-6,5) sa 10%, dok neutralnu i slabo kiselu reakciju pokazuje samo 1 uzorak. Velika kiselost zemljišta može nastati, pre svega usled nedostatka kalcijumovih jona u matičnom supstratu na kome su nastala pomenuta zemljišta, usled jako velike količine vodenih taloga zbog čega dolazi do intenzivnog ispiranja kalcijuma, ali i preterane upotrebe fiziološki kiselih đubriva u uslovima intenzivne poljoprivrede. Zemljišta ovakve kiselosti nisu pogodna za većinu poljoprivrednih kultura. Zbog ovakvog stanja javlja se problem dostupnosti pojedinih hranljivih elemenata, a pre svih fosfora.

Na osnovu dobijenih rezultata za sadržaj ukupnog azota može se reći da su sva ispitivana zemljišta dobro obezbeđena ovim hranljivim elementom. Sadržaj ukupnog azota za sve analizirane uzorke kreće se u rasponu od 0,099 do 0,263%, a srednja vrednost iznosi 0,167%. Najveći broj uzoraka, 83,34% ima sadržaj azota do 0,200%, tj. na nivou srednje obezbeđenosti, dok je sadržaj azota na nivou dobre obezbeđenosti prisutan kod 16,66% uzoraka. Racionalnom primenom mineralnih đubriva može se smanjiti razlika između zemljišta različite produktivnosti, pa se slični prinosi poljoprivrednih kultura mogu dobiti kako na zemljištima male, tako i na zemljištima veće prirodne plodnosti (Ivović i sar., 1978).

Za razliku od ukupnog azota, obezbeđenost zemljišta lakopristupačnim fosforom je veoma različita. Od ukupnog broja analiziranih uzoraka zemljišta 56,66% pokazuje srednju obezbeđenost lakopristupačnim fosforom na nivou 10-20 mg  $P_2O_5$  / 100 g zemlje. Međutim, jedan broj uzoraka – 10% ima sadržaj lakopristupačnog fosfora na nivou < 5 mg  $P_2O_5$  / 100 g zemlje, što ukazuje na veoma nizak nivo obezbeđenosti. S druge strane, visoku i veoma visoku obezbeđenost pokazuje 26,66% uzoraka. Vrlo nizak i nizak nivo fosfora u zemljištu je ograničavajući faktor uspešne biljne proizvodnje i zadovoljavajućih prinosa. Nizak nivo lakopristupačnog fosfora je u direktnoj vezi i sa kiselošću zemljišta, jer

u uslovima ekstremno kiselih i kiselih zemljišta prelazi u teže pristupačne oblike i biljke ga nemogu usvajati (Subić i sar., 2005).

Tabela 1. Parametri plodnosti zemljišta  
*Table 1. Parameteres of land fertility*

Uzorak <i>Sample</i>	pH (H <sub>2</sub> O)	pH (KCl)	N, %	P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> ,mg/100g	K <sub>2</sub> O,mg/100g	Humus, %	CO <sub>3</sub> <sup>2-</sup> , %
1	4,93	3,87	0,147	11,80	29,33	2,74	0,40
2	4,98	3,89	0,147	12,50	27,38	4,15	0,00
3	7,30	6,73	0,099	20,20	12,62	2,01	2,40
4	5,08	4,23	0,154	11,30	21,94	2,69	0,40
5	4,98	3,94	0,099	10,60	12,36	1,99	0,80
6	6,04	5,24	0,212	38,00	41,16	3,94	0,40
7	5,54	4,82	0,205	38,80	36,67	4,12	0,80
8	4,80	3,97	0,138	12,50	22,13	2,98	0,00
9	5,38	4,46	0,173	11,80	21,58	3,17	0,80
10	5,48	4,41	0,183	12,70	13,97	2,88	0,00
11	5,10	3,92	0,197	13,00	28,34	4,25	0,80
12	5,79	5,03	0,196	14,50	40,18	3,63	0,40
13	5,38	4,20	0,171	32,00	22,25	2,59	0,00
14	5,45	4,22	0,183	31,90	20,06	2,34	0,80
15	5,14	4,09	0,176	34,90	15,12	2,16	0,80
16	5,50	4,59	0,219	18,10	20,64	2,53	0,40
17	5,10	4,93	0,105	18,80	15,34	2,23	0,00
18	4,91	4,03	0,214	15,00	9,12	2,27	0,00
19	5,07	4,30	0,183	10,40	33,34	3,40	0,40
20	4,90	3,75	0,148	11,00	13,15	2,53	0,40
21	4,70	3,77	0,162	12,20	22,06	3,38	0,40
22	6,26	5,37	0,128	24,60	27,86	2,50	0,40
23	4,69	3,67	0,109	7,10	9,34	2,41	0,00
24	4,75	3,75	0,141	10,00	18,38	2,93	0,00
25	5,13	4,05	0,161	3,00	13,37	2,28	0,00
26	5,48	4,61	0,188	3,20	15,74	2,33	0,00
27	5,61	4,44	0,167	3,20	15,05	2,31	0,00
28	6,39	5,61	0,263	33,90	59,35	5,27	0,80
29	6,47	5,59	0,150	12,70	16,30	2,93	0,80
30	6,50	5,75	0,197	15,00	132,24	4,28	0,80
<b>X sr</b>	<b>5,428</b>	<b>4,507</b>	<b>0,167</b>	<b>16,823</b>	<b>26,210</b>	<b>2,974</b>	<b>0,440</b>
<b>Xmax</b>	<b>7,300</b>	<b>6,730</b>	<b>0,263</b>	<b>38,800</b>	<b>132,240</b>	<b>5,270</b>	<b>2,400</b>
<b>Xmin</b>	<b>4,690</b>	<b>3,670</b>	<b>0,099</b>	<b>3,000</b>	<b>9,120</b>	<b>1,990</b>	<b>0,000</b>
<b>SD</b>	<b>0,635</b>	<b>0,737</b>	<b>0,038</b>	<b>10,340</b>	<b>22,870</b>	<b>0,822</b>	<b>0,496</b>

Sadržaj lakopristupačnog kalijuma u uzorkovanim zemljištima je takođe dosta različit i kreće se u rasponu od veoma niskog do vrlo visokog. Na osnovu dobijenih rezultata može se reći da je veći broj uzorkovanih zemljišta srednje do veoma visoko obezbeđen ovim hranljivim elementom. Svega 6,66% ispitivanih uzoraka zemljišta

pokazuje nisku obezbeđenost lakopristupačnim kalijumom, dok 20% uzoraka pokazuje visok nivo lakopristupačnog kalijuma.

Dugotrajnom upotrebom isključivo đubriva tipa DAP i MAP može se narušiti ravnoteža hraniva u zemljištu, odnosno da se sadržaj fosfora poveća do prekomernih granica, kada njegovo dalje dodavanje ne bi rezultiralo povećanjem prinosa. Isto tako, ne bi bilo dobro da se smanji sadržaj kalijuma do nivoa da ovaj element postane limitirajući faktor za ostvarenje visoke i stabilne proizvodnje. Zbog toga je potrebno đubrenje prilagoditi gajenoj kulturi, ostvarenim prinosima i vršiti ga na osnovu preporuke stručnih lica.

Na osnovu dobijenih rezultata o sadržaju humusa može se konstatovati da većina analiziranih uzoraka zemljišta – 66,66% spada u klasu slabohumusnih zemljišta, ali da bi se sprečilo njegovo dalje smanjivanje potrebno je zaoravati žetvene ostatke, a na slabo humusnim zemljištima preporučljivo bi bilo i đubrenje organskim đubrivima. Dželetović i sar. (2018) takođe ukazuju da je zemljišna organska materija u direktnoj vezi sa količinom biljnih ostataka unetih u zemljište.

Skoro svi ispitivani uzorci zemljišta su imali sadržaj karbonata manji od 1%, što ukazuje na veoma slabu obezbeđenost karbonatima. Kada je u pitanju obezbeđenost karbonatima, ovakvo stanje je i očekivano, jer je veći deo uzoraka zemljišta jako kisele i kisele hemijske reakcije.

### **Zaključak**

Osnovne hemijske osobine zemljišta – supstituciona kiselost, sadržaj azota, karbonata, humusa i lakopristupačnih formi fosfora i kalijuma predstavljaju najvažnije parametre plodnosti zemljišta. Ako se posmatraju osnovni parametri plodnosti zajedno sa ispitivanim uzorcima zemljišta, može se konstatovati da oko 40% uzoraka zemljišta ima relativno povoljnu plodnost, dok ostali deo ima određena ograničenja vezana, pre svega, za jako kiselu reakciju zemljišta i veoma slabu snabdevenost fosforom, a veliki broj uzoraka se odlikuje i nedeovoljnom količinom humusa.

### **Napomena**

Ova istraživanja je finansiralo Ministarstvo poljoprivrede i zaštite životne sredine i Ministarstvo prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije.

### **Literatura**

- Aksentijević, M. S., Kiurski, S. J., Šarenac, M. T. (2017): Plodnost zemljišta – uslov za održivi razvoj. Ekonomija, teorija I praksa, 4, 1-16.
- Dželetović, Ž. S., Mihailović, N. Lj., Čučulović, A. A., Andrejić, G. Z., Prica, M. Ž. (2018): Stanje plodnosti u zemljištima u neposrednoj blizini objekata termoelektrane “Kolubara”. Zbornik naučnih radova Instituta PKB Agroekonomik, 24, 169-177.

- Hodžić, V., Nešić, Lj., Sekulić, P., Ubović, M., Bogdanović, D., Dozet, D., Belić, M., Govedarica, M., Dragović, S., Verešbaranji, I. (2004): Kontrola plodnosti zemljišta i utvrđivanje sadržaja štetnih i opasnih materija u zemljištima Vojvodine. Zbornik radova Institut za ratarstvo i povrtarstvo, 40, 57-64.
- Ivović, P., Tatić-Kovačević, R., Marković, N., Popović, Ž., Stevanović, D., Janković, M., Pantović, M., Martinović, Lj. (1978): Rezultati višegodišnjih oglada sa mineralnim đubrivima na nekim zemljištima Srbije. Institut za zemljište, Beograd, 112.
- Kljajić, N., Arsić, S., Mijajlović, N. (2012): Zemljište kao ekološki faktor poljoprivredne proizvodnje. *Tranzicija*, 14 (829), 38-47.
- Nešić, Lj., Pucarević, M., Sekulić, P., Belić, M., Vasin, J., Ćirić, V. (2008): Osnovna hemijska svojstva u zemljištima Srema. Zbornik radova Institut za ratarstvo i povrtarstvo, 45, 255-263.
- Pantović, M., Džamić, R., Petrović, M., Jakovljević, M. (1989): Praktikum iz agrohemije. Naučna knjiga, Beograd.
- Subić, J., Popović, V., Vuković, P. (2005): Održivo korišćenje zemljišta u poljoprivredi. *Ekonomika*, 51 (5-6), 26-35.
- Vasin, J., Sekulić, P., Kurjački, I. (2004): Stanje plodnosti zemljišta Vojvodine. Zbornik radova Institut za ratarstvo i povrtarstvo, 40, 101-107.

## LAND FERTILITY TESTING ON THE TERRITORY OF KRUŠEVAC MUNICIPALITY – LOCATION VELIKI ŠILJEGOVAC

*Jordan Marković<sup>1</sup>, Snežana Anđelković<sup>1</sup>, Tanja Vasić<sup>2</sup>, Dragoslav Đokić<sup>1</sup>,  
Jasmina Milenković<sup>1</sup>, Filip Bekčić<sup>1</sup>, Olivera Stanojević Vasilov<sup>1</sup>*

### Abstract

This paper briefly presents the results of the scientific work of the Institute for Forage Crops Krusevac on the project "Investigation of the fertility of agricultural land and the possibility of increasing yield and quality of cattle fodder for the development of animal husbandry in the territory of the city of Krusevac", which was realized during 2018. The paper presents an examination of selected soil fertility parameters as indicators of sustainable management for the purpose of soil preservation. Insights into the measured values, it was concluded that the presence of strongly acidic and acidic soils is dominant, and in terms of the amount of humus matter, the low humus soils dominated.

**Key words:** soil fertility, soil acidity, humus content

---

<sup>1</sup>Institute for forage crops Krusevac, 37251 Globoder, Krusevac, Srbija ([jordan.markovic@ikbks.rs](mailto:jordan.markovic@ikbks.rs))

<sup>2</sup>University of Niš, Faculty of agriculture Krusevac

## UTICAJ RAZLIČITIH PARTIJA NATURALNOG SEMENA LUCERKE (*Medicago sativa* L.) NA PROCES ČIŠĆENJA

*Dragoslav Đokić<sup>1</sup>, Rade Stanisavljević<sup>2</sup>, Jasmina Milenković<sup>1</sup>, Snažana Anđelković<sup>1</sup>, Dragan Terzić<sup>3</sup>, Saša Barać<sup>4</sup>, Jasmina Knežević<sup>4</sup>*

**Izvod:** U radu su prikazani rezultati ispitivanja pri doradi pet različitih partija naturalnog semena lucerke (*Medicago sativa* L.) na mašinama za doradu. Značaj lucerke se ogleda u proizvodnji kvalitetne proteinske stočne hrane. Dovoljne količine kvalitetnih kabastih hraniva se mogu dobiti kvalitetnom setvom. Setvu je potrebno obaviti kvalitetnim semenom, visokog genetskog potencijala, čistoće i klijavosti. Doradom se iz naturalnog semena dobijenog u procesu žetve odstranjuju semena drugih kultura, korovi, primese i izdvaja čisto seme osnovne kulture. U istraživanju su određeni svi relevantni parametri važni za mašine za doradu. Rezultati ispitivanja omogućuju optimalno podešavanje mašina za doradu.

**Ključne reči:** partija, lucerka, seme, čišćenje

### Uvod

Lucerka (*Medicago sativa* L.) je najstarija i najrasprostranjenija leguminoza u Srbiji. Značajna je za proizvodnju kvalitetne stočne hrane jer je bogata proteinima, kao i vitaminima A i D, koji su neophodni za život, razvoj i produkciju životinja. (Očokoljić, 1974; Vučković, 1999).

Na mašinama za doradu iz naturalnog semena lucerke uklanjaju se semena drugih kultura, korovi, primese i izdvaja čisto seme osnovne kulture (Đokić, 2010). Fizičke osobine semena na osnovu kojih se obavlja dorada su: vlažnost, oblik i dimenzije semena, sferičnost, masa 1000 semenki, zapremina i poroznost semena, zapreminsko-hektolitarska masa, gustoća, statički i dinamički ugao unutrašnjeg trenja - ugao slobodnog pada, statički koeficijent trenja po površini (Babić i Babić, 2012; Black i sar., 2006; Copeland i sar., 2004; Milošević i sar., 1996; Ujević, 1988; Koprivica, 2018). Čišćenja semena na elektromagnetnim separatorima u odnosu na druge načine ima prednost jer je visok kvalitet čišćenja (Козлов, 2013). U usevu lucerke i crvene deteline naročito je štetno prisustvo semena karantinskog korova viline kosice (Konstantinović i sar., 2007; Kragić i sar., 2007).

Zakonom o semenu uređuju se uslovi i način proizvodnje, dorade, korišćenja, prometa, uvoza i ispitivanje kvaliteta semena poljoprivrednog semena (Glasnik Republike Srbije br. 45, 2005). Dorađeno seme lucerke ima čistoću semena od

<sup>1</sup>Institut za krmno bilje, 37251 Globoder-Kruševac, Srbija (dragoslav.djokic@ikbks.com);

<sup>2</sup>Institut za zaštitu bilja i životnu sredinu, Teodora Drajzera 9, 11000 Beograd, Srbija

<sup>3</sup>Univerzitet u Nišu, Poljoprivredni fakultet, Kosančićeva 4, 37000 Kruševac, Srbija

<sup>4</sup>Univerzitet u Prištini-Kosovska Mitrovica, Poljoprivredni fakultet u Lešku, Kopaonička bb, 38219 Lešak, Srbija

95%, do 2% semena drugih vrsta, 0,5% korova, 2,5% inertnih materija, minimalno 70% klijavosti i do 13% sadržaj vlage u zrnu (Službeni list SFRJ br.47, 1987).

Cilj ispitivanja je analiza procesa čišćenja pet različitih partija naturalnog semena lucerke i određivanje relevantnih parametara na mašinama za doradu. Na osnovu rezultata ispitivanja moguće je obaviti pravilno podešavanje mašina za doradu radi dobijanja što veće količine kvalitetnog semena.

### **Materijal i metode rada**

Ispitivanje procesa čišćenja obavljeno je u doradnom centru u Kruševcu na mašinama i uređajima danskih proizvođača Kongskilde i Damas koje čine: prijemni koš sa prijemnom trakom, kofičasti elevatori, trakasti transporteri, mašina za fino čišćenje tip-Alfa 4. Mašina za fino čišćenje ima dve lađe sa po šest sita raspoređena u dva nivoa. U gornjoj lađi u gornjem redu prečnici otvora sita bili su od: 2,75 mm; 2,5 mm i 2,25 mm, a u donjem redu gornje lađe 2,0 mm; 2,0 mm i 1,9 mm. U donjoj lađi u gornjem redu su sita sa uzdužnim otvorima širine: 1,3 mm; 1,2 mm; 1,1 mm, a u donjem redu sita sa širinom 0,6 mm; 0,5 mm i 0,5 mm. Odstranjivanje korova obavljeno je na trifolinu nemačkog proizvođača Emceka Gompper tip-4. Na trifolinu je korišćen čelični prah Nutra fine RS američkog proizvođača.

Analiza uzoraka urađena je lupom s osvetljenjem. Merenje mase uzoraka od 5 g i 50 g vršeno je na elektronskoj vagi. Količina naturalnog i doradenog semena merena je elektronskom vagom mernog opsega do 300 kg. Analizom uzoraka određeni su sledeći parametri: količina čistog semena (%), seme drugih vrsta (%), inertne materije (%), seme korova (%). Randman dorade (%) i gubici semena na opremi za doradu (%) određeni su računskim putem na kraju procesa dorade.

### **Rezultati istraživanja i diskusija**

Prosečne čistoće naturalnog semena pet partija lucerke prikazane su u tabeli 1. Najniže čistoća semena od 74,0% imale su partija I i IV, a najveću 89% seme partije II. Seme partije V bilo je čistoće 80%, dok je seme partije III bilo čistoće 81%. Od drugih vrsta u semenu partije I bilo je 0,4% semena crvene deteline i 0,5% kod semena partije III. Inertne materije u vidu zemlje, šturog semena i žetvenih ostataka kretale su se od 11% kod semena partije II do 26% kod semena partije IV. Kod semena lucerke partije I inertne materije iznosile su 25,6%. U naturalnom semenu partije III bilo je 18,5% inertnih materija i 20% kod partije V. U naturalnom semenu lucerke partije I pronađeno je 26 semena viline kosice u uzorku od 5 g. U semenu partije III u uzorku od 5 g izdvojeno je 20 semena viline kosice i 4 semena štavelja. Seme partije II nije imalo korove, dok je u semenu partije IV pronađen štir. Seme partije V u uzorku od 5 g imalo je 4 semena korova viline kosice, kao i sirak, kamilicu i palamidu.

Rezultati analize prosečne čistoće doradenog semena lucerke prikazani su u tabeli 2. Čistoća semena lucerke bila je od 96,8% kod semena partije I do 97,4% kod partija II i III. Prosečna čistoća semena partija IV i V bila je 97,2%. Od drugih

biljnih vrsta analizom je određeno 0,8% semena crvene deteline kod partije III i 1,6% kod semena partije I. Inertne materije u vidu šturog semena bile su od 1,5% kod semena partije III, 1,6% kod semena partija I i 2,6% kod partija II i IV. Kod semena partije V bilo je 2,8% inertnih materija. Kod semena partije I analizom je ustanovljeno 2 semena štavelja u uzorku od 50 g. Seme partije II nije imalo korove. Seme partije III imalo je 0,3% korova u vidu bokvice, muhara i sirka. U ovom semenu u uzorku od 50 g analizom je pronađeno 3 semena štavelja. U semenu partije IV bilo je 0,2% semena štira. Seme partije V je imalo semena štira i 2 semena trave u uzorku od 5 g i 3 semena štavelja u uzorku od 50 g.

Tabela 1. Prosečna čistoća naturalnog semena lucerke  
 Table 1. The average purity of alfalfa seeds

Struktura semena <i>Seed structure</i>	Partija/Lot				
	I	II	III	IV	V
Čisto seme (%) <i>Pure seed (%)</i>	74,0	89,0	81,0	74,0	80,0
Druge vrste (%) <i>Other species</i>	0,4 c. detelina <i>red clover</i>	-	0,5 c. detelina <i>red clover</i>	-	-
Inertne materije (%) <i>Inert matter (%)</i>	25,6	11,0	18,5	26,0	20,0
Korovi <i>Weeds</i>	u 5 g 26 semena kosice, <i>in 5 g 26 dodders</i>	-	u 5 g 20 semena kosica, 4 štavelja <i>in 5 g 20 dodder,</i> 4 curly dock <i>weeds</i>	štir <i>redroot pig weed</i>	u 5 g 4 semena kosice, sirak, kamilica, palamida <i>in 5 g 4 dodders,</i> <i>sorghum,</i> <i>chamomile,</i> <i>creeping thistle</i>
Ukupno (%) <i>Total (%)</i>	100	100	100	100	100

U tabeli 3 prikazana je količina naturalnog i doradenog semena svih partija lucerke, randman dorade i gubici na mašinama za doradu. Vrednosti randmana dorade i gubici na mašinama, izraženi su u procentima. Kod semena partije III randman dorade bio je 52,20%, a kod partije II 82,0%. Randman dorade bio je 65,17% kod semena partije V, 67,08% kod semena partije I i 70,66% kod semena partije IV. Najmanji gubici pri doradi semena lucerke na mašinama za doradu iznosili su 4,47% kod partije IV. Kod semena III partije gubici od 35,55% bili su najveći zbog prisustva semena karantinskih korova viline kosice i štavelja u

naturalnom semenu lucerke. Seme partije II imalo je 7,8% gubitaka. Gubici kod semena partije I bili su 9,34%, a kod semena partije V bili su 18,53%.

Tabela 2. Prosečna čistoća doradenog semena lucerke  
 Table 2. The average purity of processed alfalfa seeds

Struktura semena <i>Seed structure</i>	Partija/Lot				
	I	II	III	IV	V
Čisto seme (%) <i>Pure seed (%)</i>	96,8	97,4	97,4	97,2	97,2
Druge vrste (%) <i>Other species (%)</i>	1,6 c. detelina <i>red clover</i>	-	0,8 c. detelina <i>red clover</i>	-	-
Inertne materije (%) <i>Inert matter (%)</i>	1,6	2,6	1,5	2,6	2,8
Korovi <i>Weeds</i>	u 50 g 2 semena štavelja <i>in 50 g 2 curly dock seeds</i>	-	0,3% bokvica, muhar, sirak u 50 g 3 semena štavelja <i>plantain, barnyard grass, sorghum in 50 g 3 curly dock seeds</i>	0,2% štir <i>redroot pig weed</i>	štir u 5 g 2 semena trave, u 50 g 3 semena štavelja <i>redroot pig weed, in 5 g 2 grass seeds in 50 g 3 curly dock seeds</i>
Ukupno (%) <i>Total (%)</i>	100	100	100	100	100

Tabela 3. Količina doradenog semena lucerke, randman dorade i gubici na mašinama

Table 3. Amounts of processed alfalfa seeds, processing output and losses on equipment

Struktura semena <i>Seed structure</i>	Partija /Lot				
	I	II	III	IV	V
Naturalno seme (kg) <i>Natural seed (kg)</i>	3354,0	2420,0	1111,0	1118,0	1803,0
Dorađeno seme (kg) <i>Processed seed(kg)</i>	2250,0	1985,0	580,0	790,0	1175,0
Randman dorade (%) <i>Processing output (%)</i>	67,08	82,0	52,20	70,66	65,17
Gubici (%) <i>Losses (%)</i>	9,34	7,8	35,55	4,47	18,53



## Zaključak

Pri doradi naturalnog semena lucerke cilj dorade je dobijanje što veće količine kvalitetnog semena uz što manji utrošak vremena i energije za doradu. Razlika između količine naturalnog semena na početku procesa dorade i dobijene količine semena na kraju procesa dorade treba da bude što manja. Randman dorade partija semena lucerke kretao se od 52,20% do 82,0%. Najmanji gubici semena lucerke na mašinama za doradu bili su 4,47%, a najveći su iznosili 35,55%. Sadržaj semena viline kosice i štavelja u naturalnom semenu lucerke otežava process dorade i povećava gubitke, jer se ovi korovi veoma teško odvajaju na mašinama za doradu.

Za kvalitetno čišćenja semena, sa što manje gubitaka potrebno je primeniti odgovarajuće tehnike čišćenja. Rezultati ispitivanja omogućavaju pravilno podešavanje mašina za doradu, u zavisnosti od količine i vrste korova i primesa koje se nalaze u naturalnom semenu. Na osnovu dobijenih rezultata istraživanja, može se zaključiti da u procesu dorade naturalnog semena lucerke različitih partija količina doradenog semena zavisi od početne čistoće naturalnog semena, kao i od količine i vrste korova koji se u njima nalaze.

## Napomena

Istraživanje u ovom radu je rezultat projekta TR 31057 koje je finansiralo Ministarstvo prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije.

## Literatura

- Babić M., Babić, Lj. (2012). Sušenje i skladištenje. II izdanje. Univerzitet u Novom Sadu, Poljoprivredni fakultet, Novi Sad, 1-306.
- Black M., Bewley J., Halmer P. (2006). The Encyclopedia of Seeds Science, technology and uses. Wallingford, UK.
- Copeland L., McDonald M. (2004). Seed Drying. Seed Science and Technology, Norwell, Massachusetts, 268– 276.
- Đokić D. (2010). Primena različitih tehničko-tehnoloških sistema u doradi semena lucerke. Doktorska disertacija, Univerzitet u Beogradu. Poljoprivredni fakultet, Beograd. Glasnik Republike Srbije br. 45, (2005). Službeni glasnik Republike Srbije, Beograd.
- Karagić Đ., Katić S., Vasiljević S., Milić D. (2007). Semenarstvo lucerke u Vojvodini. Zbornik radova. XI simpozijum o krmnom bilju Republike Srbije sa međunarodnim učešćem, Vol. 44, 87-98. Novi Sad, Srbija, Institut za ratarstvo i povrtarstvo.
- Konstantinović B., Meseldžija M., Konstantinović B. (2007). Intenzivne i karantinske korovske vrste krmnog bilja i mogućnost njihovog suzbijanja. Zbornik radova. XI simpozijum o krmnom bilju Republike Srbije sa međunarodnim učešćem, Vol. 44, 325-332, Novi Sad. Srbija, Institut za ratarstvo i povrtarstvo.
- Koprivica R. (2018) Uticaj sorte i vremena berbe na osnovne fizičke i mehaničke osobine ploda i zrna uljane repice. Doktorska disertacija. Univerzitet u Kragujevcu, Agronomski fakultet u Čačku.

- Козлов В. (2013). Пневномагнитная сепарация. Совершенствование процесса сепарации мелкосеменных культур. LAP LAMBERT Academic Publishing, Saarbrücken, Deutschland.
- Milošević M., Marjanović J., Vujaković M., Polovina R., Pataki I. (1996). Vilina kosica u lucerki i mogućnost njenog uklanjanja iz semena. Zbornik radova. VIII jugoslovenski simpozijum o krmnom bilju sa međunarodnim učešćem, Vol. 26, 175-179. Novi Sad. Srbija, Institut za ratarstvo i povrtarstvo.
- Ocokoljić, S. (1975). Leptiraste biljke u ishrani stoke. Nolit, Beograd.
- Službeni list SFRJ br.47, (1987). Beograd.
- Ujević A. (1988). Tehnologija dorade i čuvanje sjemena. Zagreb: Fakultet poljoprivrednih znanosti Sveučilišta u Zagrebu, Institut za oplemenjivanje i proizvodnju bilja Zagreb.
- Vučković S. (1999). Krmno bilje. Beograd: Institut za istraživanje u poljoprivredi "Srbija", Nova Pazova "Bonart".

## THE INFLUENCE OF DIFFERENT SEED LOTS OF NATURAL ALFALFA (*Medicago sativa* L.) ON THE CLEANING PROCESS

*Dragoslav Đokić<sup>1</sup>, Rade Stanisavljević<sup>2</sup>, Jasmina, Milenković<sup>1</sup>, Dragan Terzić<sup>3</sup>,  
Snažana Anđelković<sup>1</sup>, Saša Barać<sup>4</sup>, Jasmina Knežević<sup>4</sup>*

### Abstract

The results of testing of five different seed lots of alfalfa (*Medicago sativa* L.) on seed processing machines are presented in this paper. The importance of alfalfa is reflected in the production of quality protein fodder. Sufficient quantities of high-quality biomass can be obtained by quality sowing. Sowing should be done with quality seeds, with high genetic potential, purity and germination. By seed processing, seeds of other crops are removed from the natural seed obtained during the harvest process (weeds, admixtures) and pure seeds of the basic crop are extracted. In this study all the relevant parameters important for processing machines were determined. Results of investigation allow optimal adjustment of the processing machines in the proces of obtaining quality seed for sow

**Key words:** seed lots, alfalfa, seeds, cleaning

---

<sup>1</sup>Institut za krmno bilje, 37251 Globoder-Kruševac, Srbija (dragoslav.djokic@ikbks.com);

<sup>2</sup>Institut za zaštitu bilja i životnu sredinu, Teodora Drajzera 9, 11000 Beograd, Srbija

<sup>3</sup>Univerzitet u Nišu, Poljoprivredni fakultet, Kosančićeva 4, 37000 Kruševac, Srbija

<sup>4</sup>Univerzitet u Prištini-Kosovska Mitrovica, Poljoprivredni fakultet u Lešku, Kopaonička bb, 38219 Lešak, Srbija

## VARIJABILNOST KVALITETA SIJENA CRVENE DJETELINE (*Trifolium pratense* L.) U BRDSKOM PODRUČJU GRADA BANJA LUKA

*Borislav Petković<sup>1</sup>, Novo Pržulj<sup>2,3</sup>, Vojo Radić<sup>2</sup>*

**Izvod:** Cilj ovih istraživanja je bio da se, u dvogodišnjem periodu (2010 i 2011) utvrdi varijabilnost kvaliteta sijena četiri sorte crvene djeteline (Kolubara, Viola, Nike i Start) i četiri linije crvene djeteline domaće selekcije (DS-1, DS-2, DS-3 i DS-4). Najveći prosječan sadržaj sirovih proteina 15,49% i sirovog pepela 9,77% su utvrđeni u prvom otkosu u prvoj godini istraživanja. Drugi otkos u drugoj godini je bio karakterističan po najmanjem prosječnom sadržaju sirovih proteina 14,25%, sirove masti 1,84% i sirovog pepela 8,14%. Sorta Nike se odlikovala najmanjim prosječnim sadržajem sirovih proteina. Linija DS-3 i sorta Viola su se pokazale najboljim po prosječnom sadržaju sirovih proteina.

**Ključne reči:** crvena djetelina, sijeno, kvalitet, hemijski sastav

### Uvod

Crvena djetelina je višegodišnja leguminoza značajna za proizvodnju stočne hrane. Uspješno se gaji u brdsko-planinskim područjima i to na: kiselim, siromašnim, plitkim, zemljištima iznad 250 m nadmorske visine i na zemljištima na kojima lucerka ne daje zadovoljavajuće rezultate (Osztoics i sar., 2005.). Proizvodnja kabaste stočne hrane na zemljištima lošeg hemijskog sastava i u brdsko-planinskim područjima se uglavnom obavlja gajenjem crvene i bijele djeteline, smiljkite i esperzete (Radović i sar., 2010.).

Prinos zelene mase se kreće od 40-50 t ha<sup>-1</sup>, a sijena 10-12 t ha<sup>-1</sup> (Vučković, 1999.). Krma crvene djeteline je dobrog kvaliteta s visokim sadržajem hranljivih elemenata, što pogoduje ishrani perživara, naročito goveda (Lee i sar., 2009.). U cilju postizanja maksimalnog prinosa hranljivih jedinica po jedinici površine, značajni rezultati su postignuti na određivanju tehnološke zrelosti krmnih leguminoza. Krmne leguminoze su genetički predodređene za bujan vegetativni razvoj, sukcesivno cvjetaju i sazrijevaju, što otežava određivanje faze porasta za košenje usjeva, odnosno tehnološku zrelost. Vrijeme košenja uslovljeno je namjenom iskorišćavanja zelena krma- sijeno, silaža, dehidracija, ispaša (Mihailović sar., 2008.). Dinić i sar. (2011) navode analizu kvaliteta kabaste stočne hrane na osnovu uzoraka uzetih sa farmi u Srbiji od nizinskog do planinskog

---

<sup>1</sup>Centar za razvoj poljoprivrede i sela, Vojvode Momčila 10-12, Banja Luka, Bosna i Hercegovina ([borislav.p1980@gmail.com](mailto:borislav.p1980@gmail.com))

<sup>2</sup>Univerzitet u Banjoj Luci, Poljoprivredni fakultet Banja Luka, Bulevar Vojvode Petra Bojovića 1A, Banja Luka, Bosna i Hercegovina

<sup>3</sup>Univerzitet u Istočnom Sarajevu, Poljoprivredni fakultet Istočno Sarajevo, Vuka Karadžića 30, Istočno Sarajevo, Bosna i Hercegovina

područja Rasinskog i Zaječarskog regiona. Autori ističu da je kvalitet sijena lucerke vrlo dobar sa sadržajem sirovih proteina 16,35%, što ga svrstava od prve do druge klase. Sijeno crvene djeteline je lošijeg kvaliteta druge i treće klase, sa sadržajem sirovih proteina 12,65%. Najlošiji kvalitet je utvrđen kod livadskog sijena koje je treće i četvrte klase sa sadržajem sirovih proteina 8,73%.

### Materijal i metode rada

Poljski ogled je postavljen na parceli Košarište u Dobrnji (na Manjači, n.v. 527 m, 44°39'57" s.g.š i 17°00'24" i.g.š., teritorija Grada Banja Luka). Istraživanja su trajala dvije godine: 2010. i 2011. Sjetva ogleđa je obavljena 13.05.2010. godine, po potpuno randomiziranom blok sistemu u četiri ponavljanja, sa četiri linije crvene djeteline domaće selekcije (DS-1, DS-2, DS-3 i DS-4) i četiri sorte crvene djeteline (Kolubara, Start, Nike i Viola). Sjetvena norma je iznosila 17 kg ha<sup>-1</sup>, sjetva je obavljena (ručno) na dubinu 1,5-2 cm. Razmak između redova je bio 20 cm. Za sjetvu je korišćeno sjeme linija crvene djeteline iz oplemenjivačkog programa Poljoprivrednog instituta Republike Srpske, dok je sjeme sorti Kolubara Viola, Nike i Start kupljeno u maloprodaji. Tokom istraživanja u 2010. godini ostvaren je jedan otkos (godina sjetve), a u 2011. godini dva otkosa (druga godina života crvene djeteline).

Zemljište je kisele reakcije (pH u KCL - 4,0), dobro obezbijeđeno humusom (5,2%), sadržaj fosfora je bio nizak (7,0 P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> u mg/100g), obezbijeđenost kalijumom je dobra (30,0 K<sub>2</sub>O u mg/100g). Prema podacima Hidrometeorološkog zavoda Republike Srpske, mjerne stanice u Banjoj Luci srednja mjesečna temperatura za period maj-oktobar mjesec u 2010. godini je bila 17,8 °C, dok je u 2011. godini za period mart-avgust mjesec iznosila 17,4 °C. Količina padavina za period maj-oktobar mjesec u 2010. godini je iznosila 815,7 mm/m<sup>2</sup>. Period mart-avgust mjesec u 2011. godini se odlikovao manjom količinom padavina, ukupna količina padavina je iznosila 293,1 mm/m<sup>2</sup>.

Hemijska analiza sijena tri otkosa crvene djeteline urađena je u Laboratoriji za kontrolu kvaliteta hrane za životinje na Poljoprivrednom fakultetu u Banjoj Luci, gdje su utvrđeni udjeli sljedećih parametara, izraženi na bazi apsolutno suve materije: suva masa (%), vlaga (%), sirovi proteini (%), sirove masti (%), sirova celuloza (%), sirovi pepeo (%) i bezazotne ekstraktivne materije (%). Kosidba zelene mase je vršena u fenološkoj fazi početak cvjetanja. Iz pokošene zelene mase uzimani su uzorci zelene mase od 1 kg, koji su odvagani na vagi Fisher radi utvrđivanja prinosa sijena. Uzorci za hemijsku analizu sijena pripremljeni su nakon utvrđivanja procentualnih odnosa lista i cvijeta : stabla - u suvom stanju, na način da je masa lista i stabla pomiješana i samljevena na mlinu. Hemijske analize sijena su odrađene po metodologiji: sirovi proteini, mikro-Kjeldahl metodom, modifikacija po Bermneru (1960), odnosno sirovih proteina množenjem s faktorom 6,25, sirove masti u biljnom materijalu, metodom po Soxhletu, sadržaj sirove celuloze, metodom po Henneberg-Stohmanov-u, sadržaj sirovog pepela, žarenjem na 550 ° C do konstantne mase. Sorta standard je bila Kolubara.

### Rezultati istraživanja i diskusija

Na osnovu prikazanih podataka o prosječnom hemijskom sastavu sijena linija i sorti crvene djeteline, za tri istaživana otkosa (Tabela 1 i 2), uočava se da su sadržaji suve mase i vlage na nivou koji omogućuje uspješno čuvanje i skladištenje sijena. Gatarić i sar. (2014.) ističu da je za uspješno skladištenje sijena nepohodno sniziti vlagu ispod 18%. Prvi otkos u prvoj godini je bio karakterističan po najmanjim sadržajima vlage i bezazotnih ekstraktivnih materija. Sijeno istog otkosa je imalo najveći prosječan sadržaj sirovih proteina i sirovog pepela (Tabela 1).

Sijeno drugog otkosa u drugoj godini je imalo najmanje prosječne sadržaje sirovih proteina, sirovih masti i sirovog pepela, a najveće prosječne sadržaje sirove celuloze i bezazotnih ekstraktivnih materija. Ako se uporede prvi i drugi otkos druge godine istraživanja vidi se da je veći prosječan sadržaj sirovih proteina dobijen u prvom otkosu u odnosu na drugi otkos u istoj godini (Tabela 1). Veći sadržaj sirovih proteina u suvoj materiji crvene djeteline kod sorte Kolubara u prvom otkosu u odnosu na drugi u istoj godini dobili su i Vasiljević i sar. (2001). Hemijskom analizom crvene djeteline Đukić i sar. (2007) su utvrdili da 1 kg suve materije crvene djeteline prosječno sadrži 19,56% sirovih proteina, 22,04% sirove celuloze i 44,08% bezazotnih ekstraktivnih materija.

Tabela 1. Prosječne vrijednosti (%) hemijskog sastava sijena crvene djeteline po otkosima u 2010. i 2011. godini

*Table 1. Average values (%) of chemical composition of red clover hay by crop in 2010. and 2011. year*

Otkos	Suva masa	Vlaga	Sirovi proteini	Sirova mast	Sirova celuloza	Sirovi pepeo	BEM
<i>Crop</i>	<i>Dry mass</i>	<i>Moisture</i>	<i>Raw protein</i>	<i>Raw fat</i>	<i>Raw fibre</i>	<i>Raw ash</i>	<i>Non nitrogenous extractives</i>
Prvi otkos 2010 <i>First crop 2010</i>	90,75	9,25	15,49	2,00	28,36	9,77	44,49
Prvi otkos 2011 <i>First crop 2011</i>	89,67	10,30	14,86	2,09	28,36	9,13	45,57
Drugi otkos 2011 <i>Second crop 2011</i>	90,48	9,52	14,25	1,84	29,20	8,14	46,59
Prosjek <i>Avagadre</i>	90,30	9,69	14,87	1,98	28,64	9,01	45,55
CV	0,62	5,63	4,17	6,41	1,69	9,11	2,31

Pregledom koeficijenata varijabilnosti (Tabela 1 i 2) vidi se da je najveća varijabilnost bila za sadržaj sirovog pepela, a najmanja za sadržaj suve mase.

Varijabilnost za bezazotne ekstraktivne matreije je bila najujednačenija, 2,31% za otkose i 2,29% za linije i sorte. Prosječan sadržaj sirovih proteina za sve linije i sorte, u tri otkosa, je iznosio 14,87%. Sorta Kolubara, koja je uzeta za standard, je imala prosječan sadržaj sirovih proteina 14,48% (Tabela 2). Veći prosječan sadržaj sirovih proteina od standarda utvrđen je kod linija DS-1 i DS-3 i sorti Viola i Start (Tabela 2). Pored najvećeg prosječnog sadržaja sirovih proteina, sotra Vilola je imala i najveći sadržaj sirovog pepela, a najmanji sirove celuloze i bezazotnih ekstraktivnih materija. Kod sorte Nike, koja je imala najveći prosječan sadržaj sirove celuloze, utvrđen je najmanji sadržaj sirovih proteina (Tabela 2).

U odnosu na dobijene rezultate u ovom radu, Gatarić i sar. (2010) su u sijenu crvene djeteline utvrdili veće prosječne vrijednosti ispitvanih parametara. Utvrđene prosječne vrijednosti su bile: vlaga 14,1%, pepeo 9,1%, proteini 17,4%, celuloza 35,3%, masti 3,7%. Hemijskom analizom suve materije crvene djeteline Dinić i sar. (2011) su utvrdili prosječan sadržaj sirovih proteina 12,65%, sirovih masti 1,74%, sirove celuloze 35,19%, sirovog pepela 8,26%, bezazotnih ekstraktivnih materija 42,82%. U odnosu na iznesene podatke Dinića i sar. (2011) u ovom radu su dobijeni veći prosječni sadržaji: sirovih proteina, masti, pepela i bezazotnih ekstraktivnih materija, a manji celuloze.

Tabela 2. Prosječne vrijednosti (%) hemijskog sastava sijena četiri sorte i četiri linije crvene djeteline u tri otkosa u 2010. i 2011. godini

Table 2. Average values (%) of chemical composition of hay of four varieties and four lines of red clover in three crops in 2010. and 2011. year

Genotip	Suva masa	Vlaga	Sirovi proteini	Sirova mast	Sirova celuloza	Sirovi pepeo	BEM
Genotype	Dry mass	Moisture	Raw protein	Raw fat	Raw fibre	Raw ash	Non-nitrogenous extractives
DS-1	90,28	9,71	14,97	1,95	28,96	8,81	45,33
DS-2	90,23	9,77	14,27	1,92	29,57	8,16	46,11
DS-3	90,23	9,77	15,29	1,93	28,04	8,37	46,37
DS-4	90,36	9,64	14,28	1,91	29,13	8,52	46,15
Nike	90,03	9,97	13,76	1,99	29,71	8,49	46,06
Viola	90,35	9,55	17,31	1,97	26,35	11,24	43,13
Kolubara	90,44	9,56	14,48	2,01	29,06	9,29	45,43
Start	90,48	9,52	14,59	2,12	28,29	9,23	45,81
Prosjek Avagadre	90,30	9,69	14,87	1,98	28,64	9,01	45,55
CV							
CV	0,16	1,56	7,33	3,44	3,79	10,92	2,29

U istraživanjima Leto i sar. (2004.) su, u brdskom području, dobili sadržaj proteina koji se kretao od 150,92 g kg<sup>-1</sup> kod sorte Marino do 161,55 g kg<sup>-1</sup> sotra Reishersberger. Sorta Viola je u nizinskom području imala najmanji sadržaj proteina 141,2 g kg<sup>-1</sup>, sorta Croatia se pokazala najboljom sa sadržajem proteina

164,5 g kg<sup>-1</sup>. Hemijskom analizom suve materije lucerke sorta Palava i crvene djeteline sotra Kvarta utvrđena je njihova hranljiva i energetska vrijednost. Sadržaj sirovih proteina kod lucerke je bio u intervalu od 145,5 do 217,2 g kg<sup>-1</sup>. Sadržaj sirovih proteina kod crvene djeteline se kretao u manjem intervalu od 174,4 do 218,8 g kg<sup>-1</sup> (Homolka i sar., 2012.).

### Zaključak

Sijeno prvog otkosa u prvoj godini je imalo najveći prosječan sadržaj sirovih proteina 15,49%. Sijeno prvog otkosa u drugoj godini je kvalitetnije od sijena dobijenog u drugom otkosu u istoj godini. Po sadržaju sirovih proteina u sijenu tokom ovih istraživanja linija DS-3 i sorta Viola su dale najbolje rezultate. Kod sotre Viola koja je imala najveći sadržaj sirovih proteina utvrđen je najmanji sadržaj sirove celuloze, dok je kod sorte Nike utvrđeno suprotno, najmanji sadržaj sirovih proteina a najveći sirove celuloze. Sadržaji sirove masti i bezazotnih ekstraktivnih materija su bili ujednačeni. Od sijena sa manjim sadržajem sirove celuloze i bezazotnih ekstraktivnih materija dobija veći sadržaj sirovih proteina.

### Literatura

- Dinić, B., Marković, J., Terzić, D., Lugić, Z., Štrbanović, R. (2011). Kvalitet kabaste stočne hrane na gazdinstvima u Srbiji. Zbornik radova XVI savetovanja o biotehnologiji sa međunarodnim učešćem, Čačak, Zbornik radova. 19-25.
- Đukić, D., Lugić, Z., Vasiljević, S., Radović, J., Katić, S., Stojanović, I. (2007). Domaće sorte višegodišnjih leguminoza - nastanak i kvantitativna svojstva. XI Simpozijum o krmnom bilju Republike Srbije sa međunarodnim učešćem, Novi Sad. Zbornik radova. 44: 7-19.
- Gatarić, Đ., Radić, V., Đurić, B., Kovačević, Z., Petković, B. (2010). Varijabilnost produktivnih osobina i kvaliteta krme genotipova crvene djetelie (*Trifolium pratense* L.). Agroznanje. 11 (3): 117-123.
- Gatarić, Đ., Drinić, M., Radić, V., Kralj, A. (2014). Proizvodnja na oranicama i hranljiva vrijednost krmnog bilja. Univerzitet u Istočnom Sarajevu.
- Homolka, P., Koukolova, V., Podsedniček, M., Hlavačkova, A. (2012). Nutritive value of red clover and Lucerne forages for ruminants estimated by in vitro and in vivo digestibility methods. Czech J. Anim. Sci. 57 (10): 454-468.
- Lee, M. R. F., Evans, P. R., Nute, G. R., Richardson, R. I., Scollan, N. D. (2009). A comparison between red clover silage and grass silage feeding on fatty acid composition, meat stability and sensory quality of the *M. Longissimus* muscle of dairy cull cows. Meat Science. 81: 738-744.
- Leto, J., Knežević, M., Bošnjak, K., Maćešić, D., Štafa, Z., Kozumplik, V. (2004). Yield and forage quality of red clover (*Trifolium pratense* L.) cultivars in the lowland and the mountain regions. Plant Soil Environ. 50 (9): 391-396.
- Mihailović, V., Katić, S., Čupina, B., Vasiljević, S., Karagić, Đ., Pataki, I., Mikić, A., Milić, D. (2008). Rezultati u oplemenjivanju, agrotehnici i semonarstvu krmnih

- biljaka u institutu za ratarstvo i povrtarstvo. Zbornik radova Instituta za ratarstvo i povrtarstvo, Novi Sad. Sveska 45: 81-101.
- Osztoics, E., Csathó, P., Németh, T., Baczó, Gy., Magyar, M., Radimsky, L., Osztoics, A. (2005). Influence of Phosphate Fertilizer Sources and Soil Properties on Trace Element Concentrations of Red Clover. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*. 36: 557-570.
- Radović, J., Katić, S., Lugić, Z., Vasiljević, S. (2010). Breeding of perennial forage legumes in Serbia, results and future directions. *Biotechnology in Animal Husbandry* 26 (spec. issue), Institute for Animal Husbandry, Belgrade- Zemun. 67-79.
- Vasiljević, S., Mihailović, V., Mitrović, M. (2001). Nova sorta crvene deteline kolubara. Zbornik radova Instituta za ratarstvo i povrtarstvo, Novi Sad. Sveska 35: 357-365.
- Vučković, S. (1999). Krmno bilje. Monografija. Institut za istraživanja u poljoprivredi, Srbija, Beograd i Bonart, Nova Pazova.

## QUALITY VARIABILITY OF RED CLOVER (*Trifolium pratense* L.) HAY MADE IN MOUNTAINOUS AREAS OF THE CITY OF BANJA LUKA

*Borislav Petković<sup>1</sup>, Novo Pržulj<sup>2,3</sup>, Vojo Radić<sup>2</sup>*

### Abstract

The aim of our research was to determine quality variability of hay made of four varieties of red clover, and namely Kolubara, Viola, Nike and Start and four lines of red clover from domestic selection: DS-1, DS-2, DS-3 and DS-4, over the period of two years (2010 and 2011). The highest average level of raw protein 15,49% and raw ash 9,77% were found in the first cut in the first year of the research. The second cut in the second year was typical for the least average level of raw protein 14,25%, raw fat 1,84% and raw ash 8,14%. Nike species showed the least average level of protein. Line DS-3 and Viola variation proved to be the best by the average content of raw proteins.

**Key words:** red clover, hay, quality, chemical composition

---

<sup>1</sup>Centre for Development of Agriculture and Villages, Vojvode Momčila 10-12, Banja Luka, Bosnia and Herzegovina ([borislav.p1980@gmail.com](mailto:borislav.p1980@gmail.com))

<sup>2</sup>University of Banja Luka, Faculty of Agriculture Banja Luka, Bulevar Vojvode Petra Bojovića 1A, Banja Luka, Bosnia and Herzegovina

<sup>3</sup>University of East Sarajevo, Faculty of Agriculture East Sarajevo, Vuka Karadžića 30, East Sarajevo Bosnia and Herzegovina



## UTICAJ KOLIČINE I RASPOREDA PADAVINA NA OSOBINE TEHNOLOŠKOG KVALITETA RAZLIČITIH GENOTIPOVA PŠENICE

*Kristina Luković<sup>1</sup>, Veselinka Zečević<sup>2</sup>, Milivoje Milovanović<sup>3</sup>, Vera Rajičić<sup>4</sup>,  
Vladimir Perišić<sup>1</sup>, Marko Jauković<sup>5</sup>*

**Izvod:** U radu je analizirano 10 genotipova ozime pšenice tokom dve vegetacione sezone (2012/2013, 2013/2014). Eksperimentalni deo oglada izveden je na oglednom polju Centra za strna žita u Kragujevcu. Ispitivane su osobine tehnološkog kvaliteta pšenice: sedimentacija proteina i sadržaj vlažnog glutena. Rezultati dobijeni u ovim istraživanjima ukazuju da se period oplodnje i nalivanja zrna, u drugoj proučavanoj godini, odvijao pri nižoj temperaturi vazduha i ekstremno visokoj količini padavina, što je negativno uticalo na kvalitete pšenice. U proseku, svi genotipovi pšenice su ostvarili niže vrednosti sedimentacije proteina i sadržaja vlažnog glutena u 2013/2014. u poređenju sa 2012/2013. godinom.

**Ključne reči:** pšenica, kvalitet, sedimentacija, gluten

### Uvod

Kvalitet proizvoda pšenice zavisi prvenstveno od količine i kvaliteta glutena koji se sastoji od složene grupe visokoelastičnih proteina, odgovornih za formiranje strukture testa (Dapčević i sar., 2011). Sastav rezervnih proteina je genetski determinisan i nezavistan od uslova spoljne sredine. Međutim, kvantitet proteina u velikoj meri zavisi od faktora spoljne sredine. Visoke temperature i toplotni stres u fazi nalivanja i sazrevanja zrna narušavaju biosintezu proteina pšenice, povećavajući količinu frakcije glijadina u kompleksu glutena (Torbica i sar., 2010). Takođe, ukoliko se u ovom period pojave ekstremno visoke količine padavina, u znatnoj meri će redukovati kvalitet pšenice. Kao primer, Đurić i sar. (2010), i Denčić i sar. (2013) navode 2001., 2008. i 2010. godinu sa izuzetno velikom količinom padavina u periodu maj-jul, koje su uslovile produženu žetvu i povećale rizik od predžetvenog proklijavanja usled povećane aktivnosti  $\alpha$ -amilaze. Osim toga, ekstremna količina padavina i niže temperature vazduha, koje su zabeležene tokom maja meseca 2014. godine, pogodovale su razvoju bolesti kod pšenice i intenzivnom napadu žute rđe (Vučković i sar., 2017). U istraživanjima Đoređević (2008), analizom intenziteta godišnjih i sezonskih padavina u periodu od 1961. do 2006. godine, ustanovljena je povećana učestalost ekstremno visokih

<sup>1</sup>Centar za strna žita, Save Kovačevića 31, 34000 Kragujevac, Srbija (kika@kg.ac.rs)

<sup>2</sup>Megatrend univerzitet-Beograd, Fakultet za biofarming, Maršala Tita 39, 24300 Bačka Topola, Srbija

<sup>3</sup>Visoka tehnička škola strukovnih studija, Nemanjina 2, 12000 Požarevac, Srbija

<sup>4</sup>Univerzitet u Nišu, Poljoprivredni fakultet u Kruševcu, Kosančićeva 4, 37000 Kruševac, Srbija

<sup>5</sup>Jugospekt Beograd ad, Čika Ljubina 8/V, 11000 Beograd, Srbija

količina padavina na teritoriji Srbije. Stoga je jedan od ciljeva oplemenjivanja pšenice, kreiranje sorti visokog prinosa i kvaliteta, koje poseduju stabilnost u različitim i često nepovoljnim uslovima spoljne sredine.

Cilj ovog rada bio je da se ispita uticaj genotipa, godine, kao i njihove interakcije na važnije pokazatelje kvaliteta pšenice, u godinama sa ekstremnom količinom padavina u fazama oplodnje i nalivanja zrna.

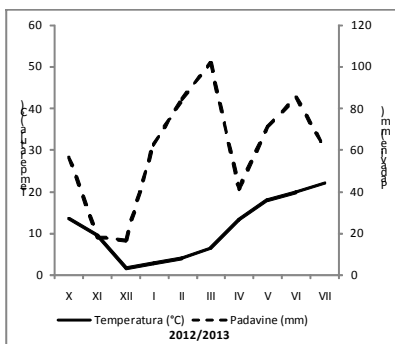
### Materijal i metode rada

U istraživanjima je analizirano 10 genotipova ozime hlebne pšenice (*Triticum aestivum* L.), od toga devet genotipova predstavljaju perspektivne selekzione linije stvorene u Centru za strna žita u Kragujevcu, i jedna standardna sorta (Pobeda). Eksperimentalni deo ogleda izveden je u dvogodišnjem periodu (2012/2013 i 2013/2014). Ogled je postavljen u poljskim uslovima po potpuno slučajnom blok sistemu, u tri ponavljanja sa veličinom osnovne parcelice od 5 m<sup>2</sup>.

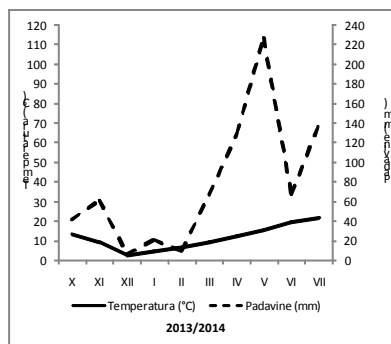
Analizirani su važniji pokazatelji tehnološkog kvaliteta zrna: sedimentaciona vrednost i sadržaj vlažnog glutena koji su određeni u skladu sa međunarodnim standardnim metodama (*Zeleny*, ICC No. 116/1, 1972; ICC No. 106/2, 1992).

Rezultati istraživanja obrađeni su analizom varijanse (ANOVA) po potpuno slučajnom blok dizajnu sa dva glavna faktora (genotip i godina) korišćenjem statističkog programa SPSS Statistics 22. Ocena značajnosti razlika srednjih vrednosti ispitivanih osobina testirana je *Duncanov*-im testom.

Prosečne vrednosti srednjih mesečnih temperatura vazduha i sume padavina po pojedinim mesecima prikazane su na grafikonima 1 i 2.



Graf.1. Srednje mesečne temperature vazduha i ukupna količina padavina u 2012/2013. godini



Graf.2. Srednja mesečna temperature vazduha i ukupna količina padavina u 2013/2014. godini

Prosečna temperatura vazduha tokom novembra i decembra bila je slična u obe proučavane godine, pri čemu je ukupna količina padavina tokom oktobra i novembra bila veća u drugoj godini u poređenju sa istim mesecima u prvoj godini, što je povoljnije uticalo na klijanje semena i nicanje biljaka. Mesec novembar 2012.

godine, kao i decembar i februar 2013/2014. godine, karakteriše sušni period sa izuzetno niskom količinom padavina. Karakteristično za godine izvođenja oglada jesu različit raspored i izuzetno velike količine padavina po pojedinim mesecima. Prva analizirana godina se odlikovala velikom količinom padavina tokom marta meseca (102 mm), dok se u drugoj godini period vlatanja, klasanja i nalivanja zrna (apri, maj) odvijao pri nižoj temperaturi vazduha i ekstremno visokoj količini padavina.

### Rezultati istraživanja i diskusija

Rezultati dobijeni u ovim istraživanjima ukazuju da je najveću vrednost sedimentacije proteina, u prvoj proučavanoj godini, ispoljio genotip KG-40-39/3 (37,0 ml), a u drugoj godini, genotip KG-40-12/1(28,7 ml). Prema sadržaju vlažnog glutena, u obe proučavane godine, najveću prosečnu vrednost ostvario je genotip KG-28/6 (39,01%; 33,15%). U proseku, svi genotipovi su ostvarili veću vrednost sedimentacije proteina i sadržaja vlažnog glutena u 2012/2013. godina u poređenju sa 2013/2014. godinom (Tabela 1).

Tabela 1. Srednje vrednosti za sedimentaciju proteina (ml) i sadržaj vlažnog glutena (%)

Table 1. Mean values for sedimentation value (ml) and wet gluten content (%)

Genotipovi <i>Genotype</i>	Sedimentacija proteina (ml) <i>Sedimentation value (ml)</i>			Sadržaj vlažnog glutena (%) <i>Wet gluten content (%)</i>		
	2012/ 2013	2013/ 2014	Prosek <i>Average</i>	2012/ 2013	2013/ 2014	Prosek <i>Average</i>
KG-244/4	34,0c	23,0b	28,5	36,14de	28,61abc	32,37
KG-199/4	29,0a	24,0bc	26,5	31,41a	27,98abc	29,70
KG-307/4	36,7de	23,3b	30,0	37,02e	26,28a	31,65
KG-28/6	36,3de	25,7cd	31,0	39,01f	33,15d	36,08
KG-191/5-13	31,0b	26,0cd	28,5	31,55a	29,23abc	30,39
KG-40-39/3	37,0e	27,0de	32,0	35,21cd	32,02cd	33,61
KG-52/23	35,3cd	22,3b	28,8	38,13f	28,6abc	33,36
KG-331/4	27,7a	24,0bc	25,8	35,69d	31,34bcd	33,51
KG-40-12/1	29,0a	28,7e	28,8	34,25c	28,66abc	31,46
Pobeda	32,3b	20,33a	26,3	32,78b	27,53ab	30,16
Prosek <i>Average</i>	32,8	24,4	28,6	35,12	29,34	32,23

Mala slova označavaju razlike između genotipova prema *Duncan*-ovom testu ( $P < 0.05$ )  
Distinct letters in the row indicate significant differences according to *Duncan* test ( $P < 0.05$ )

Sedimentacija proteina i sadržaj vlažnog glutena pružaju dragocene informacije o kvalitetu pekarskih proizvoda, jer se nalaze u pozitivnoj korelaciji sa sadržajem proteina i volumenom hleba (Zečević i sar., 2013; Laidig i sar., 2017; Branković i sar., 2018). Iako su proučavani genotipovi pšenice u 2013/2014. godini ostvarili

zadovoljavajuće vrednosti sadržaja vlažnog glutena, kvalitet glutena bio je loš, (veoma rastegljiv i lepljiv), što nepovoljno utiče na kvalitet brašna, testa i hleba.

Analizom varijanse utvrđene su statistički značajne razlike između genotipova, izučavanih godina, kao i njihove interakcije genotip × godina za obe proučavane osobine kvaliteta (Tabela 2). U prethodnim istraživanjima je potvrđeno da genotip, spoljna sredina i njihova interakcija imaju značajnu ulogu u ekspresiji osobina kvaliteta pšenice (Zečević i sar., 2013; Kaya i sar., 2014; Abdipour i sar., 2016, Luković i sar., 2019).

Tabela 2. Analiza varijanse za sedimentaciju proteina i sadržaj vlažnog glutena  
 Table 2. Analysis of variance for sedimentation value and wet gluten content

Izvori varijacije Source	df	Sedimentacija proteina Sedimentation value (ml)		Sadržaj vlažnog glutena Wet gluten content (%)	
		MS	F	MS	F
Blok/Block	2	0,617	0,626 <sup>nz</sup>	7,350	3,154 <sup>nz</sup>
Genotip/Genotype	9	24,400	24,769 <sup>**</sup>	23,140	9,928 <sup>**</sup>
Godina/Year	1	1058,400	1074,422 <sup>**</sup>	500,721	214,838 <sup>**</sup>
Genotip×Godina Genotype×Year	9	30,585	31,048 <sup>**</sup>	11,382	4,884 <sup>**</sup>
Greška/Error	38	0,985	-	2,331	-
Ukupno/Total	59	-	-	-	-

\*\* Značajnost na nivou P = 0,01 ; \*\* Significant at P = 0.01 level

U sprovedenom istraživanju, 2013/2014. godinu karakteriše blaga zima sa malom količinom vodenog taloga. Međutim, faze klasanje, oplodnja i nalivanje zrna odvijale su se pri nižoj temperaturi vazduha i ekstremno velikoj količini padavina. Samo tokom aprila i maja, na području Kragujevca 2014. godine bilo je 356 mm padavina, što iznosi oko 50% od ukupnih padavina u toku vegetacionog perioda pšenice. Prevelike količine padavina pogodovale su pojavi intenzivnog napada prouzročivača bolesti lista i klasa (*Puccinia striiformis* i *Erysiphe graminis*). Ovakvo nepovoljni vremenski uslovi negativno su uticali na procese nalivanja zrna pšenice uslovljavajući formiranje sitnijih, slabo nalivenih zrna. Vegetaciona 2012/2013. godina se odlikovala pravilnijim rasporedom padavina, naročito u periodu cvetanja, klasanja i nalivanja zrna pšenice, što je uslovalo da proučavani genotipovi pšenice ostvare bolji kvalitet zrna u poređenju sa 2013/2014. godinom.

### Zaključak

Analiza osobina tehnološkog kvaliteta je pokazala da postoje značajne razlike između genotipova, godina i njihove interakcije. U 2012/2013. vegetacionoj sezoni, svi genotipovi pšenice su ostvarili bolji kvalitet zrna u poređenju sa 2013/2014. godinom, koju su karakterisale ekstremno visoke količine padavina u periodu april-maj. Prema vrednostima izučavanih osobina kvaliteta, genotipovi KG-40-39/3, KG-40-12/1 i KG-28/6 se mogu izdvojiti kao perspektivni, koji u

godinama sa ekstremno visokim padavinama postižu visoke i stabilne vrednosti ispitivanih osobina kvaliteta.

### Napomena

Istraživanja u ovom radu deo su projekta „Održiva poljoprivreda i ruralni razvoj u funkciji ostvarivanja strateških ciljeva Republike Srbije u okviru Dunavskog regiona", III 46006, koji finansira Ministarstvo prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije.

### Literatura

- Abdipour M., Ebrahimi M., Izadi-Darbandi A., Mastrangelo A. M., Najafian G., Arshad Y., gita Mirniyam G. (2016): Association between Grain Size and Shape and Quality Traits, and Path Analysis of Thousand Grain Weight in Iranian Bread Wheat Landraces from Different Geographic Regions. *Not Bot Horti Agrobo*, 44(1):228-236.
- Branković G., Dodig D., Pajić V., Kandić V., Knežević D., Đurić N., Živanović T. (2018). Genetic parameters of *Triticum aestivum* and *Triticum durum* for technological quality properties in Serbia. *Zemdirbyste-Agriculture*. 105(1), 39-48.
- Dapčević-Hadnađev, T., Pojić, M., Hadnađev, M., Torbica, A. (2011): The Role of Empirical Rheology in Flour Quality Control. *Wide Spectra of Quality Control*, Dr. Isin Akyar (Ed.), pp. 336. InTech, Available from: <http://www.intechopen.com/books/wide-spectra-of-quality-control/therole-of-empirical-rheology-in-flour-quality-control>.
- Dencic S., DePauw R., Kobiljski B., Momcilovic M (2013). Hagberg Falling Number and Rheological Properties of Wheat Cultivars in Wet and Dry Preharvest Periods. *Plant Production Science*. 16 (4): 342-351.
- Đorđević, V. S. (2008). Temperature and Precipitation Trends in Belgrade and Indicators of Changing Extremes for Serbia. *Geographica Pannonica*, 12 (2), 62-68.
- Đurić, V., Mladenov, N., Hristov, N., Kondić-Špika A., Racić, M. (2010): Effect of rainfalls on wheat quality in 2009 harvest season. *Field and Vegetable Crops Research*. 47 (1), 335-340.
- Kaya Y., Akcura M. (2014): Effects of genotype and environment on grain yield and quality traits in bread wheat (*T. aestivum* L.). *Food Science and Technology*, Campinas. 34 (2), 386-393.
- Laidig F, Piepho H. P., Rentel D., Drobek T., Meye, U., Huesken A. (2017). Breeding progress, environmental variation and correlation of winter wheat yield and

- quality traits in German official variety trials and on-farm during 1983–2014. *Theoretical and Applied Genetics*. 130(1): 223-245.
- Luković K., Zečević V., Perišić V., Perišić V., Rajčić V., Bratković K., Matković Stojšin M. (2019). Variability of quality and rheological properties in winter wheat under the influence of ecological factors. *Proceedings of the X International Scientific Agricultural Symposium “Agrosym 2019”* ed. Kovačević D. 379-384. Jahorina, East Sarajevo: Faculty of Agriculture.
- Standard Methods Of International Association For Cereal Chemistry. ICC-Standard No. 106/2 and 116/1. Approved 1972, revised 1992. Vienna Verlag Moritz Schäfer. Detmold, Germany.
- Torbica A., Mastilović J., Živančev D. (2011). The influence of agro-ecological conditions on technological quality of mercantile wheat. *Journal on Processing and Energy in Agriculture*. 15 (2), 79-83.
- Vuković A., Bećirspahić D. , Vlajić S., Jovanović S. (2017). Intezivna pojava žute rđe pšenice (*Puccinia Striiformis Westend*) na području grada Bihaća. *Zbornik radova 1 / XXII savetovanje o biotehnologiji sa međunarodnim učešćem*, 379-384. Čačak, Srbija: Univerzitet u Kragujevcu, Agronomski fakultet u Čačku.
- Zečević V., Bosković J., Knezević D., Micanović D., Milenković S. (2013). Influence of cultivar and growing season on quality properties of winter wheat (*Triticum aestivum* L.). *African Journal of Agricultural Research*, 8 (21): 2545-2550.

## INFLUENCE OF AMOUNT AND DISTRIBUTION OF RAINFALL ON TECHNOLOGICAL QUALITY TRAITS OF WHEAT GENOTYPES

*Kristina Luković<sup>1</sup>, Veselinka Zečević<sup>2</sup>, Milivoje Milovanović<sup>3</sup>, Vera Rajičić<sup>4</sup>, Vladimir Perišić<sup>1</sup>, Marko Jauković<sup>5</sup>*

### Abstract

In these studies, 10 winter wheat genotypes were analyzed during two growing seasons (2012/2013, 2013/2014). The experimental part of the trial was conducted on Centre for Small Grains in Kragujevac. There were analyzed some of the most important technological qualities traits: sedimentation value and wet gluten content. According to our results, the period of heading and grain filling characterized by lower air temperatures and extremely high rainfall, which negatively affected the grain quality of wheat. On average, all genotypes achieved a lower protein sedimentation value and wet gluten content in 2013/2014. compared to 2012/2013 year.

**Key words:** wheat, quality, sedimentation value, gluten

---

<sup>1</sup>Centre for Small Grains, Save Kovačevića 31, 34000 Kragujevac, Serbia (kika@kg.ac.rs)

<sup>2</sup>Megatrend University, Belgrade, Faculty of Biofarming, Maršala Tita 39, 24300 Bačka Topola, Serbia

<sup>3</sup>Technical Vocational College, Nemanjina 2, 12000 Požarevac, Serbia

<sup>4</sup>Faculty of Agriculture, University of Niš, Kosančićeva 4, 37000 Kruševac, Serbia

<sup>5</sup>Jugoinspekt Belgrade, Čika Ljubina 8/V, 11000 Belgrade, Serbia





## UTICAJ RAZLIČITIH DOZA PIROFILITA NA RAST I RAZVOJ KUPUSA (*Brassica oleraceae* var. *capitata*.)

Sanid Pašić<sup>1</sup>, Aleksandra Govedarica-Lučić<sup>2</sup>, Alma Rahimić<sup>3</sup>

**Izvod:** U ovom radu istraživanja su usmjerena na primjenu različitih doza pirofilita kao hraniva u kombinaciji sa mineralnim đubrivom (NPK 15:15:15), na prinos kupusa (*Brassica oleraceae* var. *Capitata* L.) hibrida Bravo F1. Istraživanja su obavljena u 2018 i 2019 godini u Zavodu za poljoprivredu FBiH.

Cilj istraživanja bio je utvrditi u kojoj mjeri prinos kupusa zavisi od različitih doza pirofilita sa standardnim primijenjenim količinama mineralnog đubriva. Ispitivan je uticaj različitih doza pirofilita (700 kg/ha; 1.200 kg/ha; 1.700 kg/ha i 2.200 kg/ha u kombinaciji sa konstantnom količinom mineralnog đubriva NPK 15:15:15 - 800 kg/ha).

Najveća doza primjenog pirofilita po jedinici površine (2.200 kg/ha) ispoljila je najveći uticaj na rast i prinos glavatog kupusa.

**Ključne reči:** pirofilit, kupus, đubrivo, rast, prinos

### Uvod

Savremena poljoprivredna proizvodnja sve se više usmjerava na primjenu prirodnih sirovina kao đubriva i prirodnih biostabilizatora, posebno sa aspekta boljeg korištenja biološkog potencijala, rodnosti i nutritivne vrijednosti. Sa upotrebom prirodnih sirovina, sve se više analizira i cijeni aspekt u povećanom prinosu organske materije gajenih biljaka, odnosno kvaliteta proizvoda. Mineralne sirovine u razvijenim poljoprivrednim zemljama sve više nalaze primjenu skoro u svim privrednim sektorima, a posebno u poljoprivredi, hemijskoj i prehrambenoj industriji (ITNMS Beograd 2017).

Zbog visokog retencionog kapaciteta, sposobnosti zadržavanja vode i specifične kristalne strukture, pirofilit se u posljednje vrijeme počeo upotrebljavati kao višenamjenski dodatak zemljištu sa prekograničnim koncentracijama teških metala (Radulović, D., Harbinja, E. 2016). Perspektive većeg korištenja pirofilita (silikat aluminijev hidroksida) u poljoprivredi zasnivaju se na osobini svog visokog kapaciteta apsorpcije, visoke selektivnosti prema nekim teškim metalima i radionuklidima (Churakov, S. V. 2006). Pirofilit sa svojim fizičkim i hemijskim osobinama značajno utiče na plodnost zemljišta, poboljšava strukturu i sposobnosti zadržavanja vlage u zemljištu, zadržava, reguliše i distribuira hraniva i

<sup>1</sup> Federalni zavod za poljoprivredu Sarajevo ([sanidpasic88@gmail.com](mailto:sanidpasic88@gmail.com))

<sup>2</sup> Univerzitet u Istočnom Sarajevu – Poljoprivredni fakultet ([sandrakleplic@yahoo.com](mailto:sandrakleplic@yahoo.com))

<sup>3</sup> Univerzitet Džemal Bijedić Mostar – Agromediteranski fakultet ([alma.rahimic@unmo.ba](mailto:alma.rahimic@unmo.ba))

vodu biljci kada joj je najpotrebnije, u isto vrijeme za svoju kristalnu strukturu čvrsto veže teške metale i policiklične ugljovodonike (Gotovac, S. 2016).

Jedan od najperspektivnijih minerala za korištenje u poljoprivrednoj proizvodnji kao hraniva i biostabilizatora je pirofilit iako se danas samo simbolično koristi (Stoiljković, S. 2002). Na prostoru BiH eksploataciono polje pirofilita nalazi se u mjestu „Parsovići“ opština Konjic, zauzima površinu od 19,3 ha i resursom od 38,4 miliona tona. Pored nalazišta pirofilitnog škriljca koji je u nijansama ljubičaste, sive i bijele boje i čini 50% rude, prisutani su i kvarc, sericit, kaolinit, karbonati Ca i Mg, oksidi i hidroksidi željeza.

U nastojanjima za većim prinosom kupusa dolazi do veće i neracionalne primjene mineralnih đubriva, što neminovno prouzrokuje štetne posljedice ne samo na kvalitet proizvoda, već i predstavlja potencijalnu opasnost od zagađenja vode i zemljišta (Harbi Lab d.o.o Sarajevo 2016). Primjenom pirofilita u kombinaciji sa mineralnim đubrivom u proizvodnji kupusa, ne samo kao hraniva, već i kao biostabilizatora moguće je postići održivu proizvodnju i bolju hrandbenu vrijednost proizvoda.

Cilj istraživanja je bio ispitati efikasnost gnojidbe pirofilitom u različitim količinama kombinovanim sa mineralnim đubrivom (NPK 15:15:15) putem analize pokazatelja prinosa kupusa. U tom kontekstu moguće je sagledati da li pirofilit može svojim funkcionalnim komponentama uticati na intenzitet usvajanja hraniva i vode, na prinos kupusa, da li je ekološki i ekonomski opravdana njegova primjena kao organo mineralnog đubriva i može li doprinijeti smanjenju štetnih posljedica prekomjerne upotrebe mineralnih gnojiva u intenzivnoj poljoprivrednoj proizvodnji.

## Materijal i metode rada

Poljski eksperiment je postavljen na eksperimentalnom poligonu Federalnog zavoda za poljoprivredu u 2018 i 2019 godini po blok metodi sa slučajnim rasporedom parcela u četiri ponavljanja. Prije sjetve je izvršena osnovna obrada zemljišta oranjem na dubinu 25 cm, zatim predstetvena priprema zemljišta frezanjem. Svaka parcela je iznosila 7 m<sup>2</sup> (1,4 m širine x 5 m dužine). Na osnovnoj parceli posađeno je 20 biljaka kupusa po tretmanu u dvoredne trake na razmak 70 cm između redova i 50 cm u redu. Udaljenost između parcela je iznosila 100 cm. Površina eksperimentalne parcele iznosila je 360 m<sup>2</sup> sa slobodnim prostorom između tabli. U eksperimentu je korišteno mineralno gnojivo formulacije NPK 15:15:15 u količini od 800 kg/ha kombinovano sa različitim količinama pirofilita: 2.200 kg/ha; 1.700 kg/ha; 1.200 kg/ha; 700 kg/ha. Pirofilit se koristio iz nalazišta u Parsovićima, preduzeća „AD Harbi“ d.o.o. Sarajevo u mikroniziranom obliku (granulacije + 0 - 2 mm).

Osnovne osobine zemljišta na kome je postavljen ogled bile su: pH u vodi 6,96, pH u KCL 5,90; sadržaj N 0,17%; sadržaj CaCO<sub>3</sub> 0,5%; sadržaj humusa 2,26%; P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> 7,65 mg/100g; K<sub>2</sub>O 22,30 mg/100g. Analiza zemljišta vršena je u Zavodu za

agropedologiju FBiH po standardima: BAS ISO 10390 : 2005, pH, CaCO<sub>3</sub>, sadržaj N po BAS ISO 11261: 2000, sadržaj P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> i K<sub>2</sub>O Al – metodom.

Tokom razvoja kupusa poduzete su standardne mjere njege kupusa. Zaštita biljaka kupusa provedena je u dva navrata, preventivno. U prvom tretiranju korišteno je sredstvo sa insekticidnim djelovanjem Mospilan. U drugom tretiranju korišten je Pužomor. Kupus je preventivno tretiran insekticidom Decis. Sva tretiranja su obavljena folijarno tokom večernjih sati.

Ocjena značajnosti pojedinih ispitivanih faktora i njihov međusobni odnos testirali su se na osnovu LSD testa za nivo značajnosti 1% i 5%. Dobijeni rezultati su obrađeni metodom analize varijanse dvofaktorijskog ogleda (ANOVA) upotrebom SPSS 4,5 softvera.

### Rezultati istraživanja i diskusija

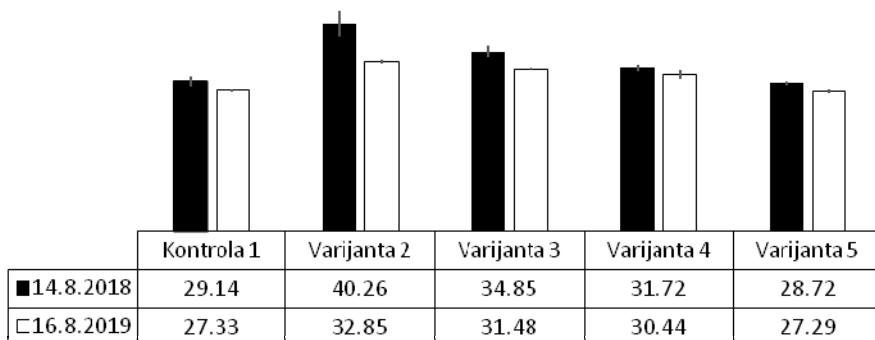
Na osnovu dobivenih podataka utvrđeno je da postoje statistički značajne razlike prinosa kupusa kod pojedinih varijanti. Statističke značajnosti su ispoljile varijante broj 2. (2.200 kg/ha pirofilita) u odnosu na sve druge varijante, dok varijanta broj 5. (700 kg/ha pirofilita) nije pokazala statističku značajnost u odnosu na kontolu (800 kg NPK/ha). Statističku značajnost su ispoljile i varijante broj 3. i 4. u odnosu na kontrolu. Na osnovu prosječne vrijednosti prinosa glavice kupusa može se zaključiti da su najveći prosječni prinosi kupusa u obje godine istraživanja imale biljke u varijanti broj 2. sa najvećom primijenjenom količinom pirofilita (2.200 kg/ha pirofilita).

Tabela 1. Prinos kupusa ovisno o godini i gnojidbi ± st. devijaciji

Table 1. Cabbage yield (kg / ha) depending on year and fertilization ± st. deviation

God.	Vrijeme berbe	Kontrola 1	Varijanta 2	Varijanta 3	Varijanta 4	Varijanta 5
2018	14.08	29,14±1,02	40,26±2,52	34,85±1,09	31,72±0,60	28,72±0,40
2019	16.08	27,33±0,34	32,85±0,40	31,48±0,22	30,44±0,84	27,29±0,38

Slični rezultati dobiveni su u okviru istraživanja na Univerzitet u Sarajevu – Prirodno – matematski fakultet. Izvršena je analiza pojedinih parametara pirofilita, kapacitet adsorpcije nitrata iz umjetnih gnojiva i tla i njihov uticaj na prinos kupusnjača (Hasanbegović, E. 2018).



Grafikon 1. Ukupni prinosi kupusa za 2018. i 2019. godinu  
 Chart 1. Total Cabbage Yields for 2018 and 2019

Dobiveni rezultati u ovom istraživanju potvrdili su postojanje statističke značajnosti uticaja tretmana primjene pirofilita na ukupni prinost kupusa u dvije istraživačke godine.

Na osnovu grafikona 1 vidljivo je da je najmanja prosječna vrijednost ispitivanog prinosa kupusa iznosila (28,72 kg/ha) kod varijante broj 5u 2018. godini, dok je najveća prosječna vrijednost izmjerena kod varijante 2 (40,26 kg/ha). Analizirajući 2019. godinu može se konstatovati da je najmanja prosječna vrijednost ukupnog prinosa kupusa iznosila 27,29 kg/ha) kod varijante 5, dok je najveća zabilježena vrijednost bila kod varijante 2 i iznosila je 32,85 kg/ha).

Anlizirajući odstupanja kontrole u 2018. godini u odnosu na varijantu 5 u 2018. godine, koja je ujedno i najmanja primjenjena doza prirofilita, može se dovesti u vezu da nije utvrđena donja granica (doza) adsopcije pirofilita u biljku, u ovom slučaju za kupus. Ovo dokazuje da se radi o još uvijek relativno novom i neistraženom alumosilikatu čija se primjena pokazala jako interesantnom za istraživanja u poljoprivredi.

Tabela 2. Tabela analize varijanse za ukupni prinost  
 Table 2. Variance analysis table for total yield

ANOVA						
Source of Variation	SS	df	MS	F	P-value	F crit
Sample	234,09	1	234,09	544,9*	5,97E-40	3,95
Columns	1027,44	4	256,86	597,9*	6,7E-64	2,47
Interaction	132,03	4	33,01	76,8*	3,42E-28	2,47
Within	38,67	90	0,43			
Total	1432,23	99				

Provedena dvofaktorijska analiza varijanse (ANOVA) potvrdila je postojanje statistički značajnih razlika uticaja različitih tretmana primjene pirofilita na ukupni prinost glavice kupusa, kao i interakcije tretmana i godine na ispitivani parametar

(Tabela 2). U svhu utvrđivanja postojanja najmanje statističke značajnosti korištee su dvije metode primjena LSD testa i Tukey-Kramer testa. Rezultati LSD testa su iznosili LSD<sub>(0,05%)</sub> 0,18 i LSD<sub>(0,01%)</sub> 0,24. Tukey –Kramer test je utvrdio postojanje najmanje statističke značajnosti kod varijante broj 2. u obje godine ispitivanja u odnosu na sve druge varijante, varijanta. Ostali tretmani u mogućim komparacijama ispoljili su statistički značaj na ukupni prinos kupusa uz primjenu pirofilita. Korelacionom analizom utvrđena je povezanost koja je u svim kombinacijama varijanti, jaka, pozitivna i statistički značajna, što bi značilo da su primijenjeni tretmani pirofilita značajno utjecali na prinos kupusa.

### Zaključak

Na osnovu dvogodišnjih istraživanja uticaja pirofilita kao hraniva na prinos glavatog kupusa (*Brassica oleraceae var. Capitata L.*) hibrida Bravo F1. i dobijenih rezultata može se zaključiti sljedeće:

- Provedena dvogodišnja istraživanja potvrdila su efikasnost pirofilita kao hran na prinos glavatog kupusa (*Brassica oleraceae var. capitata L.*) hibrida Bravo F1.
- Statistički najveća značajnost na prinos glavatog kupusa ispoljila je varijanta broj 2. sa najvećom primjenom pirofilita (2.200 kg pirofilit/ha u odnosu na sve druge varijante).
- Varijanta broj 5 sa najnižom primijenjenom količinom pirofilita – 700 kg/ha nije ispoljavala statističku značajna u odnosu na konntrolu.
- Na osnovu rezultata dobivenih ovim istraživanjem zaključujemo da za uspješnu proizvodnju kupusa možemo preporučiti upotrebu pirofilita u količini 2.200 kg/ha u kombinaciji sa mineralnim đubrivom NPK 15:15:15 u količini od 800 kg/ha.

### Literatura

- Gücek, A. i sar. (2005): Adsorption and kinetic studies of cationic and anionic dyes on pyrophyllite from aqueous solutions. *Journal of colloid and interface science*, 286(1), 53-60.
- Churakov, S. V. (2006): Ab initio study of sorption on pyrophyllite: Structure and acidity of the edge sites. *The Journal of Physical*, 110(9), 4135-4146.
- Harbi Lab d.o.o Sarajevo (2016): Geological study of reserves and quality of pyrophyllite of „Parsovići – Konjic“- Rudarsko geološki institut Tuzla.
- Hasanbegović, E. (2018): Utvrđivanje kapaciteta adsorpcije nitrata iz umjetnih gnojiva i tla na pirofilitu - Završni magistarski rad. Univerzitet u Sarajevu – prirodno – matematski fakultet odsjek za hemiju.
- ITNMS Belgrade (2017): Study of analysis of pyrophyllite schist pit ore at the deposit of „ Parsović“ Konjic (Bosnia and Herzegovina).

- Radulović, D., Harbinja, E. (2016). Ispitivanje primjene pirofilita u desumporizaciji izduvnih gasova energetskih postrojenja- Beograd.
- Stoiljković, S. (2002): Primjena nekih mineralnih sirovina u savremenoj poljoprivredi - Ljetopis naučnih radova broj 1, strana 86–92 UDK: 63:-032.

## **RESULTS RESEARCH OF DIFFERENT DOSES OF PIROPHILITE ON THE GROWTH AND DEVELOPMENT OF *CABBUS* (*Brassica oleraceae* var. *Capitata* L.)**

*Sanid Pasic<sup>1</sup>, Aleksandra Govedarica-Lucic<sup>2</sup>, Alma Rahimic<sup>3</sup>*

### **Abstract**

In this paper, research is focused on the application of different doses of pyrophyllite as a nutrient in combination with a mineral fertilizer (NPK 15:15:15), on the yield of cabbage (*Brassica oleraceae* var. *Capitata* L.) of Bravo F1 hybrids. The surveys were conducted in 2018 and 2019 at the FBiH Institute of Agriculture.

The aim of the study was to determine the extent to which cabbage yield depends on different doses of pyrophyllite as a nutrient with standard applied amounts of mineral fertilizer. The effect of different doses of pyrophyllite (700 kg / ha; 1,200 kg / ha; 1,700 kg / ha and 2,200 kg / ha in combination with the constant fertilizer NPK 15:15:15 in the amount of 800 kg / ha) was investigated.

The results indicate the positive effects of pyrophyllite application on the yield of cabbage with variants of higher pyrophyllite application per unit area (2,200 kg / ha).

**Key words:** pyrophyllite, cabbage, fertilizer, growth yield.

---

<sup>1</sup> Federal Institute for Agriculture Sarajevo([sanidpasic88@gmail.com](mailto:sanidpasic88@gmail.com))

<sup>2</sup> University of East Sarajevo - Faculty of Agriculture ([sandraklepic@yahoo.com](mailto:sandraklepic@yahoo.com))

<sup>3</sup> Džemal Bijedić Mostar University - Faculty of Agriculture([alma.rahimic@unmo.ba](mailto:alma.rahimic@unmo.ba))

## UTICAJ RAZLIČITIH KOLIČINA AZOTA I FOLIJARNOG ĐUBRENJA NA PRINOS I KOMPONENTE PRINOSA OZIME PŠENICE (*Triticum aestivum* L.)

Nebojša Gudžić<sup>1</sup>, Aleksandar Đikić<sup>1</sup>, Gordana Šekularac<sup>2</sup>, Slaviša Gudžić<sup>1</sup>,  
Miroljub Aksić<sup>1</sup>, Jasmina Knežević<sup>1</sup>

**Izvod:** Ozima pšenica tokom vegetacije koristi velike količine mineralnih elemenata, među kojima azot ima najveći uticaj na prinos. Razvojem novih tehnologija gajenja, primena bioregulatora i folijarnih đubriva sve je više zastupljena. Ogljed sa sortama pšenice Sosthene i Simonida je izveden 2018/19 godine na lokalitetu Livade (Gračanica) na Kosovu i Metohiji. Pored stalnih količina fosfora (90 kg ha<sup>-1</sup>) i kalijuma (90 kg ha<sup>-1</sup>), primenjene su i tri doze azota (50, 100 i 150 kg ha<sup>-1</sup>). Varijanta sa 100 kg N ha<sup>-1</sup> je kombinovana sa bioregulatorom (AGROSTEMIN®) i folijarnim đubrivom (MURTONIK). Kod obe sorte najveći prinosi su utvrđeni kod varijante 100 kg N ha<sup>-1</sup> + bioregulator + folijarno đubrivo i kod nje su najbolji rezultati svih komponenti prinosa.

**Ključne reči:** pšenica, azot, bioregulator, folijarno đubrivo, prinos

### Uvod

Pšenica (*Triticum aestivum* L) je kultura koja se uz kukuruz najviše proizvodi kako na svetskim oranicama, tako i kod nas. Po svojim nutritivnim vrednostima nalazi se na samom vrhu u piramidi ishrane (Denčić i sar., 2009). Ozima pšenica koristi velike količine mineralnih elemenata u toku vegetacije i ima visok zahtev prema plodnosti zemljišta (Malešev i sar., 2008). Među elementima mineralne ishrane azot ima najveći uticaj na povećanje prinosa (Đekić et al., 2015; Jelić i sar., 2014; Jelić et al., 2015). Međutim, efikasno đubrenje ovim elementom je od ključnog značaja za ekonomičnu proizvodnju, ali i zaštitu podzemnih i površinskih voda od zagađenja uzrokovanih ispiranjem nitrata, usled njegove prekomerne i neadekvatne primene (Jelić i sar., 2012).

Savremeni koncept intenzivne proizvodnje pšenice sve više se oslanja na dopunsku ishranu preko lista, sa ciljem dobijanja visokih prinosa i kvalitetnog zrna. Danas, ne samo u konvencionalnoj već i u organskoj proizvodnji, primena odgovarajućih bioregulatora i folijarnih đubriva sve više, pronalazi mesto u naučno istraživačkom radu, ali i u praksi (Šeremešić i sar., 2018). U tu svrhu se predlažu i primenjuju folijarno brojni bioregulatori i vodotopiva đubriva.

<sup>1</sup>Univerzitet u Prištini sa privremenim sedištem u Kosovskoj Mitrovici, Poljoprivredni fakultet u Lešku, Kopaonička bb, Lešak, Srbija (nebojsa.gudzic@pr.ac.rs)

<sup>2</sup>Univerzitet u Kragujevcu, Agronomski fakultet u Čačku, Cara Dušana 34, Čačak, Srbija

Prinos zrna pšenice je determinisan sa tri glavne komponente: brojem klasova po jedinici površine, brojem zrna u klasu i masom 1000 zrna (Okuyama et al., 2004). Između ovih pokazatelja postoje složeni međusobni uticaji jer povećanje vrednosti jednog parametra često dovodi do smanjenja vrednosti drugog (Hristov i sar., 2008). Značaj svake komponente u formiranju prinosa, pored toga što zavisi od vremenskih uslova u kritičnim fazama rasta i razvika i agrotehničkim merama, u velikoj meri je uslovljen i ishranom, posebno primenjenim dozama azota (Fagam et al., 2006), kao i odnosom NPK hraniva (Rehman et al., 2006).

Cilj istraživanja je bio da se ogledom izvrši upoređivanje efekta rastućih doza azota, bioregulatora i folijarnih đubriva, kako bi se objasnio njihov uticaj na prinos i komponente prinosa kod sorti Sosthene i Simonida.

### Materijal i metode rada

Istraživanje je izvedeno u proizvodnoj 2018/19. godini, na oglednoj parceli u Lapljem selu, Opština Gračanica (Kosovo i Metohija). Setva sertifikovanog semena sorti pšenice Sosthena i Simonida, obavljena je u drugoj polovini oktobra na zemljištu tipa smonica. Ogled je bio postavljen po blok sistemu u četiri ponavljanja, sa veličinom ogledne parcelice 3 x 2 m (6 m<sup>2</sup>).

Varijante ogleda su bile kontrola bez đubrenja (1-K) i četiri varijante đubrenja: 2-N<sub>1</sub>PK; 3-N<sub>2</sub>PK; 4-N<sub>3</sub>PK i 5-N<sub>2</sub>PK+BR+FĐ. Oznake predstavljaju: N<sub>1</sub> – 50, N<sub>2</sub> – 100 i N<sub>3</sub> – 150 kg N ha<sup>-1</sup>; P – 90 kg P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> ha<sup>-1</sup>; K – 90 kg K<sub>2</sub>O ha<sup>-1</sup>; BR – bioregulator (AGROSTEMIN®); FĐ – folijarno đubrivo (MURTONIK).

Osnovno đubrenje je obavljeno pre setve (đubrivo 8:15:15+Ca+S.) kada je uneta celokupna količinom fosfora i kalijuma i deo azota. Ostatak azota je apliciran u proleće u dva prihranjivanja KAN-om, prvo 14.03.2019. god. sa 1/2 od preostale količine N, a druga 01.05.2019. godine ostatkom N. Folijarna primena bioregulatora AGROSTEMIN® (količina od 250 g ha<sup>-1</sup>) obavljena je 15.04.2019 godine, a đubriva MURTONIK 19:9:27 + mikroelementi (količina 3 kg ha<sup>-1</sup>) 08.05.2018. godine.

Nakon završetka vegetacije 13.07.2019. godine je obavljena žetva standardnim postupkom kvadrata 1 x 1 m (1 m<sup>2</sup>). Posle žetve izmeren je i izračunat prinos zna za svaku varijantu i određeni su kvantitativni pokazatelji prinosa: broj klasova po jedinici površine (BK), broj zrna po klasu (BZK), masa 1000 zrna (MHZ).

Dobijeni rezultati prinosa i pokazatelja prinosa statistički su obrađeni metodom jednosmerne analize varijanse, pri čemu je značajnost razlika sredina tretmana (varijanta đubrenja) testirana LSD testom.

### Rezultati istraživanja i diskusija

Prosečni prinosi zrna pšenice zavisili su kako od sorte, tako i od varijante đubrenja i prikazani su u Tabeli 1. Upoređivanjem ispitivanih sorti uočava se da je osim kod varijante N1PK, sorta Simonida kod ostalih varijanti đubrenja imala veće prinose u odnosu na sortu Sosthene.



Pored genotipa na prinos pšenice u velikoj meri je uticalo i đubrenje. Tako je najmanji prosečan prinos zabeležen kod kontrole (K), odnosno varijante koja nije đubrena i razlike prinosa ostalih varijanti su u odnosu na nju bile statistički vrlo značajne. Razlike u prinosisima su postojale i između varijanti đubrenja i zapaža se da je sa porastom količina azota u ishrani rastao i prinos, a najveći su zabeleženi kod varijante gde je primenjena dopunska ishrana preko lista (N2PK+BR+FĐ).

Tabela 1. Prosečne vrednosti prinosa zrna ispitivanih sorti (kg ha<sup>-1</sup>)  
 Table 1. Average values of the grain yield of wheat cultivars tested (kg ha<sup>-1</sup>)

Varijanta đubrenja (Fertilizing variant)	Sorte (Cultivars)		Prosek (Average)
	Sosthene	Simonida	
K	2975	3510	3242,5
N1PK	4400	4120	4260
N2PK	5040	5235	5137,5
N3PK	5040	5380	5210
N2PK+BR+FĐ	5150	5820	5485
Prosek (Average)	4521	4813	4667
LSD <sub>0,05</sub>	173	193	
LSD <sub>0,01</sub>	239	267	

Upoređivanjem prinosa između varijanti sa rastućim količinama azota utvrđeno je da je optimalan ekonomski i ekološki efekat ostvaren kada je primenjino 100 kg N ha<sup>-1</sup> (N2PK). Kod obe sorte, prinosi pri ovom nivou đubrenja su bili veći u odnosu na varijantu sa 50 kg N ha<sup>-1</sup> (N1PK) i razlike su bile statistički vrlo značajne. Povećanje količine N sa 100 na 150 kg ha<sup>-1</sup> kod sorte Sosthene nije imalo efekat na prinos, a kod sorte Simonida razlika je bila ispod nivoa statističke značajnosti (145 kg ha<sup>-1</sup>). Ovakav ishod odnosa prinosa još jednom ukazuje da se efikasnost iskorišćavanja azota iz mineralnih đubriva kod ozime pšenice smanjuje sa povećanjem nivoa đubrenja ovim elementom i da velike količine njegovih đubriva mogu biti uzrok smanjenja prinosa, što je ekonomski, ali i ekološki štetno, jer je čest uzrok zagađenja ekosistema (Đekić i sar., 2017; Jelić i sar., 2015).

Primena bioregulatora AGROSTEMIN i folijarnog đubriva MURTONIK u kombinaciji sa kombinacijom N2PK je pokazala najbolje rezultate kako na prinos zrna obe ispitivane sorte (Tabela 1), tako i na pokazatelje prinosa (Tabela 2). Primena bioregulatora može da doprinese povećanju prinosa kod strnih žita u proseku od 10-20% (Gajić i sar., 1986), što je moguće ostvariti i u usloviuma organske proizvodnje (Šeremešić i sar, 2018), uz istovremeni dobar razvoj nekih komponenti prinosa pri dobrom izboru vremena primene preparata AGROSTEMIN (Jošt i Jošt, 1986), što potvrđuje i ovo istraživanje, posebno kod sorte Simonida. Dobijene prosečne vrednosti komponenti prinosa ukazuju da su rastuće doze azota, a posebno dopunska ishrana preko lista, doprineli njihovom povećanju. Najveći broj klasova zabeležen kod varijante N2PK+BR+FĐ i kod Sosthene je iznosio 522, a kod

sorte Simonida 528. Između ove i ostalih varijanti, razlike su statistički vrlo značajne. Izuzetak je zabeležen kod sorte Sosthene kod koje upoređivanjem broja klasova po m<sup>2</sup> između N3PK dopunska ishrana preko lista nije utvrđena statistička značajnost.

Tabela 2. Komponente prinosa pšenice u zavisnosti od nivoa đubrenja  
 Table 2. Wheat yield components depended on fertilizing level

Varijanta đubrenja (Fertilizing variant)	Sorte (Cultivars)					
	Sosthene			Simonida		
	BK	BZK	MHZ (g)	BK	BZK	MHZ (g)
K	472	32	38,1	469	38	40,4
N1PK	493	36	38,6	481	41	41,0
N2PK	506	41	39,1	496	42	41,4
N3PK	513	41	39,9	512	42	41,7
N2PK+BR+FĐ	522	42	40,2	528	43	43,1
LSD <sub>0,05</sub>	9,4	5,2	3,6	8,1	5,4	0,9
LSD <sub>0,01</sub>	13	7,1	4,9	11,2	7,5	1,3

BK – broj klasova po m<sup>2</sup> (spike number per m<sup>2</sup>); BZK - Broj zrna po klasu (grain number per spike); MHZ - Masa 1000 zrna (1000 grain mas)

Broj zrna po klasu kod sorte Sosthene kretao se od 32 (K) do 42 (N2PK+BR+FĐ), odnosno od 38 (K) do 43 (N3PK+BR+FĐ) kod sorte Simonida. Kod sorte Simonida između tretmana nisu utvrđene statistički značajne razlike, a kod sorte Sosthene vrlo visok stepen značajnosti je postojao između kontrole i varijanti N2PK, N3PK i N2PK+BR+FĐ, a visok između K i N1PK, kao i između N1PK i N2PK+BR+FĐ.

Kao i kod ostalih komponenti prinosa, sa đubrenjem je povećana i masa 1000 zrna i ona je kod sorte Sosthene iznosila od 38,1 g kod kontrole, do 40,2 g kod kombinacije N2PK+BR+FĐ i između ova dva kao i između ostalih tretmana nije bilo statističke značajnosti. Kod sorte Simonida takođe je najmanja masa 1000 zrna zabeležena kod kontrole (40,4 g), a najveća kod varijante N2PK+BR+FĐ (43,1 g) i razlika je bila statistički vrlo značajna. Vrlo visok nivo statističke značajnosti postoji i između varijante N2PK+BR+BĐ i sve tri kombinacije rastućih doza azota.

### Zaključak

Rezultati prinosa i komponenti prinosa sorti Sosthene i Simonida ukazuju da je od svih količina primenjenog azota u ishrani najveća efikasnost postignuta prilikom upotrebe 100 kg N ha<sup>-1</sup>. Agronomski optimum ove količine se značajno povećava kada se ona u dopunskoj ishrani preko lista kombinuje sa odgovarajućim bioregulatorima i folijarnim đubrivima.

Dobijeni rezultati mogu da posluže kao smernica za unapređenje proizvodnje pšenice, sa ciljem da se tačnim definisanjem vremena i načina folijarne primene bioregulatora i drugih preparata smanje količine azota u ishrani, bez posledica po

prinos i pokazatelje prinosa. Na taj način bi se stvorila dobra osnova za stabilnu proizvodnju pšenice, ali istovremeno i dao doprinos zaštiti životne sredine.

### Napomena

Istraživanja u ovom radu deo su projekta TR 31054 koji finansira Ministarstvo prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije.

### Literatura

- Denčić S., Kobiljski B., Mladenov N., Pržulj N. (2009). Proizvodnja, prinos i potrebe za pšenicom u svetu i kod nas. Zbornik radova. Institut za ratarstvo i povrtarstvo, Novi Sad, 46 (2): 367-377.
- Gajić B., Vacić D., Despotović G. (1986). Uticaj prirodnog bioregulatora agrostemina na prinos i tehnološki kvalitet pšenice. Zbornik radova. VII Jugoslovenski kongres o ishrani, oktobar 1986, Budva, Broj 4, 203-206.
- Đekić V., Milovanović M., Popović V., Milivojević J., Staletić M., Jelić M., Perišić V. (2014). Effects of fertilization on yield and grain quality in winter triticale. Romanian Agricultural Research. 31, 175-183.
- Đekić V., Popović, V., Jelić M., Terzić D., Branković S. (2017). Uticaj različitih doza đubrenja azota na prinos ozime pšenice. Zbornik radova. XXXI Savetovanje agronoma, veterinara, tehnologa i agroekonomista. 22-23.02.2017, Beograd, 23 (1-2): 105-111.
- Fagam A.S., Bununu A.M., Buba U.M. (2006). Path coefficient analysis of the components of grain yield in wheat (*triticum aestivum* L). Natural and Applied Sciences. 2 (4): 336-340.
- Hristov N., Mladenov N., Šipka A.K., Štatkić, S., Kovačević N. (2008). Direktni i indirektni efekti pojedinih svojstava na prinos zrna pšenice. Zbornik radova. Institut za ratarstvo i povrtarstvo, Novi Sad, 45: 15-20.
- Jelić M., Milivojević J., Paunović A., Biberdžić M., Nikolić O., Madić M., Đekić V. (2012). Response of wheat genotypes to liming and fertilization on pseudogley soil. Proceedings. 47rd Croatian and 7rd International Symposium on Agriculture. 13-17. Februar, Opatija, Croatia, 488-491.
- Jelić M., Milivojević J., Đekić V., Paunović A., Tmušić N. (2014). Uticaj kalcizacije i đubrenja na prinos i iskorišćavanje azota i fosfora biljkama pšenice na zemljištu tipa pseudoglej. Zbornik naučnih radova Instituta PKB Agroekonomik, Beograd 19-20. Februar 2014. 20 (1-4): 49-56.
- Jelić, M., Milivojević, J., Nikolić, O., Djekić, V., Stamenković, S. (2015): Effect of long-term fertilization and soil amendments on yield, grain quality and nutrition optimization in winter wheat on an acidic pseudogley. Romanian Agricultural Research, 32: 165-174.
- Jošt M., Jošt M. (1986). Proizvodno-demonstracioni pokusi s agrosteminom. Zbornik radova o ispitivanju dejstva Agrostemina na pšenicu, Poljoprivredni Institut Križevci, Križevci, Hrvatska. 66-72.

- Malešev M., Starčević Lj., Jaćimović G., Đurić V., Šeremešić S., Milošev D. (2008). Prinos ozime pšenice u zavisnosti od uslova godine i nivoa đubrenja azotom. Zbornik radova. XIII Savetovanje o biotehnologiji, Čačak, 29-29. mart, 2008. 13 (14): 135-141.
- Okuyama L.A., Federizzi L.C., Barbosa J.F., (2004). Correlation and path analysis of yield and its components and plant traits in wheat. Ciencia Rural, Santa Maria, 34 (6): 1701-1708.
- Rehman O., Zaka M.A., Rafa H.U., Hassan N.M. (2006). Effect of balanced fertilization on yield and phosphorus uptake in wheat-rice rotation. J. Agric. Res., 44 (2): 105-115.
- Šeremešić S., Manojlović M., Milošev D., Latković D., Vasiljević M., Sikora V., Vojnov B. (2018). Uticaj folijarne primene različitih vrsta đubriva na prinos i komponente prinosa ozime pšenice (*Triticum aestivum* L) u organskom sistemu proizvodnje. Letopis naučnih radova, 42 (1): 1-8.

## INFLUENCE OF VARIOUS NITROGEN AND FOLIAR FERTILIZERS ON YIELD AND YIELD COMPONENTS OF WINTER WHEAT (*Triticum aestivum* L.)

Nebojša Gudžić<sup>1</sup>, Aleksandar Đikić<sup>1</sup>, Gordana Šekularac<sup>2</sup>, Slaviša Gudžić<sup>1</sup>,  
Miroљjub Aksić<sup>1</sup>, Jasmina Knežević<sup>1</sup>

### Abstract

During the growing season, winter wheat uses large amounts of mineral elements, among which nitrogen has the highest impact on yield. With the development of new technologies of wheat cultivation, the use of bioregulators and foliar fertilizers is becoming more prevalent. An experiment with Sosthene and Simonida wheat varieties was conducted in 2018/19 at the Livadje (Gracanica) site in Kosovo and Metohija. In addition to the constant amounts of phosphorus (90 kg ha<sup>-1</sup>) and potassium (90 kg ha<sup>-1</sup>), three doses of nitrogen (50, 100 and 150 kg ha<sup>-1</sup>) were also applied. The 100 kg N ha<sup>-1</sup> variant is combined with a bioregulator (AGROSTEMIN®) and a foliar fertilizer (MURTONIK). In both varieties, the highest yields were determined in the 100 kg N ha<sup>-1</sup> + bioregulator + foliar fertilizer variant and with it the best results of all yield components.

**Key words:** wheat, nitrogen, bioregulator, foliar fertilizer, yield

---

<sup>1</sup>University in Priština – Kosovska Mitrovica, Faculty of Agriculture Lešak, Kopaonička bb, Lešak, Serbia (nebojsa.gudzic@pr.ac.rs)

<sup>2</sup>University of Kragujevac, Faculty of Agronomy Čačak, Cara Dušana 34, Čačak, Serbia

## ĐUBRENJE I INOKULACIJA SEMENA U FUNKCIJI STABILNE PROIZVODNJE PASULJA

Ljubiša Živanović<sup>1</sup>, Ljubiša Kolarić<sup>1</sup>, Jela Ikanović<sup>1</sup>, Jelena Golijan<sup>1</sup>, Ljubica Šarčević-Todosijević<sup>2</sup>, Vera Popović<sup>3</sup>

**Izvod:** U ovom radu je ispitivan uticaj NPK đubrenja, prihranjivanja azotom i inokulacije semena kvržičnim bakterijama na komponente prinosa i prinos zrna pasulja. Poljski mikroogled je izveden u agroekološkim uslovima centralne Šumadije i na zemljištu tipa gajnjača (Eutrični kambisol).

Dobijeni rezultati su pokazali značajne razlike u broju mahuna, broju zrna i prinosu zrna između ispitivanih tretmana đubrenja. Suprotno tome, inokulacija semena nije ispoljila značajniji uticaj na posmatrane parametre produktivnosti pasulja.

**Ključne reči:** azotofiksacija, đubrenje, pasulj, prinos zrna.

### Uvod

Pasulj (*Phaseolus vulgaris* L.) je najvažnija mahunarka koja se gaji u prehrambene svrhe. To je jednogodišnja ratarska biljna vrsta koja se gaji, prvenstveno, radi fiziološki zrelog zrna. Zrno pasulja ima veliku hranljivu i svarljivu vrednost, kao i vrlo povoljan odnos ugljenih hidrata i visokokvalitetnih proteina, 2:1 (Glamočlija, 2012). Proizvodnja pasulja u Srbiji je nestabilna i varira iz godine u godinu. Primera radi, u periodu 2015-2017. godine, u našoj zemlji pasulj se kao čist usev godišnje sejao na površini koja varira između 12.694 i 13.236 hektara, sa prosečnim prinosom zrna od 1,0 do 1,1 t ha<sup>-1</sup> (SGS, 2018). U odnosu na prošlu deceniju to je smanjenje od oko 50%.

Đubrenje predstavlja agrotehničku meru koja ima za zadatak da gajenim biljkama osigura dovoljnu količinu hraniva i da očuva, a po potrebi i poboljša plodnost zemljišta (Molnar i sar., 2003). Pored toga, pravilnom ishranom smanjuje se negativan uticaj drugih nepovoljnih faktora (vremenski uslovi, prouzrokovajući biljnih bolesti, štetočine i dr). Tokom vegetacionog perioda pasulj iz zemljišta iznosi znatne količine glavnih elemenata ishrane (NPK). Za prinos od 100 kg zrna i odgovarajuće količine vegetativne biomase biljke pasulja iz zemljišta usvoje 7,8-8,5 kg azota, 1,5-1,8 kg fosfora i 3,2-3,5 kg kalijuma (Glamočlija, 2012).

Prema mišljenju Đurovke (1982), potrebna količina mineralnih hraniva u đubrenju za pasulj treba da iznosi 30-50 kg ha<sup>-1</sup> N, 80-150 kg ha<sup>-1</sup> P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> i 50-100 kg ha<sup>-1</sup> K<sub>2</sub>O, koje sve treba uneti prilikom setve, i to u trake na dubinu od 5 cm, a 3 cm

<sup>1</sup>Univerzitet u Beogradu, Poljoprivredni fakultet, Nemanjina 6, Zemun, Srbija (ljuba@agrif.bg.ac.rs);

<sup>2</sup>VZŠŠSS „Visan“, Tošin bunar, 7a, 11080 Zemun, Srbija;

<sup>3</sup>Institut za ratarstvo i povrtarstvo, Maksima Gorkog 30, 21000 Novi Sad, Srbija.

udaljeno od semena. Pored toga, isti autor preporučuje jedno prihranjivanje sa 60-70 kg ha<sup>-1</sup> N kada biljke budu u fazi 2-3 stalna lista, naročito na lakšim zemljištima.

Azotofiksacija predstavlja mogućnost pojedinih mikroorganizama da usvajaju i koriste elementarni azot iz vazduha. U simbiozi (zajednici) sa pasuljem, u našim zemljištima, zastupljena je vrsta kvržičnih bakterija *Rhizobium leguminosarum* bv. *phaseoli* koja godišnje fiksira od 25 do 120 kg ha<sup>-1</sup> N (Wani et al., 1994). Međutim, zastupljenost i efektivnost kvržičnih bakterija pasulja, kao i u drugih zrnenih mahunarki, zavisi u velikoj meri i od uslova koji vladaju u zemljištu, posebno od pH reakcije zemljišnog rastvora i vlažnosti zemljišta.

Značaj ovih istraživanja trebalo bi da doprinese stabilizaciji i povećanju prinosa zrna pasulja, kako kvantitativno tako i kvalitativno, u agroekološkim uslovima centralne Šumadije.

## Materijal i metode rada

Ispitivanja produktivnosti pasulja u zavisnosti od NPK đubrenja, prihranjivanja azotom i inokulacije semena obavljena su na privatnom imanju u okolini šumadijske Rače (selo Miraševac) u proizvodnoj 2019. godini.

Poljski mikroogled je izveden na zemljištu tipa gajnjača (Eutrični kambisol), po planu podeljenih parcela (split plot) u četiri ponavljanja. Zemljište se na dubini profila 0-30 cm, pre postavljanja ogleada, karakterisalo sledećim agrohemijским osobinama: pH (u H<sub>2</sub>O) - 6,40; pH (u n/1 KCL) - 5,58; humus - 2,73%, ukupan N - 0,16%, odnos C:N - 9,8:1; P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> - 4,30 mg u 100 g i K<sub>2</sub>O - 17,80 mg u 100 g zemljišta. Površina obračunske parcele za prinos zrna iznosila je 10,0 m<sup>2</sup>.

U ovom istraživanju zasnovan je dvofaktorijalni ogled u sledećim varijantama: A) Đubrenje (Kontrola - bez đubrenja); NPK 6:24:12 (400 kg ha<sup>-1</sup>), odnosno 24:96:48 kg ha<sup>-1</sup> a. m.; AN 34% N (200 kg ha<sup>-1</sup>), odnosno 68 kg ha<sup>-1</sup> a. m. i NPK 6:24:12 (400 kg ha<sup>-1</sup>) + AN 34% N (200 kg ha<sup>-1</sup>), odnosno 92:96:48 kg ha<sup>-1</sup> a. m.) i B) Inokulacija semena (Bez inokulacije i sa inokulacijom).

Primenjena agrotehnika na ogledu bila je standardna, kao za redovnu proizvodnju pasulja. Predusev pasulju bio je krompir. Posle vađenja krompira (u jesen 2018. godine) obavljena je osnovna obrada zemljišta na dubini od oko 20 cm. U toku proleća izvršena je predsetvena priprema zemljišta tanjiranjem i drljanjem. Neposredno pre setve pasulja (za varijantu sa inokulacijom) obavljena je inokulacija semena preparatom Azotofiksin „P“, po uputstvu proizvođača.

Setva je izvedena ručno 04. maja 2019. godine, prema planu, u prethodno izvučene brazdice na međurednom rastojanju od 70 cm i odstojanju od 5 cm, odnosno u gustini setve od oko 285.000 semena po ha. Na varijanti sa primenom NPK đubriva isto je upotrebljeno startno, odnosno istovremeno sa setvom u neposrednoj blizini semena. Korišćeno je kompleksno NPK đubrivo formulacije 6:24:12 + 2% Ca + 5% S + 0,05% Zn, kompanije Elixir Zorka. U varijanti sa prihranjivanjem azotom korišćeno je mineralno đubrivo AN sa 34% N, a primenjeno je u fazi pojave prvog troperog lista, neposredno pored biljaka pasulja i

u prethodno izvučene brazdice. Poslednja (četvrta) varijanta đubrenja predstavlja kombinaciju drugog i trećeg tretmana dopunske ishrane.

Kao semenski materijal korišćena je visokorodna sorta pasulja Galeb, iz sopstvene proizvodnje, selekcionisana u Centru za povrtarstvo u Smederskoj Palanci. To je sorta pasulja koja pripada podvrsti niskih pasilja uspravnog stabla (*ssp. nanus, var. oblongus*). Dužina vegetacionog perioda ove sorte iznosi oko 75 dana (Aleksić i sar., 1996).

U sklopu mera nege useva pasulja vršeno je ručno okopavanje i međuredna kultivacija u cilju suzbijanja korovskih biljaka, kao i hemijska zaštita od prouzrokovaca bolesti i štetočina. Protiv mikoza i bakterioza preventivno je korišćena kombinacija preparata *Mankogal + Bakarni oksihlorid* u dva tretmana, a protiv štetnih insekata i grinja preparat *Kingbo AS* u odgovarajućoj dozi, odnosno koncentraciji.

Žetva pasulja obavljena je ručno, čupanjem biljaka u fiziološkoj zrelosti (14. avgust 2019.). Na uzorcima od po 10 biljaka iz svih varijanti i iz svih ponavljanja izvršena su merenja komponenti prinosa. Prinos zrna po jedinici površine utvrđen je na osnovu mase zrna jednog reda dužine 14,28 m i izražen u t ha<sup>-1</sup>.

Za realizaciju navedenog programa korišćeni su podaci o vremenskim uslovima dobijeni sa meteorološke stanice u Kragujevcu.

Na osnovu tih podataka kotsatujemo da su meteorološki uslovi bili povoljni za rastenje i razviće pasulja sa aspekta toplotnih i uslova vlažnosti pošto je prosečna temperatura vazduha za vegetacioni period pasulja u godini ispitivanja iznosila 19,1°C, a količina padavina 372,6 mm. Jedina nepovoljna okolnost bila je pojava grada, veličine lešnika, 20. juna 2019. godine koji je u značajnoj meri redukovao lisnu masu, deo cvetova i zametnutih mahuna.

Dobijeni rezultati istraživanja su obrađeni statistički, a ocena značajnosti LSD testom i prikazani su tabelarno.

## Rezultati istraživanja i diskusija

U ovom radu ispitivan je uticaj NPK đubrenja, prihranjivanja azotom, kao i inokulacije semena na broj mahuna, broj zrna po biljci i prinos zrna pasulja sorte Galeb.

### Broj mahuna po biljci

Broj mahuna po biljci predstavlja jednu od najvažnijih komponenti prinosa pasulja. Obrazovanje većeg broj mahuna po biljci je uslov za visoku i stabilnu proizvodnju zrna pasulja (Moss and Murhaed, 1983).

Rezultati naših istraživanja pokazuju da je u proseku za ispitivane varijante, broj mahuna po biljci iznosio 9,05 (Tabela 1). U proseku za varijante inokulacije semena, najmanji broj mahuna po biljci (6,8) izbrojan je na varijanti bez đubrenja, a najveći (10,4) u varijanti NPK+AN. Razlike između tretmana đubrenja u pogledu broja mahuna po biljci su statistički vrlo značajne, osim između varijante NPK i

NPK+AN. U proseku za varijante đubrenja, na tretmanu bez inokulacije semena registrovan je veći broj mahuna po biljci za 0,1 u poređenju sa inokulacijom. Razlika između varijanti inokulacije u broju mahuna po biljci statistički nije opravdana.

Na svim varijantama sa inokulacijom semena se povećava broj mahuna po biljci, kao i broj zrna u mahunama u odnosu na neinokulisane biljke (Milić i sar., 2003). S druge strane, Dozet i sar. (2017) nisu dobili statistički značajno povećanje broja mahuna po biljci na različitim varijantama primene Guanita (organsko đubrivo) i mikrobioloških đubriva u poređenju sa kontrolom (bez đubrenja).

Tabela 1. Uticaj đubrenja i inokulacije semena na broj mahuna po biljci  
*Table 1. Effect of fertilization and seed inoculation on the number of pods per plant*

Varijanta đubrenja (A) <i>Variant of fertilization</i>	Inokulacija semena (B) – <i>Seed inoculation</i>		Prosek Average	Indeks (%) Index
	Bez inokulacije <i>Without inoculation</i>	Sa inokulacijom <i>With inoculation</i>		
Kontrola	6,7	6,9	6,8	100,0
NPK	9,5	11,1	10,3	151,5
AN	8,7	8,6	8,7	127,9
NPK+AN	11,5	9,3	10,4	152,9
Prosek Average	9,1	9,0	9,05	-
Indeks (%) Index	100,0	98,9	-	-

LSD	A	B	BxA	AxB
0,05	0,06	0,14	0,27	0,20
0,01	0,08	0,19	0,38	0,28

### Broj zrna po biljci

Broj zrna po biljci je u jakoj pozitivnoj korelaciji sa brojem mahuna pasulja. Rezultati naših istraživanja pokazuju da je, u proseku za ispitivane faktore, broj zrna po biljci iznosio 29,8 (Tabela 2). U proseku za tretmane inokulacije, najmanji broj zrna po biljci (25,3) izbrojan je na varijanti bez đubrenja, a najveći (33,3) u varijanti dopunske ishrane NPK+AN. Razlike između varijanti đubrenja u broju zrna po biljci statistički su visoko značajne. Veći broj zrna po biljci (za samo 0,5) konstatovan je u varijanti bez inokulacije semena. Evidentirana razlika je ispod granice statističke značajnosti.

Rezultate u kojima primena mikrobioloških đubriva utiče na povećanje broja zrna po biljci ističi Milić i sar. (2004). U istraživanjima Dozet i sar. (2017) tretmani sa đubrenjem pokazuju pozitivan uticaj na povećanje broja zrna po biljci, ali nedovoljno da bi bilo i statistički značajno.



Tabela 2. Uticaj đubrenja i inokulacije semena na broj zrna po biljci  
 Table 2. Effect of fertilization and seed inoculation on the number of grains per plant

Varijanta đubrenja (A) Variant of fertilization	Inokulacija semena (B) – Seed inoculation		Prosek Average	Indeks (%) Index
	Bez inokulacije Without inoculation	Sa inokulacijom With inoculation		
Kontrola	23,9	26,7	25,3	100,0
NPK	31,6	33,3	32,5	128,0
AN	28,9	27,6	28,3	111,9
NPK+AN	36,0	30,6	33,3	131,1
Prosek Average	30,1	29,6	29,8	-
Indeks (%) Index	100,0	98,3	-	-

LSD	A	B	BxA	AxB
0,05	0,20	0,52	1,04	0,76
0,01	0,29	0,73	1,46	1,07

**Prinos zrna**

Rezultati naših istraživanja pokazuju da je, u proseku za ispitivane faktore, prinos zrna pasulja iznosio 1,62 t ha<sup>-1</sup> (Tabela 3).

Tabela 3. Uticaj đubrenja i inokulacije semena na prinos zrna (t ha<sup>-1</sup>)  
 Table 3. Effect of fertilization and seed inoculation on the grain yield (t ha<sup>-1</sup>)

Varijanta đubrenja (A) Variant of fertilization	Inokulacija semena (B) – Seed inoculation		Prosek Average	Indeks (%) Index
	Bez inokulacije Without inoculation	Sa inokulacijom With inoculation		
Kontrola	1,36	1,43	1,40	100,0
NPK	1,72	1,97	1,85	132,1
AN	1,53	1,51	1,52	108,6
NPK+AN	1,85	1,61	1,73	123,6
Prosek Average	1,62	1,63	1,63	-
Indeks (%) Index	100,0	100,6	-	-

LSD	A	B	BxA	AxB
0,05	0,04	0,04	0,08	0,07
0,01	0,06	0,06	0,12	0,10

U proseku za varijante inokulacije semena, pojačanom dopunskom ishranom biljaka pasulja prinos zrna se povećavao. U odnosu na kontrolu (tretman bez

đubrenja) povećanje se kretalo od 0,12 t ha<sup>-1</sup> (u varijanti sa prihranjivanjem samo azotom) do 0,45 t ha<sup>-1</sup> (u varijanti primene NPK đubriva startno). Razlike u prinosu zrna između varijanti đubrenja statistički su visoko signifikantne. U proseku za varijante đubrenja, između tretmana sa i bez inokulacije semena kvržičnim bakterijama nije utvđena statistički značajna razlika u prinosu zrna pasulja.

Fiksacija azota kvržičnim bakterijama ne obezbeđuje uvek biljku pasulja sa azotom u količini dovoljnoj za visok prinos zrna. Sa dodatkom mineralnih azotnih đubriva opada broj kvržica nastalih sa inokulisanim sojevima, a povećava se broj kvržica sa autohtonim sojevima iz zemljišta (Vargas et al., 2000). Inokulaciju je potrebno izvršiti ako u zemljištu postoji nivo nitratnog azota u količini 22,5 kg ha<sup>-1</sup> ili manje, a ako je količina veća od toga nije potrebno inokulisati seme.

### Zaključak

Na osnovu rezultata naših ispitivanja obavljenih u agrekološkim uslovima Šumadije mogu se izvesti sledeći zaključci:

Na parametre produktivnosti pasulja snažniju uticaj ispoljen je od strane đubrenja mineralnim hranivima u poređenju sa inokulacijom semena kvržičnim bakterijama. U odnosu na varijantu bez đubrenja, pojačanom dopunskom ishranom mineralnim đubrivima broj mahuna po biljci povećan je od 27,9% (AN) do 52,9% (NPK+AN), broj zrna po biljci od 11,9% (AN) do 31,1% (NPK+AN), kao i prinos zrna od 8,6% (AN) do 32,1% (NPK).

Najveći prinos zrna pasulja (1,97 t ha<sup>-1</sup>) postignut je u kombinaciji primene NPK đubriva startno i inokulacije semena. Ovo je ujedno i naša preporuka proizvođačima pasulja kod izbora sistema đubrenja na zemljištu tipa gajnjača.

### Napomena

Istraživanja u ovom radu deo su projekata TR 31006 i TR 31078 koje finansira Ministarstvo prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije.

### Literatura

- Aleksić Ž., Aleksić D., Marinković N. (1996): 50 godina Centra za povrtarstvo (1946-1996). Institut za istraživanja u poljoprivredi „Srbija“, Beograd.
- Dozet G., Cvijanović G., Milenković S., Ninkov N., Kostov Lj., Kaluderović D. (2017): Komponente prinosa pasulja u zavisnosti od primene guanita i mikrobioloških đubriva. XXII Savetovanje o biotehnologiji, Zbornik radova, Knjiga 1, 69-74.
- Đurovka, M. (1982): Uticaj sorte i đubrenja na dinamiku NPK i Ca na prinos boranije. Doktorska disertacija, Poljoprivredni fakultet, Novi Sad.
- Glamočlija, Đ. (2012): Posebno ratarstvo, žita i zrnene mahunarke. Draganić, Beograd.

- Milić V., Vasić M., Marinković J. (2003): Uticaj inokulacije i đubrenja na efektivnost azotofiksacije kod pasulja. Zbornik radova, Naučni Institut za ratarstvo i povrtarstvo, Novi Sad, Sv. 39, 21-29.
- Milić V., Jarak M., Mrkovački N., Milošević N., Govedarica M., Đurić S., Marinković J. (2004): Primena mikrobioloških đubriva i ispitivanje biološke aktivnosti u cilju zaštite zemljišta. Zbornik radova, Naučni Institut za ratarstvo i povrtarstvo, Novi Sad, Sv. 40, 153-169.
- Molnar I., Milošev D., Sekulić P. (2003): Agroekologija. Novi Sad.
- Moss G. I., Murhaed W. A. (1983): Agronomic Assessment of snapbeans (*Phaseolus vulgaris* L.) in a warm. J. Agri. Sci., 101, No 3., 657-667.
- Vargas M. A., Ieda C., Mendes M. H. (2000): Response of field-grown bean *Phaseolus vulgaris* L. to Rhizobium inoculation and nitrogen fertilization in two Cerrados soil. Biol. Fertil Soil, 32: 228-233.
- Wani S. P., Rupela, O. P., Lee K. K. (1994): BNF Technology for Sustainable Agriculture in the Semi-Arid Tropics. 15<sup>th</sup> World Congress of Soil Science, Acapulco, 4a, 245-262.
- Statistički godišnjak Republike Srbije (2018): www.stat.gov.rs

## FERTILIZATION AND SEED INOCULATION IN THE FUNCTION OF STABLE BEAN PRODUCTION

Ljubiša Živanović<sup>1</sup>, Ljubiša Kolarić<sup>1</sup>, Jela Ikanović<sup>1</sup>, Jelena Golijan<sup>1</sup>, Ljubica Šarčević-Todosijević<sup>2</sup>, Vera Popović<sup>3</sup>

### Abstract

This paper examined the effect of NPK fertilization, nitrogen fertilization, and seed inoculation by nodule bacteria on the yield and grain yield components of beans. The field microexperiment was performed under the agro-ecological conditions of central Šumadija and on the brown forest soil type (Eutric cambisol).

The obtained results showed significant differences in number of pods, number of grains and grain yield between the tested fertilization treatments. On the contrary, seed inoculation did not have a significant effect on the observed productivity parameters of beans.

**Key words:** nitrogen fixation, fertilization, beans, grain yield.

---

<sup>1</sup>University of Belgrade, Faculty of Agriculture, Nemanjina 6, 11080 Zemun, Serbia (ljuba@agrif.bg.ac.rs);

<sup>2</sup> High Medical-sanitary School of Professional Studies “Visan”, Tošin bunar, 7a, 11080 Zemun, Belgrade, Serbia;

<sup>3</sup>Institute of Field and Vegetable Crops, Maksima Gorkog 30, 21000 Novi Sad, Srbija.



## KVALITATIVNE VREDNOSTI ETERIČNOG ULJA SMILJA (*Helichrysum italicum*) U ODNOSU NA RAZVOJNU FAZU

Nezir Tanović<sup>1</sup>, Svetlana Hadžić<sup>2</sup>, Alma Mićijević<sup>3</sup>

**Izvod:** Analiza sadržaja i komponenti eteričnog ulja smilja (*Helichrysum italicum* (Roth.) G. Don) uzgajanog na području Mostara i Dubrava (Čapljina) obavljena je u različitim fazama razvoja smilja u toku 2018. godine. Za analizu je korišten sveži cvet *Helichrysum italicum* sa Hercegovačkog područja, a proces dobijanja eteričnog ulja je proveden parnom destilacijom. Ispitivanje komponenti dobijenog eteričnog ulja urađeno je metodom gasne hromatografije (GC-MS). U radu se daje pregled sadržaja (%) eteričnog ulja biomase smilja u različitim fazama cvetanja (butonizacija, pred cvetanje, puno cvetanje, kraj cvetanja) i sadržaj komponenti ulja sa lokaliteta Dubrave (Čapljina). Najveći sadržaj eteričnog ulja zabeležen je u razvojnoj fazi punog cvetanja (0,31%) na lokalitetu Dubrave, a najmanji u razvojnoj fazi butonizacije (0,10%) na lokalitetu Mostar. Glavni sastojci analiziranog eteričnog ulja su:  $\alpha$ -pinen, neril-acetat,  $\alpha$ -kopaen,  $\beta$ -caryophyllen, limonen i nerol.

**Ključne reči:** smilje, faze razvoja, eterično ulje, destilacija, kvalitet ulja.

### Uvod

Uzgoj lekovitih biljnih vrsta u Hercegovini, a posebno racionalna eksploatacija, ima dugu tradiciju. Kvalitet lekovitog bilja na području Hercegovine je iznad prosečnih vrednosti u odnosu na većinu drugih proizvodnih područja BiH. Proizvodnja eteričnih ulja i njihov sastav uglavnom zavisi od kombinacije genetskih faktora, uslova uzgoja, klimatskih elemenata, te primenjene tehnike ekstrakcije (Pohajda i sar., 2015). Cilj rada je bio utvrđivanje optimalne razvojne faze lekovite biljne vrste smilja (*Helichrysum italicum*) za izolaciju eteričnog ulja procesom destilacije i određivanje kvaliteta eteričnog ulja metodom gasne hromatografije. Podataka o istraživanju navedenih parametara na području Hercegovine je vrlo malo i uglavnom se odnose na prinos biomase smilja. Cvet smilja sadrži malo eteričnog ulja (manje od 0,5%), što znači da je za proizvodnju jednog litra eteričnog ulja potrebno ubrati 1000 kg cvetova smilja u razvojnoj fazi punog cvetanja (Pohajda i sar., 2015.). Glavni spojevi eteričnog ulja smilja su:  $\alpha$ -pinen, neril-acetat,  $\alpha$ -kopaen,  $\beta$ -caryophyllen, limonen, nerol,  $\alpha$ -humulen.

<sup>1</sup> Univerzitet “Džemal Bijedić”, Agromediteranski fakultet, Mostar, Bosna i Hercegovina

<sup>2</sup> Univerzitet “Džemal Bijedić”, Agromediteranski fakultet, Mostar, Bosna i Hercegovina (svjetlana.hadzic@unmo.ba)

<sup>3</sup> Univerzitet “Džemal Bijedić”, Agromediteranski fakultet, Mostar, Bosna i Hercegovina

## Materijal i metode rada

Skupljanje biljnog materijala za analizu je počelo ručnom berbom cvetnih pupoljaka u fazama: butonizacija, pred cvetanje, puno cvetanje i precvetavanje. Berba je obavljena u ranim jutarnjim satima kada je koncentracija eteričnog ulja najviša. Biljni materijal je sušen u sušari na temperaturi od 40°C, nakon čega je odmah urađena destilacija, s obzirom da koncentracija eteričnog ulja smilja brzo opada nakon branja (Hand, 2008.). Izolacija ulja je obavljena na parnom destilatoru. Dobijeni rezultati o količini ulja se značajno razlikuju s obzirom na vrijeme berbe biljnog materijala, a razlike s obzirom na lokalitet su manje izražene. Analiza komponenti eteričnog ulja je urađena metodom gasne hromatografije.

Za hemijsku analizu biomase smilja uzeti su uzorci u različitim fazama razvoja (faza butonizacije, početak cvetanja, puno cvetanje, završetak cvetanja) sa lokaliteta Mostar i Dubrave (Čapljina) i ispitivani su sadržaj (%) i komponente eteričnog ulja.

## Rezultati istraživanja i diskusija

Sadržaji eteričnog ulja smilja (%) u različitim fazama cvetanja na dva lokaliteta u godini istraživanja prikazani su u tabeli 1.

Tabela 1. Sadržaj eteričnog ulja (%) smilja u različitim fazama cvetanja  
 Table 1. The content of essential oil (%) of immortelle in different stages of flowering

Lokalitet <i>Location</i>	Faze razvoja <i>Stages of flowering</i>	Godina 2018. <i>Year 2018.</i>	
		Datum <i>Date</i>	% eterična ulja <i>% essential oil</i>
Dubrave	butonizacija	12. 7.	0,12
Mostar		10. 7.	0,10
Dubrave	pred cvetanje	22. 7.	0,20
Mostar		20. 7.	0,26
Dubrave	puno cvetanje	29. 7.	0,31
Mostar		1. 8.	0,30
Dubrave	kraj cvetanja	16. 8.	0,17
Mostar		19. 8.	0,20

Procenat eteričnog ulja u biomasi smilja u razvojnoj fazi butonizacije je bio značajno niži u odnosu na fazu punog cvetanja na oba lokaliteta (0,12% i 0,10%). U razvojnoj fazi početka cvetanja na lokalitetu Mostara procenat eteričnog ulja bio je također niži (0,26%), a na lokalitetu Dubrava (0,20%) u odnosu na fazu punog cvetanja. Najveći sadržaj (%) ulja zabeležen je u biomasi smilja u fazi punog cvetanja na lokalitetu Dubrava (0,31%), a na lokalitetu Mostara je bio niži (0,30%). Prelaskom iz faze punog cvetanja u fazu završetka cvetanja procenat eteričnog ulja se smanjivao i iznosio je 0,17% - Dubrave i 0,20% - Mostar.

Komponente eteričnog ulja su ispitivane na gasnom hromatografu u različitim fazama cvatnje sa lokaliteta Dubrave (Čapljina):

A - faza pred cvetanje (12. 7. 2018.)

B - faza punog cvetanja (22. 7. 2018.)

C - faza kraja cvetanja (16. 8. 2018.)

Tabela 2. Komponente eteričnog ulja smilja (%) u različitim fazama cvetanja  
*Table 2. Components of essential oils (%) of immortelle in different stages of flowering*

Komponente <i>Components</i>	A – početak cvetanja <i>A – start of flowering</i> %	B - puno cvetanje <i>B - full flowering</i> %	C - kraj cvetanja <i>C – end of flowering</i> %
α -pinen	13,25	21,32	19,88
α-fenhen	0,25	0,46	0,39
β-pinen	0,11	0,17	0,20
1,8-cineol	0,17	0,26	0,24
p-cimen	0,14	0,32	0,25
limonen	2,19	3,91	2,98
γ-terpinen	0,19	0,30	0,29
α -terpinen	0,04	0,09	0,10
β-caryophyllen	3,78	4,51	3,65
α-humulen	0,59	0,84	0,81
nerol	0,47	1,15	1,05
neril acetat	6,49	10,62	9,87
α -kopaen	2,68	4,19	3,99
italicen	0,91	1,21	1,25
isoitalicen	5,40	6,25	6,39

Najveći sadržaj komponenti ulja je zabeležen u fazi punog cvetanja. Komponenta u eteričnom ulju smilja sa najvećim procentom je α-pinen (21,32%) u odnosu na druge komponente. Prosečan sadržaj iznosi 8,8 - 27,2% (Politeo, 2003). Sadržaj drugih komponenti bitnih za farmaceutsku industriju varira. Značajan je sadržaj neril-acetata (10,62%) koji pokazuje kvalitet smilja sa ovih prostora. Prosečan sadržaj ovog jedinjenja je iznosio 5,8 - 20,8% (Politeo, 2003). Sadržaj β-caryophyllena je bio 4,51%, a prosečan sadržaj u istraživanjima Politeo (2003.) je iznosio 3,4 - 6,7%. Sadržaj limonena je iznosio 3,91%, prosek prema Politeo (2003.) je 3,0-6,2%.

Istraživanja eteričnog ulja smilja koja su rađena na području zapadne Hercegovine (lokalitet Ljubuški) iz 1995. godine pokazuju slične rezultate u pogledu sadržaja eteričnog ulja koji je na navedenom lokalitetu iznosio 0,32%. Sadržaj komponenti ulja se značajno razlikovao, procentualno su bile više zastupljene i iznosile su: α-pinen 25,18%, neril acetat 13,51%, nerol 2,43%. (Blažević i sar., 1995.).

## Zaključak

Analiza eteričnog ulja smilja (*Helichrysum italicum*) u toku 2018. godine na lokalitetima Mostar i Dubrave (Čapljina) pokazala je razlike u pogledu sadržaja ulja zavisno od razvojne faze cvetanja. Manje razlike u sadržaju ulja se ispoljavaju zavisno od lokaliteta uzgoja, s obzirom da su agroekološki uslovi na obe lokacije približnih vrednosti. Prelaskom iz butonizacije u puno cvetanje sadržaj eteričnog ulja se povećava, a prelaskom u fazu kraja cvetanja količina eteričnog ulja se smanjivala. Najveća količina eteričnog ulja u smilju je zabeležena na lokalitetu Dubrava u razvojnoj fazi punog cvetanja (0,31%, a najmanji sadržaj zabeležen je u fazi butonizacije na lokalitetu Mostar (0,10%).

Analiza komponenti eteričnog ulja smilja pokazuje da je ono bogat izvor biološki aktivnih sastojaka ( $\alpha$ -pinen, neril-acetat,  $\beta$ -caryophyllen, limonen) koji su na analiziranim lokalitetima bili u granicama prosečnih vrednosti. Zahvaljujući svom hemijskom sastavu i kvaliteti opravdana je njegova velika primena u hemijskoj, farmaceutskoj i drugim prerađivačkim industrijama.

## Literatura

Blažević N., Petričić J., Stanić G., Maleš Ž: (1995.). Variations in yields and composition of immortelle (*Helichrysum italicum*, Roth Guss.) essential oil from different locations and vegetation periods along Adriatic coast. Farmaceutsko-biohemijski Fakultet Sveučilišta u Zagrebu. Acla Pharm. 45 (1995.) 517-522

Hand, S.S., Khanuja S.P.S., Longo G., Rakesh D.D. (2008): Extraction technologies for Medicinal and Aromatic Plants, International centre for science and high technology, Trieste

Pohajda I., Dragun G., Visković L. (2015.). Ljekovito i aromatično bilje, Savjetodavna služba, Zagreb

Politeo O. (2003). Sezonske varijacije kemijskog sastava i biološka aktivnost eteričnog ulja smilja, *Helichrysum italicum* (Roth) G. Don. Magistarski rad, Prirodoslovno matematički fakultet Zagreb



## QUALITATIVE VALUES OF IMMORTELE (*Helichrysum italicum*) ESSENTIAL OIL RELATED TO PLANT- GROWTH PHASE

Nezir Tanović<sup>1</sup>, Svetlana Hadžić<sup>2</sup>, Alma Mičijević<sup>3</sup>

### Abstract

Breakdown of immortelle essential oil content and its components (*Helichrysum italicum*) which was open-grown in the region of Mostar and Dubrave (Čapljina) has been performed from the plant in a different plant-growth stages in 2018. Aerial parts of *Helichrysum italicum* from Herzegovina region were collected during flowering period. Percentage and quality of essential oil obtained from the immortelle fresh biomass was researched during different flowering phases. The research paper gives an overview of essential oil content (%) derived from the immortelle biomass in the several plant-grown phases and gained through steam distillation, as well as the overview of its quality, respectively substances of its components from the plant cultivation sites gained through gas chromatography. The highest concentration of essential oil was noted as obtained during plant-growth phase of full blooming intensity (0,31%) - location Dubrave (Čapljina) and the lowest concentration was obtained in the phase of flower buds (0,10%) – location Mostar. The main ingredients of the analysed essential oil are  $\alpha$ -pinen, neril-acetat,  $\alpha$ -kopaen,  $\beta$ -caryophyllen, limonen and nerol.

**Key words:** immortelle, plant-growth phases, essential oil, steam distillation, quality of essential oil.

---

<sup>1</sup> University “Džemal Bijedić”, Agromediterranean Faculty, Mostar, Bosnia & Herzegovina

<sup>2</sup>University “Džemal Bijedić”, Agromediterranean Fakultety, Mostar, Bosnia & Herzegovina (svjetlana.hadzic@unmo.ba)

<sup>3</sup> University “Džemal Bijedić”, Agromediterranean Faculty, Mostar, Bosnia & Herzegovina



## GAJENJE LUPINE I SOJE NA KISELOM ZEMLJIŠTU

*Dalibor Tomić<sup>1</sup>, Vladeta Stevović<sup>1</sup>, Dragan Đurović<sup>1</sup>, Miloš Marijanović<sup>1</sup>,  
Jasmina Knežević<sup>2</sup>, Milomirka Madić<sup>1</sup>*

**Izvod:** Cilj rada je bio da se na kiselom zemljištu u agroekološkim uslovima Centralne Srbije analizira i izvrši uporedna analiza mogućnosti gajenja soje i bele lupine. Poljski ogled je postavljen 2018. godine u Čačku na zemljištu tipa lesivirana smonica, kisele reakcije (pH H<sub>2</sub>O = 4,8). Eksperiment je postavljen po potpuno slučajnom blok sistemu u tri ponavljanja sa veličinom elementarne parcele 4,5m<sup>2</sup>. Korišćene su sorte soje Selenia i Lidija, sorte bele lupine Ghana i Timiryazevsky. Setva je obavljena na rastojanju od 45x5 cm. Sorte soje su u pogledu prinosa krme i zrna pokazale znatno bolje rezultate u odnosu na sorte bele lupine. Osnovni razlog za ovakve rezultate su vrlo specifični uslovi u 2018. godini, pre svega u pogledu količine i rasporeda padavina. Sorte soje i bele lupine se među sobom nisu značajno razlikovale u prinosu krme i zrna.

**Ključne reči:** kiselu zemljište, lupina, prinos, soja

### Uvod

U savremenoj poljoprivrednoj proizvodnji soja (*Glycine hispida* Max.) ima značajnu ulogu. Veliki značaj soji, pre svega daje hemijski sastav zrna, u kome se nalazi 40% proteina i oko 20% ulja. Zbog mogućnosti upotrebe celog zrna, kao i njegovih proteina i ulja, soja nalazi veliku primenu, ne samo u prehrambenoj, već i u drugim granama industrije (Miladinović i sar., 2008). Površine pod sojom u svetu iznose oko 123,5 miliona ha (FAOSTAT, 2017), sa prosečnim prinosom od 2,85 t ha<sup>-1</sup>. Najveći proizvođač je Amerika sa 87,1% (Popović i sar., 2012). U 2017. godini površine pod sojom u Srbiji su bile 157 687 ha, sa prosečnim prinosom od 2,23 t ha<sup>-1</sup> (FAOSTAT, 2017).

Najozbiljniji limitirajući faktor za gajenje soje u uslovima Centralne Srbije je stres izazvan sušom, naročito u vreme cvetanja (Popović i sar., 2016), kao i loši zemljišni uslovi. Prema Eriću i sar. (2007), zemljišta sa nižim pH vrednostima od 5 nisu pogodna za gajenje soje. Imajući u vidu rastuću potrebu za sojom, i ograničeni areal njenog rasprostranjenja, u svetu raste interesovanje za mogućnošću gajenja soje u manje povoljnim uslovima. Takođe, u regionima gde su manje povoljni uslovi za gajenje soje, razmatraju se mogućnosti gajenja durgih alternativnih krupnozrnih leguminoza kao što su lupine.

Rod *Lupinus* obuhvata nekoliko stotina vrsta, koje se u svetu uzgajaju na površinama oko milion hektara (Mihailović i sar., 2007). Bela lupina (*Lupinus albus*

<sup>1</sup>Univerzitet u Kragujevcu, Agronomski fakultet u Čačku, Cara Dušana 34, Čačak, Srbija, [dalibort@kg.ac.rs](mailto:dalibort@kg.ac.rs);

<sup>2</sup>Univerzitet u Prištini, Poljoprivredni fakultet, Kopaonička bb, 38219, Lešak, Srbija.

L.) se može koristiti za ishranu domaćih životinja kao zelena stočna hrana ili zrno. Razlog za obnovu zanimanja za uvođenjem bele lupine u Srbiji jeste visok sadržaj sirovih proteina u suvoj materiji zrna (skoro 400 g kg<sup>-1</sup>), čineći je mogućim dodatkom sojinom brašnu u ishrani domaćih životinja (Mikić et al., 2010). Sadržaj amino kiselina u zrnu bele lupine je sličan kao kod soje, dok je sadržaj arginina veći (Yang et al., 2007).

Cilj rada je bio da se analizira mogućnost gajenja soje i bele lupine u agroekološkim uslovima Čačka, na lesiviranoj smonici kisele reakcije.

### Materijal i metode rada

Poljski ogled je postavljen 2018. godine u Čačku (43°54'39.06" H, 20 °19'10.21" E. 246 m n.v) na zemljištu tipa lesivirana smonica, kisele reakcije (pH H<sub>2</sub>O = 4,8), koje sadrži 3,2% organskih materija, 0% CaCO<sub>3</sub>, 22,08 mg P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>, 30,0 mg K<sub>2</sub>O na 100 g zemljišta. Osnovna obrada zemljišta je izvršena oranjem na dubini od 30 cm, a predsetvena priprema freziranjem na dubini od 10 cm. Pre setve, u zemljište je uneto 300 kg ha<sup>-1</sup> N<sub>15</sub>P<sub>15</sub>K<sub>15</sub>.

Ekspiriment je postavljen po potpuno slučajnom blok sistemu u tri ponavljanja sa veličinom elementarne parcele 4,5 m<sup>2</sup>. Za analizu su korišćene dve sorte soje, Selena i Lidija, selekcionisane u Institutu za kukuruz Zemun Polje i dve sorte bele lupine Ghana i Timiryazevsky (Ruske sorte). Setva je obavljena na rastojanju 45 cm međuredno, sa razmakom u redu od 5 cm. Usev je gajen bez primene navodnjavanja.

Srednja temperatura u 2018. godini u periodu gajenja soje (mart-avgust) je bila 16,6 °C, a ukupna količina padavina u istom periodu je iznosila 716 mm (Tabela 1.). U 2018. godini je zabeležen sušni period od marta do maja, kao i period sa velikom količinom padavina u junu i julu.

Tabela 1. Srednje mesečne temperature (T) i suma padavina (P) po mesecima u toku perioda gajenja soje i lupine u 2018. godini

*Table 1. Average monthly temperatures (T) and precipitation sum (P) by months during the soybean and lupine cultivation period in 2018*

	Mart	April	Maj	Jun	Jul	Avgust
	<i>March</i>	<i>April</i>	<i>May</i>	<i>June</i>	<i>July</i>	<i>August</i>
T (° C)	5,8	15,1	16,4	19,7	20,8	22,0
P (mm)	165	18,0	56,0	198	248	31,0

U toku vegetacije, analiziran je intenzitet rasta useva od setve do cvetanja, od početka cvetanja do kraja cvetanja i od kraja cvetanja do žetve (u kg ha<sup>-1</sup> dan<sup>-1</sup>, na uzorku od 15 biljaka po ponavljanju).

Prinos zelene mase je analiziran u fazi početka cvetanja (t ha<sup>-1</sup>), na osnovu prosečne mase biljaka i broja biljaka m<sup>-2</sup>.

Nakon žetve su analizirani sledeći parametri: broj mahuna  $m^{-2}$ , broj zrna  $m^{-2}$ , žetveni indeks (na uzorku od 25 biljaka), prinos zrna  $t ha^{-1}$  (na osnovu prinosa sa celokupne parcele), i ukupan prinos suve materije u punoj zrelosti ( $kg ha^{-1}$ ).

Dobijeni rezultati su obrađeni metodom analize jednofaktorijskog ogleada (ANOVA), upotrebom SPSS 4,5 softvera. Značajnost razlike srednjih vrednosti tretmana testirana je LSD testom.

## Rezultati istraživanja i diskusija

Generalno posmatrano, na kiselom zemljištu, u 2018. godini, koja je bila specifična po količini i rasporedu padavina, sorte soje su pokazale značajno bolje rezultate za proizvodnju zrna i biomase u odnosu na sorte lupine. Soja je imala značajno veći intenzitet rasta, naročito u fazi od početka do kraja cvetanja (Tabela 3.) i ostvarila je prinos zrna od 3,88-4,65  $t ha^{-1}$  (Tabela 2.), dok je prinos zrna lupine bio višestruko manji (0,689-0,694  $t ha^{-1}$ ). Jedan od razloga ovako velikih razlika u prinosu između soje i lupine su upravo specifični meteorološki uslovi u 2018. godini. U vreme i nakon setve (mart – maj), zabeležen je jako sušni period (Tabela 1.). Čak i u takvim uslovima, lupina je uspela da klija, nikne i da procveta, mada su biljke bile jako slabe i iscrpljene usled nedostatka vode. Za to vreme seme soje je mirovalo, odnosno nije došlo do njegovog nicanja. U junu je nastupio period sa obilnim i učestalim padavinama, što je uz optimalne temperature pogodovalo razvoju soje. Ona je za vrlo kratko vreme klijala nikla i veoma intenzivno rasla, tako da je uspela da formira veliku nadzemnu masu. S obzirom da je vlažni period potrajao i u julu, on je pogodovao oprašivanju i oplodnji, tako da je formiran veliki broj mahuna i zrna, a suvo i toplo vreme u avgustu je pogodovalo zrenju, što je na kraju i rezultiralo zadovoljavajućim prinosima. Nasuprot soji, lupina koja je bila već iscvetala u suvim uslovima, nije u velikoj meri reagovala na vlažne uslove, te je prinos ostao nizak. Nenadić i sar. (1993) navode da u zavisnosti od količine padavina u julu i avgustu, soja je postizala prinos od 2-4,5  $t ha^{-1}$ . Kolarić (2016) navodi da je na černozemu soja ostvarila prinos od 4,941  $t ha^{-1}$ , dok je na gajnjači prinos bio manji i iznosio je 2,61  $t ha^{-1}$ . Popović i sar. (2016) navode da je prosečan prinos sorte u okolini Pančeva na karbonatnom černozemu iznosio 2,704  $t ha^{-1}$ . Upoređujući dobijene rezultate u ovom ogledu i rezultate drugih autora, može se zaključiti da se i na kiselom zemljištu mogu dobiti zadovoljavajući rezultati u pogledu prinosa zrna soje, a da veći uticaj na prinos zrna od tipa zemljišta imaju klimatski uslovi na lokalitetu.

Vučković (1999) navodi da je prinos suve materije kod soje iznosio 5,31  $t ha^{-1}$ . To ukazuje da je u našem eksperimentu postignut zadovoljavajući prinos suve materije, i ako se radi o kiselom zemljištu (Tabela 2.). Cvijović (2015) navodi da je na černozemu prosečni žetveni indeks kod soje iznosio 43%, što je nešto više u odnosu na naš eksperiment.

Između sorti lupine nisu zaveležene značajne razlike u pogledu prinosa i komponenti prinosa zrna (Tabela 2.). Kod soje, značajno veći broj zrna  $m^{-1}$  i prinos suve materije po jedinici površine je imala sorta Selenia u odnosu na sortu Lidija.

Tabela 2. Komponente prinosa i prinos zrna i krme sorti soje i lupine  
*Table 2. Yield components and grain yields and forage of soybean and lupine cultivars*

Sorta	Broj mahuna m <sup>-1</sup> <i>Pods number m<sup>-1</sup></i>	Broj zrna m <sup>-1</sup> <i>Grain number m<sup>-1</sup></i>	Prinos zrna <i>Grain yield (t ha<sup>-1</sup>)</i>	Prinos krme <i>Forage yield (t ha<sup>-1</sup>)</i>	Prinos SM <i>Yield of dry matter (t ha<sup>-1</sup>)</i>	Žetveni indeks <i>Harvest index (%)</i>
Selena	1165	10056	4,65	8056	9659	41,97
Lidija	1179	8490	3,88	8269	8944	37,44
ANOVA 0,05	ns	*	ns	ns	*	ns
Ghana	114	1369	0,689	954	1,78	36,1
Timiryazevsky	125	1604	0,694	1522	3,06	26,6
ANOVA 0,05	ns	ns	ns	ns	ns	ns

Značajno veći intenzitet porasta u periodu od nicanja do početka cvetanja je imala takođe sorta selena u odnosu na sortu lidija (Tabela 3.). Keserović (2016) navodi da je prosečni intezitet rasta soje na karbonatnom černoizmu u periodu od setve do žetve iznosio 135 kg ha<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup>. Upoređujući ovo sa našim rezultatima, može se zaključiti da tip zemljišta nije imao presudnu ulogu na intenzitet rasta soje.

Sorte lupine se među sobom nisu značajno razlikovale prema intenzitetu porasta.

Tabela 3. Intenzitet rasta useva (kg ha<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup>)  
*Table 3. Crop growth intensity (kg ha<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup>)*

Sorta <i>Cultivar</i>	Do cvetanja <i>Until to flowering</i>	Cvetanje <i>Flowering</i>	Posle cvetanja <i>After flowering</i>
Selena	26,94	202	57
Lidija	14,84	235	43
ANOVA 0,05	*	ns	ns
Ghana	12,8	21,9	10,5
Timiryazevsky	22,5	30,2	19,4
ANOVA 0,05	ns	ns	ns

### Zaključak

Iz navedenog eksperimenta, na bazi jednogodišnjih istraživanja, može se zaključiti da su sorte soje pokazale znatno bolje rezultate u analiziranim uslovima u odnosu na sorte bele lupine. Odnosno, istraživanja ukazuju da se soja može uspešno gajiti na kiselom zemljištu lošijeg mehaničkog sastava uz povoljne meteorološke uslove, odnosno uz održavanje dovoljne vlažnosti u fazi cvetanja i zametanja plodova. Sorte soje se među sobom nisu značajno razlikovale u prinosu krme i zrna.

Sorte bele lupine Ghana i Timiryazevsky su ostvarile niske prinose zrna, krme i suve materije.

Mogući razlog za ovakve rezultate su vrlo specifični uslovi u 2018. godini, pre svega u pogledu količine i rasporeda padavina. Zbog toga bi istraživanja trebalo nastaviti i u nekim drugačijim ulovima, više karakterističnim za dato područje.

### Napomena

Rad je deo istraživanja na projektu TR-31016, finansiran od strane Ministarstva prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije.

### Literatura

- Cvijović M. (2015). Efekat niskofrekventnog elektromagnetnog polja, i bioloških komponenti na prinos i kavalitet u održivoj proizvodnji soje. Doktorska disertacija, Poljoprivredni fakultet u Beogradu.
- Erić P., Mihailović V., Čupina B., Mikić A. (2007). Soja. Jednogodišnje krmne mahunarke. 189-207.
- FAOSTAT (2017): <http://www.fao.org/faostat/en/#data>, 22.01.2020.
- Keserović B., Gajić B., Perić B., Dragović S. (2016). Uticaj režima navodnjavanja na prinos i kopponente prinosa soje. Institut za kukuruz Zemun Polje.
- Mihailović V., Mikić A., Čupina B. (2007). Potential of annual legumes for utilisation in animal feed ing. *Biotechnology in Animal Husbandry*. 23: 573-581.
- Mikić A., Mihailović V., Čupina B., Đorđević V., Stoddard F.L. (2010). Introduction of novel legume crops in Serbia: White lupin (*Lupinus albus*). *Ratarstvo i povrtarstvo*. 47(1): 21-26.
- Miladinović J., Đorđević V. (2008). Morfologija i faze razvoja soje. Institut za ratarstvo i povrtarstvo, Novi Sad i Sojaprotein, Bečej. str. 44-69.
- Nenadić N., Mišković M., Cvetković D. (1993). Iznalaženje racionalnog sistema đubrenja soje. Zbornik radova o unapređenju proizvodnje soje suncokreta i uljane repice, Aranadželovac. 95-109.
- Popović V., Miladinović J., Vidić M. (2012). Efekat navodnjavanja na prinos i kvalitet soje u organskom sistemu gajenja. Bilten za alternativne ratarske kulture. vol. 46, No 87.
- Popović V., Miladinović J., Vidić M., Đukić V., Čobanović L., Veselić J. (2016). Potencijal rodnosti NS-sorti soje u proizvodnom rejonu Srbije. XXX Savetovanje agronoma, veterinar, tehnologa i agroekonomista. 22(1-2): 19-29.
- SPSS 4.5 Inc. (1993). STATISTICA for Windows (Computer program manual). Tulsa. OK
- Vučković S. (1999). Soja. Krmno bilje. Institut za istraživanja u poljoprivredi, Nova Pazova. 140-145
- Yang Y.X., Kim Y.G., Heo S., Ohh S.J., Chae B.J. (2007). Effects of Processing Method on Performance and Nutrient Digestibility in Growing-finishing Pigs Fed Lupine Seeds. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.* 20(8): 1229-1235.

## LUPINE AND SOYBEAN CULTIVATION ON ACID SOIL

*Dalibor Tomić<sup>1</sup>, Vladeta Stevović<sup>1</sup>, Dragan Đurović<sup>1</sup>, Miloš Marijanović<sup>1</sup>,  
Jasmina Knežević<sup>2</sup>, Milomirka Madić<sup>1</sup>*

### Abstract

The aim of this work was to analyze and compare the possibility of cultivation soybean and white lupine on acid soil in agroecological conditions of Central Serbia. The field trial was set up in 2018 in Čačak on land of the type of lesivated vertisol, acid reaction (pH H<sub>2</sub>O = 4.8). The experiment was set up using a randomized block design with three replications with plot size 4,5 m<sup>2</sup>. Selena and Lidija soybean cultivars, and Ghana and Timiryazevsky white lupine cultivars were used. The sowing was done at a distance of 45x5 cm. In terms of grain and forage yield, soybean cultivars was showed significantly better results compared to the cultivars of white lupine. The main reason for these results are very specific conditions in 2018, especially in terms of quantity and distribution of precipitation. Soybean and white lupine cultivars among themselves, are not significantly different in yield of forage and grain.

**Key words:** acid soil, lupine, yield, soybean

---

<sup>1</sup>University of Kragujevac, Faculty of Agronomy, Cara Dušana 34, 32000 Čačak, Serbia, [dalibort@kg.ac.rs](mailto:dalibort@kg.ac.rs);

<sup>2</sup>University of Priština, Faculty of Agriculture, Kopaonička bb, 38219, Lešak, Serbia.



## ANALIZA STANJA POLJOPRIVREDNIH OBJEKATA U REPUBLICI SRBIJI

*Dušan Radivojević<sup>1</sup>, Biljana Veljković<sup>2</sup>, Ranko Koprivica<sup>2</sup>, Zoran Mileusnić<sup>1</sup>*

**Izvod:** Savremeni objekti u poljoprivredi sa adekvatnom opremom mogu značajno da doprinesu intenzivnom razvoju proizvodnje, pa je investiranje u ova osnovna sredstva neophodno. Analizom postojećeg stanja o broju poljoprivrednih objekata, njihovom raspoloživom kapacitetu, stepenu korišćenja i regionalnom razmeštaju, ukazuje se na tehničko tehnološke uslove proizvodnje. U cilju daljih investicija i opremanja gazdinstava u radu su dati raspoloživi kapaciteti i evidentirano je korišćenje postojećih objekata.

**Ključne reči:** štale, silosi, sušare, hladnjače, platenici, staklenici

### Uvod

U okviru mera ruralnog razvoja, a u cilju opremanja i modernizacije gazdinstava, usvojen je Pravilnik o podsticajima za opremanje objekata i unapređenje poljoprivredne proizvodnje (Službeni glasnik RS, broj 29/2018). Propisani su podsticaji i prava na povraćaj uloženi sredstava, koje mogu ostvariti poljoprivredni proizvođači ukoliko ispunjavaju uslove i konkurišu kod Uprave za agrarna plaćanja. Investiranje u objekte se može ostvariti uz finansijsku pomoć i kreditnu podršku Ministarstva poljoprivrede, IPARD Programa ili sličnih oblika podrške od strane lokalnih samouprava.

Građevinski objekti u poljoprivrednoj proizvodnji se mogu koristiti za različite namene (Radivojević, 2014). Pri analizi stanja objekata u poljoprivredi, u zavisnosti od njihovog korišćenja, razvrstani su na: objekte za potrebe stočarske proizvodnje; objekte za čuvanje i doradu poljoprivrednih proizvoda (sušare, ambari, koševi, silosi, objekti za silažu i hladnjače); objekte za smeštaj i čuvanje poljoprivredne mehanizacije; i objekte za proizvodnju u zaštićenom prostoru (staklenici i platenici).

### Materijal i metode rada

Za potrebe rada korišćeni su zvanični podaci Republičkog Zavoda za statistiku Srbije prema Popisu poljoprivrede iz 2012. godine. Evidentirani statistički podaci su obračunati od strane autora i dati su grafički prikazi dobijenih rezultata. Ovako urađena analiza o kapacitetima i korišćenju poljoprivrednih objekata može, poslužiti kao osnova za poređenje sa novim podacima iz popisa poljoprivrede koji predstoji.

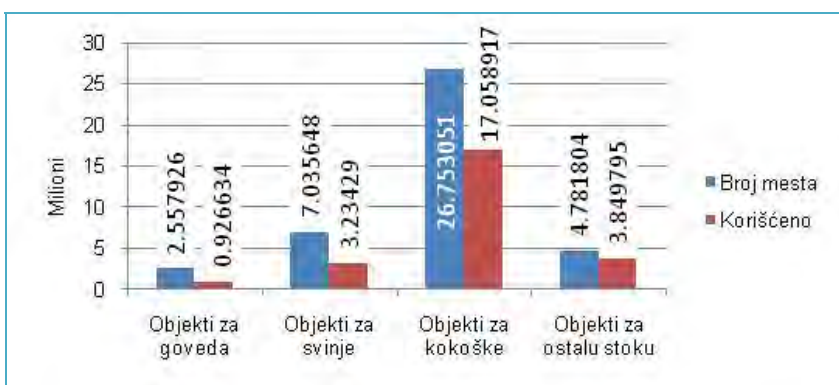
---

<sup>1</sup>Univerzitet u Beogradu, Poljoprivredni fakultet u Beogradu, Nemanjina 6, Zemun Beograd, Srbija ([rdusan@agrif.bg.ac.rs](mailto:rdusan@agrif.bg.ac.rs));

<sup>2</sup>Univerzitet u Kragujevcu, Agronomski fakultet u Čačku, Cara Dušana 34, Čačak, Srbija

## Rezultati istraživanja i diskusija

**Objekti za smeštaj stoke**, odnosno njihov ukupan broj (1.306.732), rezultat je zbira četiri grupe objekata: za **smeštaj goveda** (340.337), koji obuhvataju objekte za sve kategorije goveda (muzne krave, telad, junice i tovna junad), u obe varijante držanja goveda (vezani i slobodni sistem), kao i oba načina izdubravanja objekata (čvrstim i tečnim stajnjakom); za **smeštaj svinja** (507.031), koji obuhvataju sve kategorije (krmače, prasad, nazimice i tovna grla na punom, delimično rešetkastom i rešetkastom podu); za **smeštaj kokošaka nosilja** (305.427); za **smeštaj ostale stoke** (153.937). Kapaciteti ovih objekata su izraženi u broju mesta i njihovom korišćenju, prema popisu poljoprivrede u 2011/2012. godini, prikazani su u grafikonu 1.

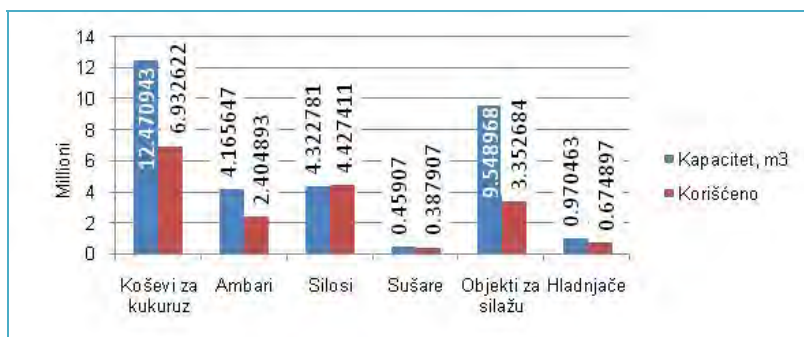


Graf. 1. Kapaciteti objekata za smeštaj stoke i korišćenje u Republici Srbiji  
 Graph 1. Capacities of livestock facilities on used in the Republic of Serbia

Korišćenje kapaciteta objekata za smeštaj stoke je znatno ispod raspoloživih kapaciteta. Najveća korišćenost je u grupi “Objekti za ostalu stoku” i iznosi 81%, a najmanja u grupi “Objekti za goveda”, 36%. Raspoloživi kapaciteti objekata za kokoške nosilje u godini popisa su korišćeni sa 64%, a objekata za svinje sa 46%.

**Objekti za čuvanje poljoprivrednih proizvoda** na gazdinstvu. U Republici Srbiji je evidentirano ukupno 554.314 i to: koševi za kukuruz 362.135, ambari 161.002, silosi 5.677, sušare 10.539, objekti za silažu 12.849 i hladnjače 2.162. Na grafikonu 2 su prikazani kapaciteti ovih objekata izraženi u m<sup>3</sup> i njihovo korišćenje u 2011/2012. godini.

Korišćenje raspoloživih kapaciteta objekata za skladištenje poljoprivrednih proizvoda se značajno razlikuje od vrste i namene objekata. Tako je kod objekata za silažu korišćenje u 2011/2012. godini bilo 35%, a kod silosa 102%. Veliko korišćenje raspoloživih kapaciteta je i kod sušara, 84%. Kod hladnjača je korišćenje raspoloživih kapaciteta iznosilo 70%, kod ambara 58,5%, a kod koševa za kukuruz 56%.

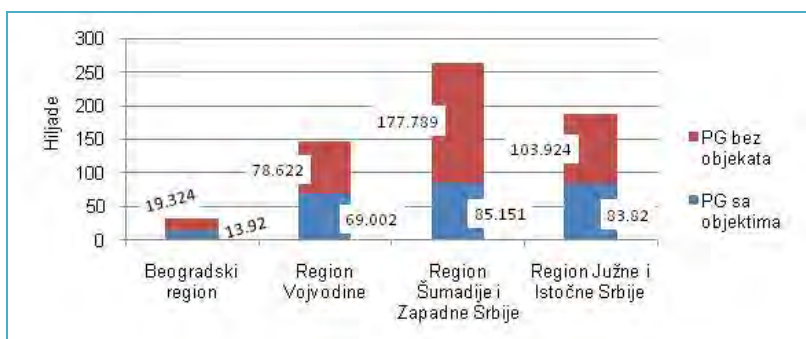


Graf. 2. Kapaciteti objekata za skladištenje poljoprivrednih proizvoda na gazdinstvu i njihovo korišćenje u m<sup>3</sup>

Graph. 2. Capacities of storage facilities for agricultural products on the farm and their used u m<sup>3</sup>

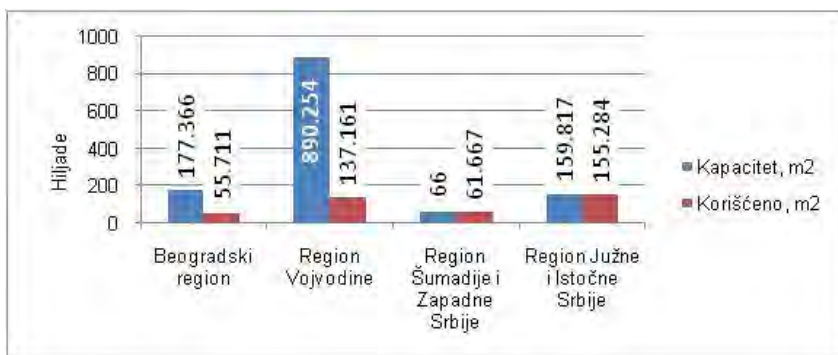
**Objekti za smeštaj poljoprivrednih mašina i opreme** u Republici Srbiji raspolažu ukupnim kapacitetom 13.682.916 m<sup>3</sup>. Od ovog kapaciteta u 2011./2012. godini je korišćeno preko 90%, ili 12.411.552 m<sup>3</sup>. Od ukupnog broja poljoprivrednih gazdinstava (631.152), njih 211.958 poseduje 251.893 objekta za smeštaj poljoprivrednih mašina i opreme. Gazdinstva koja poseduju ove objekte raspolažu prosečno sa 1,18 objekata. Istovremeno u Republici Srbiji ima 419.594, poljoprivredna gazdinstva, odnosno 66%, koja nemaju ni jedan objekat za smeštaj poljoprivrednih mašina i opreme. Sličan odnos je i po regionima (Grafikon 3.)

Korišćenje kapaciteta objekta za smeštaj poljoprivrednih mašina i opreme je na nivou oko 10% ispod raspoloživih kapaciteta. Na nivou Republike Srbije korišćenje raspoloživih kapaciteta u 2011./2012. godini je iznosilo 91%. Slično je i u regionima, sa malim razlikama. Najveće korišćenje raspoloživih kapaciteta je bilo u regionu Vojvodine, 94%, a najmanje u regionu Južne i Istočne Srbije, 89%. U Beogradskom regionu iznosilo je 90%, a u regionu Šumadije i Zapadne Srbije 89%.



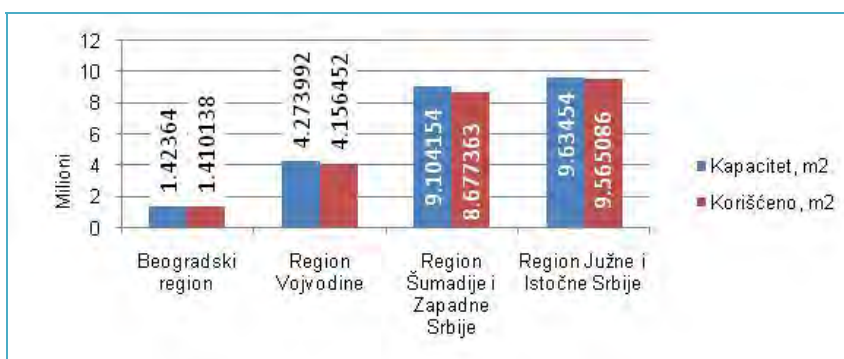
Graf. 3. Kapaciteti poljoprivrednih objekata za smeštaj poljoprivrednih mašina i opreme  
Graph. 3. Capacity of farm facilities to hold agricultural machinery and equipment

**Objekti za proizvodnju u zaštićenom prostoru - staklenici i platenici.** U Republici Srbiji evidentirano je da 42.248 poljoprivrednih gazdinstva poseduje 102.390 ovih objekata i to: 542 domaćinstva poseduje 898 staklenika i 41.706 gazdinstava poseduje 101.492 platenika. Njihov kapacitet zbirno iznosi 25.729.763 m<sup>2</sup>, od čega je u godini popisa korišćeno 24.218.862 m<sup>2</sup>, odnosno 94%.



Graf. 4. Kapaciteti staklenika i korišćenje po regionima  
 Graph. 4. Capacities of greenhouse (glasshouse) used by region

Uočljiva je značajna razlika u korišćenju raspoloživih kapaciteta staklenika i platenika (Grafikon 4 i 5). Na nivou Republike Srbije korišćenje raspoloživih kapaciteta platenika iznosilo je 97%, dok je kod staklenika to bilo svega 32%. Takođe se zapaža velika razlika u korišćenju kapaciteta staklenika među pojedinim regionima. Dok se u regionu Južne i Istočne Srbije korišćenje kreće na nivou 97%, u regionu Vojvodine je svega 15%. U regionu Šumadije i Zapadne Srbije iznosi 93%, a u Beogradskom regionu 31%.



Graf. 5. Kapaciteti platenika i korišćenje po regionima u m<sup>3</sup>  
 Graph. 5. Capacities of greenhouse (plastic house) used by region u m<sup>3</sup>

Za razliku od staklenika, kod plastenika je vrlo ujednačeno korišćenje u odnosu na raspoložive kapacitete po regionima i kreće se od 95% u regionu Šumadije i Zapadne Srbije, preko 97% u regionu Vojvodine pa do 99% u regionu Južne i Istočne Srbije i Beogradskom regionu.

### Zaključak

Raspoloživi kapaciteti objekata za smeštaj stoke u Republici Srbiji prema popisu u 2011/2012. godini korišćeni su prosečno 61%. Najmanje su korišćeni kapaciteti objekata za smeštaj goveda (36%), a najviše objekti za smeštaj ostale stoke (81%).

Od registrovanih poljoprivrednih gazdinstava 631.552, manje od polovine tj. 40% poseduje objekte za smeštaj mašina i opreme (251.893). Ukupni smeštajni kapaciteti iznose 13.682.916 m<sup>2</sup>, odnosno, prosečno, 22 m<sup>2</sup> po gazdinstvu ili 54 m<sup>2</sup> po gazdinstvu koje poseduje objekte za smeštaj.

Evidentirano je da u Republici Srbiji 42.248 gazdinstava poseduju 102.390 plastenika i staklenika čiji je ukupni kapacitet 25.729.763 m<sup>2</sup>. Postoji velika razlika u korišćenju kapaciteta plastenika (97%) i staklenika (32%), tako da su u poljoprivrednoj proizvodnji i po regionima zastupljeniji plastenici.

### Napomena

Istraživanja u ovom radu deo su projekta TR 31051 finansiranog od strane Ministarstva za nauku i tehnološki razvoj Republike Srbije.

### Literatura

Dušan Radivojević (2014). Poljoprivredna mehanizacija oprema i objekti, ISBN 978-86-6161-111-7, COBISS.SR-ID 206984204 CIP 631.3 (497.11) “2012” (083.41), Zavod za statistiku Republike Srbije, Posebna publikacija - Monografska studija p.p. 1-154.

<https://pod2.stat.gov.rs/ObjavljenePublikacije/Popis2012/Poljoprivredna%20mehanizacija,%20oprema%20i%20objekti.pdf>

Popis poljoprivrede (2012). Poljoprivreda u Republici Srbiji knjiga I, Republički zavod za statistiku, Beograd 2013. <http://popispoljoprivrede.stat.rs/>

Popis poljoprivrede (2012). Poljoprivreda u Republici Srbiji knjiga II, Republički zavod za statistiku, Beograd 2013. <http://popispoljoprivrede.stat.rs/>

Službeni glasnik RS br. 29/2018 <https://www.paragraf.rs/glasila/rs/sluzbeni-glasnik-republike-srbije-29-2018.html>

Uprava za agrarna plaćanja, Ministarstvo poljoprivrede šumarstva i vodoprivrede Republike Srbije, <http://uap.gov.rs/>

---

## ANALYSIS OF THE STATE OF AGRICULTURAL FACILITIES IN REPUBLIC OF SERBIA

*Dušan Radivojević<sup>1</sup>, Biljana Veljković<sup>2</sup>, Ranko Koprivica<sup>2</sup>, Zoran Mileusnić<sup>1</sup>*

### Abstract

Modern agricultural facilities with adequate equipment can significantly contribute to the intensive development of production, so investing in these fixed assets is essential. The analysis of the current situation regarding the number of agricultural facilities, their available capacity, the degree of use and the regional distribution indicates the technical and technological conditions of production. In order to further invest and equip the farms, the available capacities were given in the article and the use of existing facilities was recorded.

**Key words:** barns, silos, dryer machines, cold storages, greenhouses

---

<sup>1</sup>Univerzitet u Beogradu, Poljoprivredni fakultet u Beogradu, Nemanjina 6, Zemun Beograd, Srbija ([rdusan@agrif.bg.ac.rs](mailto:rdusan@agrif.bg.ac.rs));

<sup>2</sup>Univerzitet u Kragujevcu, Agronomski fakultet u Čačku, Cara Dušana 34, Čačak, Srbija

## UTICAJ KLIMATSKIH PROMENA NA PRINOS JEČMA

*Vera Rajičić<sup>1</sup>, Dragan Terzić<sup>1</sup>, Vesna Perišić<sup>1</sup>, Vladimir Perišić<sup>2</sup>,  
Kristina Luković<sup>2</sup>, Marijana Dugalić<sup>1</sup>, Milomirka Madić<sup>3 1</sup>*

**Izvod:** Poljski ogled sa sortama Rekord, Maksa i Grand postavljen je na zemljištu tipa vertisol tokom vegetacionih sezona 2006-2010 godine. Cilj istraživanja je bio da se kod tri sorte ozimog ječma gajenih na kiselom zemljištu analizira prinos zrna. Najveće vrednosti prinosa zrna ustanovljene su u vegetacionoj 2007/08 godini (5.788 t ha<sup>-1</sup>). Prosečan petogodišnji prinos zrna kod ispitivanih sorti kretao se od 4.654 t ha<sup>-1</sup> do 5.207 t ha<sup>-1</sup>. Sorta Maksa imala je najveći prinos zrna. Na osnovu analize varijanse, može se zaključiti da postoje vrlo značajne razlike u prinosu zrna u odnosu na godinu ispitivanja.

**Ključne reči:** ozimi ječam, prinos, sorta

### Uvod

Ječam se u svetu gaji na površini od oko 47.5 miliona hektara, pri čemu ostvaruje prosečan prinos od 2.6 t ha<sup>-1</sup>. Po ukupnoj proizvodnji od 124 miliona tona ječam se među svim gajenim kulturama nalazi na petom mestu. Najveće površine pod ječmom su u Rusiji, Australiji, Ukrajini i Kanadi. U Srbiji ječam se gaji na 84.166 ha sa prosečnim prinosom 2,9 t ha<sup>-1</sup> (FAO, 2010).

Ječam se gaji širom sveta i koristi se kao važna komponenta u proizvodnji piva i slada, važna i kvalitetna komponenta u ishrani domaćih životinja, dok delimično se koristi u ishrani ljudi. Sorte ječma koje su bile u proizvodnji do kraja osamdesetih odlikovale su se nižim prinosima, dobrim tehnološkim kvalitetom i višom stabljikom osetljivijom na poleganje. Zbog slabije otpornosti na poleganje te sorte su se gajile na skromnijim zemljištima, zbog čega su imale i niže prinose (Bratković i sar., 2018.). Nove sorte se odlikuju dobrim tehnološkim kvalitetom, boljom otpornosti na poleganje i bolesti, kraćom stabljikom i efikasnijim korišćenjem asimilata (Bratković i sar., 2014.; Đekić i sar., 2019.).

Visina prinosa u velikoj meri zavisi od genetskog potencijala, koji se može definisati kao prinos sorte gajene u uslovima na koje je adaptirana, sa dovoljnim količinama vode i hraniva i efikasnom kontrolom štetočina, bolesti, korova i drugih stresova (Przulj i sar., 2014.; Bratković i sar., 2018.; Đekić i sar., 2019.; Madić i sar., 2019.). S obzirom da se ne mogu predvideti spoljašnji uslovi za proizvodnju semena u određenom području, veoma je značajno da se prati variranje spoljašnjih činilaca i poznaje njihov uticaj na fiziološke procese koji određuju kvalitet zrna (Bratković i sar., 2014.; Madić i sar., 2014.; Przulj i sar., 2014.; Đekić i sar., 2017.).

<sup>1</sup>Univerzitet u Nišu, Poljoprivredni fakultet, Kosančićeva 4, Kruševac, Srbija (verarajic@yahoo.com)

<sup>2</sup>Centar za strna žita, Save Kovačevića 31, Kragujevac, Srbija

<sup>3</sup>Univerzitet u Kragujevcu, Agronomski fakultet, Cara Dušana 34, Čačak, Srbija

Tokom vegetacijskih godina (2006-2010) u poljskim ogledima, na imanju Centra za strna žita u Kragujevcu, ispitivane su tri kragujevačke sorte ozimog ječma, sa ciljem utvrđivanja selekcije najboljih sorti za uslove proizvodnje Srbije.

## Materijal i metode rada

### Metod rada

Tokom vegetacionih sezona 2006-2010 godine, ispitivane su tri ozime sorte ječma Rekord, Maksa i Grand, koje su gajene u Centru za strna žita u Kragujevcu. Ogledi su postavljeni po slučajnom blok sistemu, sa veličinom parcelice od 10 m<sup>2</sup> (2 m x 5 m) u tri ponavljanja. Setva je bila mašinska sa međurednim rastojanjem 12.5 cm. Zemljište na kome je ogled izveden je bilo ujednačeno i dobro pripremljeno. Količina semena za setvu po m<sup>2</sup> je iznosila 400-500 klijavih zrna, u zavisnosti od karakteristika sorti.

Na osnovu ostvarenih rezultata istraživanja izračunati su parametri deskriptivne statistike. Statistička obrada podataka napravljena je u modulu Analyst programa SAS/STAT (SAS Institut, 2000.).

### Vremenski uslovi

Istraživanje je sprovedeno tokom sedam uzastopnih sezona (2005/06-2009/10) u regionu Šumadija, Centralna Srbija, na tipu zemljišta Vertisol, u Centru za strna žita, Kragujevac (44° 22' N, 20° 56' E, 173-220 m nadmorske visine). Kragujevac se nalazi u zoni umereno kontinentalne klime, sa prosečnom godišnjom temperaturom od 11.76°C i količinom padavina od oko 580-790 mm.

Tabela 1. Srednje mesečne temperature vazduha (Kragujevac)

*Table 1. Average monthly temperature (Kragujevac)*

Meseci <i>Months</i>	X	XI	XII	I	II	III	IV	V	VI	VII	Prosek <i>Average</i>
2005/06	11.5	5.7	3.4	-1.7	1.5	5.6	12.7	16.4	19.7	23.0	9.78
2006/07	13.3	7.6	3.5	6.1	6.3	9.1	12.1	18.2	22.8	24.8	12.38
2007/08	10.8	4.5	0.6	2.5	4.5	8.1	12.6	17.3	21.8	22.4	10.51
2008/09	13.1	8.5	4.4	2.3	2.0	6.8	13.4	17.8	20.2	22.5	11.10
2009/10	11.7	8.8	2.6	0.9	3.2	7.2	12.1	16.5	20.2	23.1	10.63
Prosek <i>Average</i>	12.5	6.9	1.9	0.5	2.4	7.1	11.6	16.9	20.0	22.0	10.18

Podaci prikazani u tabeli 1 za proučavani vegetacioni period (2006-2010), jasno ukazuju da su se godine u kojima su izvedena ispitivanja po prosečnim temperaturama razlikovale od višegodišnjeg proseka karakterističnog za područje Kragujevca. Prosečna temperatura vazduha bila je veća za 2,2°C u 2006/07 godini, za 0,33°C u 2007/08 godini, za 0,92°C u 2008/09 godini i za 0,45°C u 2009/10 godini a niža za 0,4°C u 2005/06 godini od višegodišnjeg proseka.



Podaci prikazani u tabeli 2 za proučavani vegetacioni period jasno ukazuju da su se godine u kojima su izvedena ispitivanja po prosečnim količinama padavina razlikovale od višegodišnjeg proseka. Prosečne količine padavina bile su manje u sledećim godinama istraživanja i to u 2006/07 godini za 134,6 mm, u 2007/08 za 20,1 mm i u 2008/09 za 22,3 mm od višegodišnjeg proseka i sa vrlo neravnomernim rasporedom padavina po mesecima. Prosečna količina padavina bila je veća za 42,3 mm u 2005/06 godini i za 580,9 mm u 2009/10 godini od višegodišnjeg proseka.

Tabela 2. Srednje mesečne količine padavina (Kragujevac)  
*Table 2. Average monthly precipitation sum (Kragujevac)*

Meseci Months	X	XI	XII	I	II	III	IV	V	VI	VII	Prosek Average
2005/06	49.0	548	479	27.9	38.1	116.1	86.3	29.6	84.8	22.4	556.9
2006/07	16.7	13.7	51.9	45.3	32.1	62.9	3.6	118.4	25.3	10.1	380
2007/08	92.8	110.4	28.1	36.6	13.0	53.2	30.1	13.1	65.7	51.5	494.5
2008/09	31.3	30.6	29.7	57.7	76.9	40.3	16.8	46.0	137.8	25.2	492.3
2009/10	102.6	77.5	194.2	57.0	150.5	43.3	142.2	116.7	196.7	14.8	1095.5
Prosek Average	45.4	48.9	56.6	58.2	46.6	32.4	51.9	57.6	70.4	46.6	514.6

Značajno odstupanje padavina i temperature od višegodišnjeg proseka postaje sve izraženije (Đekić i sar., 2019.). Utvrđeno je da novostvorene visoko prinodne sorte ječma, manje reaguju na odstupanje temperature, nego što je to slučaj sa padavinama (Bratković i sar., 2014.; Madić i sar., 2014.; 2019.). Naime, ukupna količina padavina se odražava na višegodišnjem proseku ali je raspored, naročito u kritičnim fazama razvoja, znatno poremećen (Bratković i sar., 2018.; Đekić i sar., 2018.).

### Zemljišni uslovi

Osnovni tip zemljišta na kome je izveden ogled u Kragujevcu pripada tipu vertisola u procesu degradacije, teškog mehaničkog sastava i grube nestabilne strukture. Fizičke osobine ovog zemljišta veoma su nepovoljne i pripadaju tipu teških glinuša. Prema analizi ovo je zemljište srednje kisele reakcije ( $pH_{KCl}=4,8$ ) i siromašno humusom (2,65%). Dobro je obezbeđeno lako pristupačnim fosforom (26,9 mg/100g zemljišta) i lako pristupačnim kalijumom (21,3 mg/100g zemljišta).

### Rezultati rada sa diskusijom

Prosečne vrednosti prinosa zrna kod istraživanih kragujevačkih sorti ozimog ječma, uzgajanih u Centru za strna žita u Kragujevcu, tokom sedam vegetacionih sezona, prikazane su u tabeli 3. Prinos ispitivanih sorti ječma razlikovao se zavisno od godine istraživanja. Prosečan prinos ječma u ogledu iznosio je 5.426 t ha<sup>-1</sup>, sa variranjem od 3.031 t ha<sup>-1</sup> u petoj godini istraživanja (2009/10) do 5.788 t ha<sup>-1</sup> u trećoj godini istraživanja (2007/08). Prosečan prinos zrna u posmatranom petogodišnjem periodu bio je najveći kod sorte Maksa i iznosio je 5.207 t ha<sup>-1</sup>.

Nešto niži prosečan prinos zrna u petogodišnjem periodu imale su sorte Rekord (4.654 t ha<sup>-1</sup>) i Grand (4.975 t ha<sup>-1</sup>).

Tabela 3. Prosečne vrednosti prinosa ispitivanog  
*Table 3. Average values of the grain yield of barley*

Sorta Cultivars Godina Year	Rekord	Maksa	Grand	Prosek Average
2005/06	5.278	6.333	4.667	5.426
2006/07	4.948	5.156	7.083	5.729
2007/08	5.818	6.000	5.545	5.788
2008/09	4.772	5.000	4.490	4.754
2009/10	2.454	3.548	3.091	3.031
Prosek Average	4.654	5.207	4.975	5.426

U prvoj godini istraživanja, prosečan prinos ječma iznosio je 5.426 t ha<sup>-1</sup>, a sorta Maksa postigla je najviši prinos zrna od 6.333 t ha<sup>-1</sup>. Vegetaciona 2006/07 godina imala je prosečan prinos ječma od 5.729 t ha<sup>-1</sup> i najveći prinos postigla je sorta Grand (7.083 t ha<sup>-1</sup>). Prosečan prinos zrna u 2007/08 godini iznosio je 5.788 t ha<sup>-1</sup> a najveći prinos ustanovljen je kod sorte Maksa (6.0 t ha<sup>-1</sup>). Prosečan prinos zrna u 2008/09 godini iznosio je 4.754 t ha<sup>-1</sup> i najviši prinos postigla je sorta Maksa (5.0 t ha<sup>-1</sup>). Vegetaciona 2009/10 godina imala je najlošiji prinos od svih ispitivanih sezona i prosečan prinos zrna ječma iznosio je 3.031 t ha<sup>-1</sup> a sorta Maksa postigla je najveći prosečan prinos zrna od 3.548 t ha<sup>-1</sup>.

Tabela 4. Prosečne vrednosti ispitivanog prinosa ječma  
*Table 4. Average values of the grain yield of barley*

Osobina Traits	Mean sq Effect	Mean sq Error	F	p-level
Uticao godine na prinos zrna <i>Effect of year on the grain yield</i>	47.301	11.825	148.84	0.00000
Uticao sorte na prinos zrna <i>Effect of cultivar on the grain yield</i>	2.314	1.157	14.56	0.00004
Uticao interakcije godina x sorta <i>Effect of the year x cultivar interaction</i>	12.773	1.597	20.10	0.00000

Analiza varijanse prinosa kod ispitivanih kragujevačkih sorti ozimog ječma gajenih u Centru za strna žita u Kragujevcu, tokom petogodišnjeg perioda (2006-2010), prikazani su u tabeli 4. Uticaj vegetacione sezone (godine) na prinos zrna kod ispitivanih sorti ozimog ječma bio je visoko značajan (F=148.84\*\*). Između ispitivanih genotipova ječma ustanovljen je visoko značajan uticaj sorte na prinos (F=14.56\*\*). Na osnovu analize varijanse, može se zaključiti da interakcija sorta x godina vrlo značajno utiče na prinos zrna (F=20.10\*\*).

Poznato je da interakcija genotipa i spoljašnje sredine u velikoj meri ograničava efikasnost selekcije ukoliko se ona vrši samo na osnovu prosečnog prinosa (Pržulj i sar., 2013.). Značajne razlike između prinosa zrna ječma i godine

istraživanja ustanovili su Đekić i sar. (2017.; 2018.). Razlike u visini prinosa, koje su se ispoljile kod ispitivanih sorti u našem ogledu, rezultat su sorte specifičnosti, koja je u najvećoj meri genetski uslovljena (Bratković i sar., 2018.; Madić i sar., 2019.). Analizom dobijenih rezultata možemo zaključiti da postoji značajna zavisnost prinosa zrna od godine istraživanja, što je u saglasnosti sa rezultatima). Takođe, Đekić i sar. (2019.) navode da se razlike u prinosu između različitih godina javljaju zbog ekoloških uslova.

### Zaključak

Najveći prinos zrna kod ispitivanih sorti ječma bio je u 2007/08 vegetacionoj godini sa umerenim temperaturama u vreme naliavanja zrna i velikom količinom padavina u prvom vegetacionom periodu. Prinos zrna kod ispitivanih sorti ječma tokom petogodišnjeg istraživanja iznosio je 5.426 t ha<sup>-1</sup>, sa variranjem od 3.031 t ha<sup>-1</sup> u 2009/10 godini do 5.788 t ha<sup>-1</sup> u 2007/08 godini. Prosečan prinos zrna u posmatranom petogodišnjem periodu bio je najveći kod sorte Maksa i iznosio je 5.207 t ha<sup>-1</sup>.

Prinos zrna pokazuje tendenciju rasta u godinama sa većom sumom i boljim rasporedom padavina tokom kritičnih faza razvića biljaka. Analizom varijanse ustanovljen je vrlo značajan uticaj interakcije godina x sorta na prinos zrna ječma, dok je uticaj vegetacione sezone na prinos zrna ječma bio statistički opravdan.

Na osnovu dobijenih rezultata može se zaključiti da strukturu setve treba temeljiti na više od jedne sorte, kako bi se smanjio rizik koji nosi nepredvidivost svake pojedine vegetacije, bez obzira na pouzdanost kriterijuma izbora sortimenta za setvu u pojedinoj godini istraživanja.

### Napomena

Rezultati prikazani u radu su deo istraživanja projekata TR 31054 koji je finansiran od strane Ministarstva prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije.

### Literatura

- Bratković K., Milovanović M., Perišić V., Đekić V., Luković K. (2014). New cultivar winter two-row barley Kg Zlatnik. Proceedings, XVIII International Eco-Conference® 2014, 8th Eco-Conference® on Safe Food, 24-27. September, Novi Sad, 189-197.
- Bratković, K., Vera Đekić, Kristina Luković, Terzić, D., Jovović, Z., Vera Popović (2018). Yield components and genetic potential of two-rowed barley. Proceedings, Green Room Sessions 2018 International GEA Conference, 1-3 November 2018, Podgorica, Montenegro, 99-109.
- FAO STAT (2010): <http://faostat.fao.org/faostat/>
- Đekić V., Popović V., Branković S., Terzić D., Đurić N. (2017). Yield components and grain yield of winter barley. Agriculture and Forestry, 63(1): 179-185.

- Đekić V., Popović V., Jelić M., Terzić D., Branković S., Đurić N., Grčak D. (2018). Parametri rodnosti i kvalitet zrna ozimog ječma. Zbornik naučnih radova Instituta PKB Agroekonomik, 24(1-2): 75-80.
- Đekić V., Milivojević J., Madić M., Popović V., Branković S., Perišić V., Terzić D. (2019). Prinos i komponente prinosa zrna ozimog ječma (Grain yield and its components in winter barley grown). Journal of Central European Agriculture, 2019, 20(1): 238-250.
- Madić M., Đurović D., Knezević D., Paunović A., Tanasković S. (2014). Combining abilities for spike traits in a diallel cross of barley. Journal of Central European Agriculture, 15(1): 108-116.
- Madić M., Đurović D., Paunović A., Stevović V., Tomić D., Knezević D., Đekić V. (2019). Effect of cultivar and year on yield and grain quality of two-row spring barley. Proceedings, X International Scientific Agriculture Symposium "Agrosym 2019", Jahorina, October 03-06, 2019; p. 113-118.
- Pržulj, N., Momčilović, V., Crnobarac, J. (2013). Path coefficient analysis of quality of two-row spring barley. Genetika, 45(1): 21-30.
- Pržulj, N., Momčilović, V., Simić, J., Mirosavljević, M. (2014). Effect of year and variety on barley quality. Genetika, 46(1): 59-73.
- SAS/STAT (2000): User's Guide, Version 9.1.3. SAS Institute Inc.

## THE IMPACT OF CLIMATE CHANGE ON BARLEY YEALD

*Vera Rajičić<sup>1</sup>, Dragan Terzić<sup>3</sup>, Vesna Perišić<sup>1</sup>, Vladimir Perišić<sup>2</sup>,  
Kristina Luković<sup>2</sup>, Marijana Dugalić<sup>1</sup>, Milomirka Madić<sup>3 1</sup>*

### Abstract

Field trial with barley varieties Rekord, Maksa and Grand was set on vertisol-type soil during the vegetation seasons 2006-2010. The aim of the research was to analyse the grain yield in three varieties of barley cultivated on acid soil. The highest values of grain yield were established in the vegetation year 2007/08 (5.788 t ha<sup>-1</sup>). The average of five-year grain yield of barley cultivars ranged from 4.654 t ha<sup>-1</sup> to 5.207 t ha<sup>-1</sup>. The Maksa cultivar had the highest yield of grain. Based on the analysis of variance, it can be concluded that there are very significant differences in grain yield regard the year of investigation, while among the investigated barley cultivars the differences were very significant.

**Key words:** cultivars, grain yield, winter barley

---

<sup>1</sup>University of Niš, Faculty of Agriculture, Krusevac, Serbia (verarajicic@yahoo.com)

<sup>2</sup>Center for Small Grains, Kragujevac, Serbia

<sup>3</sup>University of Kragujevac, Faculty of Agronomy, Cacak, Serbia

## PRIMENA RAZLIČITIH METODA U ODREĐIVANJU ANTIOKSIDATIVNOG KAPACITETA BESEMENE LUBENICE *Citrullus lanatus* Gipsi F1

Jelena Nikolić<sup>1</sup>, Violeta Mitić<sup>1</sup>, Marija Dimitrijević<sup>1</sup>, Gordana Stojanović<sup>1</sup>,  
Vesna Stankov Jovanović<sup>1</sup>

**Izvod:** Antioksidansi su supstance koje štite organizam od dejstva slobodnih radikala. Najbolji izvor ovih jedinjenja je ishrana bogata svežim voćem i povrćem. U letnjim mesecima posebnu pažnju privlače lubenice. Cilj ovog rada bio je određivanje sadržaja ukupnih polifenola i flavonoida kao i antioksidativnih karakteristika besemene lubenice Gipsi F1 primenom DPPH, ABTS, TRP, FRAP i CUPRAC metoda. Ova lubenica pokazala je visok sadržaj flavonoida (785,98 mg RE/100g FW), koji se mogu smatrati za jedinjenja koja znatno doprinose antioksidativnoj aktivnosti.

**Ključne reči:** antioksidansi, lubenica, polifenoli, flavonoidi

### Uvod

Slobodni radikali su molekuli koji sadrže jedan ili više nesparenih elektrona, a mogu nastati: dejstvom elektromagnetnog zračenja, redoks reakcijama, enzimskim reakcijama i različitim hemijskim procesima (Halliwell i Whiteman, 2004). Oni oštećuju ćelijsku membranu i organele. Ipak, najnegativniji uticaj ispoljavaju kada dovedu do oštećenja genetskog materijala. Ove promene dovode do razvoja malignih oboljenja.

Antioksidansi su supstance koje prisutne u malim koncentracijama u odnosu biomolekul koji se oksiduje značajno usporavaju ili sprečavaju njegovu oksidaciju (Halliwell 1990). Antioksidansi sprečavaju oksidaciju biomolekula neutralizacijom slobodnih radikala donirajući im jedan svoj elektron, dok oni sami postaju oksidovani. Zaštita organizma od slobodnih radikala odigrava se kroz mehanizme primarne i sekundarne antioksidativne zaštite. Primarna antioksidativna zaštita podrazumeva antioksidanse koji su prisutni u ljudskom organizmu, dok su jedinjenja koja se unose pomoću hrane i suplemenata deo sekundarne antioksidativne zaštite. U sistem sekundarne antioksidativne zaštite spadaju niskomolekularna jedinjenja kao što su L-askorbinska kiselina, ubihinon, tokoferoli, karotenoidi, polifenoli i flavonoidi i dr. (Kasote et al., 2015).

Lubenica (*Citrullus lanatus*) je jednogodišnja zeljasta biljka iz porodice tikava (Cucurbitaceae). Poreklom je iz Afrike, dok se u Evropi najviše uzgaja u Grčkoj, Španiji, Italiji i Makedoniji (FAO, 2019). Ona je kao što su vitamini A, C, B1, B6, kalaj i magnezijum, polifenola i citrulina. U poslednje vreme veliku pažnju potrošača izaziva besemena lubenica. U ovom radu analizirana je sorta-hibrid besemene

---

<sup>1</sup>Univerzitet u Nišu, Prirodno-matematički fakultet, Višegradska 33, 18000 Niš (jelena.cvetkovic7@gmail.com)

lubenica Gipsi F1, okrugla sorta, zelene kore sa svetlim prugama, prosečne težine od 6-8kg. Dobija se ukrštanjem diploidne (2n) i tetraploidne (4n), tako da se dobija triploidna (3n) lubenica koja je sterilna, a umesto semenki ima samo po koju ljuspicu.

Cilj ovog rada bio je određivanje sadržaja ukupnih polifenola i flavonoida kao i antioksidativnih karakteristika besemene lubenice Gipsi F1 primenom DPPH, ABTS, TRP, FRAP i CUPRAC metoda.

## Materijal i metode rada

**Priprema ekstrakta lubenice:** Pulpa lubenice Gipsi F1 je usitnjena, a zatim je odmerena masa (5g). Uzorak je preliven smešom rastvarača metanol-voda (80:20) i ekstrahovan na ultrazvučnom kupatilu dva puta po 15 minuta. Nakon ekstrakcije, izvršena je filtracija i ekstrakt dopunjen smešom rastvarača u normalnom sudu do 25 mL.

**Odredjivanje ukupnih fenola (TPC):** Alikvot ekstrakta pomešan je sa 0,5 mL Folin-Ciocalteu reagensa, 2 mL  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  i dopunjen vodom do zapremine od 7,55 mL, nakon čega je reakciona smeša stajala 30 minuta u mraku. Apsorbanca je merena na 750 nm i rezultati su izraženi kao miligram ekvivalenta galne kiseline na 100 g svežeg uzorka (mg GAE/100g FW) (Dimitrijevic i sar., 2015)

**Odredjivanje ukupnih flavonoida (TFC):** U ekstrakte zapremine 50  $\mu\text{L}$ , su dodati rastvori sledećim redom  $\text{H}_2\text{O}$  i  $\text{NaNO}_2$ , pa je posle stajanja na sobnoj temperaturi, dodat je  $\text{AlCl}_3$  i nakon 5 minuta  $\text{NaOH}$ . Smeša je dopunjena dejonizovanom vodom do ukupne zapremine 5 mL. Apsorbanca reakcionih smeša izmerena je na 520 nm i rezultati su izraženi kao miligram ekvivalenta rutina na 100g svežeg uzorka (mg RE/100g FW).

**DPPH metoda:** Rastvor DPPH reagensa (1,5 mL) pomešan je sa 1 mL ekstrakta i reakciona smeša je ostavljena da stoji u mraku 1 sat. Apsorbanca rastvora je merena na talasnoj dužini od 515 nm i rezultati su izraženi kao miligram trolox ekvivalenta na 100 g svežeg uzorka (mg TE/100g FW).

**ABTS metoda:** ABTS<sup>•+</sup> radikal katjon (ABTS<sup>•+</sup>) nastaje kao proizvod reakcije između rastvora ABTS-a i  $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ . Pripremljeni radni rastvor pomešan je sa alikvotom ekstrakta analizirane lubenice i reakciona smeša dopunjena metanolom do ukupne zapremine od 4 mL. Nakon 6 minuta odvijanja reakcije na sobnoj temperaturi, meri se apsorbanca na talasnoj dužini od 734 nm, a rezultati su izraženi kao miligram trolox ekvivalenta na 100 g svežeg uzorka (mg TE/100g FW).

**FRAP metoda:** FRAP reagens je pripremljen mešanjem acetatnog pufera (pH 3.6), rastvora TPTZ i rastvora  $\text{FeCl}_3$ . Zatim je 100  $\mu\text{L}$  uzorka dodato u 1 mL FRAP reagensa, a reakciona smeša je razblažena vodom do ukupne zapremine od 4 mL. Apsorbanca smeše merena je na 595 nm nakon 30 min inkubacije, a rezultati su izraženi kao miligram ekvivalenta Fe na 100 g svežeg uzorka (mg Fe/100g FW).

**TRP metoda:** Reakcione smeše su pripremljene mešanjem 10  $\mu\text{L}$  ekstrakta sa 1 mL rastvora  $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$  i 1 mL pufera  $\text{NaH}_2\text{PO}_4\text{-Na}_2\text{HPO}_4$  (pH 6,6). Smeše su

inkubirane na 50 °C 30 minuta i nakon toga je dodat 1 mL CCl<sub>3</sub>COOH i 0,3 mL rastvora FeCl<sub>3</sub>. Apsorbanca tako dobijenih smeša merene su na talasnoj dužini od 700 nm i rezultati su izraženi kao miligram ekvivalenta askorbinske kiseline na 100 g svežeg uzorka (mg AAE/100g FW).

**CUPRAC metoda:** Alikvot ekstrakta pomešan je sa acetatnim puferom (pH=7) i rastvorom neokuproina, nakon čega je dodat rastvor CuCl<sub>2</sub> i reakciona smeša razblažena vodom do ukupne zapremine od 4 mL. Dobijena smeša je ostavljena da stoji 30 minuta na sobnoj temperaturi. Nakon toga, merena je apsorbanca na talasnoj dužini od 450 nmi rezultati su izraženi kao miligram ekvivalenta troloksa na 100 g svežeg uzorka (mg TE/100g FW).

### Rezultati istraživanja i diskusija

U tabeli 1 prikazan je sadržaj ukupnih polifenolnih jedinjenja, flavonoida i antioksidativne aktivnosti besemene lubenice Gipsi F1.

Tabela 1. Sadržaj ukupnih polifenolnih jedinjenja, flavonoida i antioksidativne aktivnosti besemene lubenice Gipsi F1

Table 1. Total phenolic content, total flavonoid content and antioxidant activity of seedless watermelon Gipsi F1

Metoda	TPC (mg GAE/10 0g FW)	TFC (mg RE/100 g FW)	DPPH (mg TE/100 g FW)	ABTS (mg TE/100g FW)	CUPRAC (mg TE/100g FW)	TRP (mg AAE/10 0g FW)	FRAP (mg Fe/100g FW)
<b>Vrednost</b>	18,2±0,5	785±9	39,5±0,9	3,55±0,07	2,22±0,06	18,3±0,3	0,24±0,01

Sadržaj ukupnih polifenola u besemenj lubenici Gipsi F1 iznosio je 18,2±0,5 mg GAE/100g FW. Singh i saradnici (2016) su određivali sadržaj fenolnih jedinjenja u uzorcima lubenice. Sadržaj upupnih polifenola u radu Singh i saradnika (2016) za uzorke lubenice iznosio je 35,54 mg GAE/100g FW, što je u više u odnosu na rezultat dobijen ovim istraživanjem. Razlog tome mogu biti različite sorte lubenica i primenjene različite agrotehničke mere. Pored polifenola, određen je i sadržaj ukupnih flavonoida. Ova jedinjenja nalaze se u skoro svim biljkama. Zahvaljujući hemijskoj strukturi, pokazuju antikancerogeno, antiinflamatorno i antialergijsko dejstvo. Sadržaj flavonida u analiziranoj lubenici iznosio je 785±9 mg RE/100g FW.

Antioksidativna aktivnost lubenica povezana je sa visokim sadržajem vitamina A, likopena i β-karotena (Hamzah i sar., 2013). Antioksidativne karakteristike različitih uzoraka mogu se odrediti primenom različitih metoda. S obzirom na njihov različit mehanizam, prilikom analize neophodno je koristiti više metoda. U ovom radu primenjene su DPPH, ABTS, CUPRAC, FRAP i TRP metode.

Primenom DPPH metode ostvarena je vrednost od 39,5±0,9 mg TE/100g FW. Kako se ovaj uzorak odlikuje visokim sadržajem flavonoida, može se zaključiti da su dominantni antioksidansi upravo flavonoidi.

Upotrebom ABTS metode za određivanje antioksidativne aktivnosti u uzorcima besemene lubenice dobijen je rezultat  $3,55 \pm 0,07$  mg TE/100g FW. Singh i saradnici, (2016) su određivali antioksidativnu aktivnost uzoraka lubenice primenom ove metode i dobili rezultati  $29,78$  mg TE/100g FW.

Primenom FRAP metode zapaženo je da je antioksidativna aktivnost u besemenj lubenici Gipsi F1  $0,24 \pm 0,01$  mg TE/100g FW. Singh i saradnici (2016) korišćenjem FRAP metode analizirali su antioksidativnu aktivnost uzoraka lubenice i dobili rezultat  $15,25$  mg Fe/100g FW, što je više u odnosu na uzorak analiziran u ovom radu. Guo i saradnici (2003) su takođe ispitivali antioksidativnu aktivnost uzorka lubenice Jingxin #1 i dobili vrednost  $8,94$  mg TE/100g FW. Mehanizam za određivanje ukupne redukcionne moći (TRP) je sličan mehanizmu na kojem se zasniva FRAP metoda. Ukupna redukcionna moć uzorka lubenice Gipsi F1 iznosila je  $18,3 \pm 0,3$  mg AAE/100g FW.

CUPRAC metoda je vrlo jednostavna metoda za određivanje hidrofilnih i lipofilnih antioksidanasa u hrani. Antioksidativna aktivnost besemene lubenice Gipsi F1 upotrebom CUPRAC metode iznosila je  $2,22 \pm 0,06$  TE/100g FW.

## Zaključak

Upotreba lubenice u ishrani blagotvorno utiče na ljudsko zdravlje. Jedan od važnih aspekata njihovog uticaja je i antioksidativna aktivnost. U ovom radu određena je antioksidativna aktivnost i sadržaj polifenola i flavonoida u uzorku besemene lubenice Gipsi F1. Ova lubenica pokazala je visok sadržaj flavonoida ( $785,98$  mg RE/100g FW). Antioksidativna aktivnost određena primenom DPPH, ABTS, TRP i FRAP metoda nešto je niža u poređenju sa literaturom, što može biti posledica primene različitih agrotehničkih mera, uslova gajenja, vremena berbe kao i različitih sorti lubenice.

## Napomena

Autori su zahvalni Ministarstvu prosvete, nauke i tehnološkog razvoja na podršci ovom istraživanju (OI 172047 i OI 172051).

## Literatura

Dimitrijevic M., Stankov Jovanovic V., Cvetkovic J., Mihajilov-Krstev T., Stojanovic G., Mitic V. (2015). Screening of antioxidant, antimicrobial and antiradical activities of twelve selected Serbian wild mushrooms. *Analytical Methods*. 7(10): 4181–4191.

Dostupno: <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC/visualize>

Guo C., Yang J., Wei J., Li Y., Xu J., Jiang Y. (2003). Antioxidant activities of peel, pulp and seed fractions of common fruits as determined by FRAP assay. *Nutrition Research*. 23(12): 1719–1726.



- Halliwell B., Whiteman M. (2004). Measuring reactive species and oxidative damage *in vivo* in cell culture: how should you do it and what do the results mean?. *British Journal of Pharmacology*. 142(2): 231-255.
- Halliwell B. (1990). How to Characterize a Biological Antioxidant. *Free Radical Research Communications*. 9(1): 1-32.
- Hamzah R.U., Jigam A.A., Makun H.A., Egwim E.C. (2013). Antioxidant Properties of Selected African Vegetables, Fruits and Mushrooms: A Review In: *Mycotoxin and Food Safety in Developing Countries*, Edited by Hussaini Anthony Makun, InTech Rijeka, Croatia.
- Kasote D.M., Katyare S.S., Hegde M.V., Bae H. (2015). Significance of Antioxidant Potential of Plants and its Relevance to Therapeutic Applications. *International Journal of Biological Sciences*. 11(8): 982-991.
- Singh J., Singh V., Shukla S., K Rai A. (2016). Phenolic Content and Antioxidant Capacity of Selected Cucurbit Fruits Extracted with Different Solvents. *Journal of Nutrition & Food Sciences*. 6(6): 1-8.

## ANTIOXIDANT CHARACTERISTICS OF SEEDLESS WATERMELON *Citrullus lanatus* Gipsi F1

*Jelena Nikolić<sup>1</sup>, Violeta Mitić<sup>1</sup>, Marija Dimitrijević<sup>1</sup>, Gordana Stojanović<sup>1</sup>,  
Vesna Stankov Jovanović<sup>1</sup>*

### Abstract

Antioxidants are substances that protect human body from free radicals negative effects. The best source of these compounds is diet rich in fresh fruits and vegetables. In the summer months watermelons are extremely popular. The aim of this study was to determine total phenolic and flavonoid content as well as the antioxidant activity of Gipsi F1 seedless watermelon using DPPH, ABTS, TRP, FRAP and CUPRAC methods. This watermelon showed high total flavonoid content (785,98 mg RE / 100g FW). Flavonoids could be considered as compounds that significantly contribute to antioxidant activity.

**Key words:** antioxidants, watermelon, phenolics, flavonoids

---

<sup>1</sup>Univerzitet u Nišu, Prirodno-matematički fakultet, Višegradska 33, 18000 Niš (jelena.cvetkovic7@gmail.com)



## PRINOS ZRNA SORTI TRITIKALEA U ZAVISNOSTI OD MINERALNE ISHRANE

*Milomirka Madić<sup>1</sup>, Milan Biberdžić<sup>2</sup>, Dragan Đurović<sup>1</sup>, Aleksandar Paunović<sup>1</sup>, Desimir Knežević<sup>2</sup>, Vladeta Stevović<sup>1</sup>, Dalibor Tomić<sup>1</sup>, Vera Rajičić<sup>3</sup>*

**Izvod:** Poljski ogleđi postavljeni su tokom 2017/18 i 2018/19 godine na području Požege (Zapadna Srbija), sa ciljem da se analizira uticaj mineralne ishrane na prinos zrna tritikalea, relativno nove vrste strnih žita. Za ogleđ su odabrane dve sorte tritikalea (KG-20 i Odisej) i četiri varijante đubrenja (neđubreno i različiti količine azota, fosfora i kalijuma). Primena mineralnih đubriva uticala je na značajno povećanje prinosa zrna kao i mase 1000 zrna kod obe sorte. Prisustvo interakcija prvog i drugog reda (sorta/đubrenje/godina) ukazuje na različitu reakciju sorti na promenljive agroekološke uslove, naročito na količine primenjenih hraniva, kao i na promenljive klimatske činioce.

**Ključne reči:** tritikale, mineralna ishrana, prinos zrna, masa 1000 zrna

### Uvod

Tritikale (*x Triticosecale* Wittmack) je aloplodna vrsta nastala ukrštanjem pšenice i raži. Ideja o stvaranju tritikalea je nastala pre više od 100 godina, sa ciljem da se u jednu vrstu strnog žita ukomponuje visok potencijal za prinos zrna pšenice i kvalitet proteina raži (Radecki i Miller, 1990). Kao relativno nova vrsta strnih žita tritikale se sve više gaji kako u svetu tako i kod nas, naročito zbog visokog potencijala za prinos zrna (Bibredžić et al., 2012), visoke tolerantnosti prema pepelnici i stabljичnoj rđi (Milovanović i sar., 1995), kao i nepovoljnim vremenskim uslovima (Nožinić i sar., 2009). Tritikale je pogodan i za gajenje na većim nadmorskim visinama (Stošović et al., 2010). Najveći broj sorti tritikalea pokazuje bolju adaptaciju na kisela zemljišta u odnosu na sorte pšenice (Oettler et al., 2000; Madić et al., 2013). Pored toga, zrno tritikalea odlikuje se dobrim nutritivnim svojstvima. Đekić i sar. (2011) preporučuju zamenu zrna kukuruza zrnom tritikalea u tovu pilića i svinja, dok Marković i sar. (2012) ukazuju na mogućnost korišćenja zrna tritikalea u smešama za ishranu konzumnog šarana.

Pored genotipa, prinos zrna tritikalea u velikoj meri zavisi od mineralne ishrane, koju treba uskladiti sa klimatskim i zemljišnim uslovima, kao i zahtevima

---

<sup>1</sup>Univerzitet u Kragujevcu, Agronomski fakultet u Čačku, Cara Dušana 34, Čačak, Srbija (mmadic@kg.ac.rs);

<sup>2</sup>Univerzitet u Prištini sa sedištem u K. Mitrovici, Poljoprivredni fakultet, Kopaonička bb, Lešak, Srbija.

<sup>3</sup>Univerzitet u Nišu, Poljoprivredni fakultet u Kruševcu, Kosančićeva 4, 37000 Kruševac, Srbija

sorte. Cilj ovog rada je bio da se analizira uticaj različitih kombinacija i količina osnovnih mineralnih hraniva (azot, fosfor, kalijum) na prinos zrna sorti tritikalea.

### Materijal i metode rada

Poljski ogled sa sortama tritikalea je postavljen na imanju Srednje poljoprivredne škole u Požegi (43°50'28"N 20°02'17"E, 321 m nadmorske visine). Za istraživanja su odabrane sorte tritikalea KG-20 i Odisej i četiri nivoa mineralne ishrane: neđubreno (I), 300 kg ha<sup>-1</sup> KAN (27% N) (II), 300 kg ha<sup>-1</sup> NPK (15:15:15 NPK) (III) i 300 kg ha<sup>-1</sup> NPK + 2400 kg ha<sup>-1</sup> "Njival Ca" (98,5% CaCO<sub>3</sub>, 1% MgCO<sub>3</sub>) (IV). Ogled je postavljen po slučajnom blok sistemu u tri ponavljanja, sa veličinom elementarne parcele 10 m<sup>2</sup> (5x2m). Zemljište na kome je ogled postavljen pripada tipu vertisol. Predusev u obe godine je bio kukuruz. Setva je obavljena malom mehaničkom sejalicom u obe godine polovinom druge dekade oktobra na međurednom rastojanju 12,5 cm i 3 cm u redu. Ukupne količine NPK đubriva zajedno sa jednom trećinom azota (varijanta II) kao i "Njival Ca" (varijanta IV) rasturene su ručno po površini oranja pred predsetvenu pripremu zemljišta. Na početku intenzivnog porasta biljaka, početkom marta meseca na varijanti II, primenjeno je kao prihrana 200 kg ha<sup>-1</sup> KANa. U fazi pune zrelosti sa svake parcele je uzet uzorak od 30 biljaka za određivanje mase 1000 zrna. Nakon žetve izmeren je prinos zrna sa svake parcele i preračunat na prinos u kg ha<sup>-1</sup>.

Dobijeni rezultati obrađeni su analizom varijanse trofaktorijskog ogleda (sorta, đubrenje, godina), upotrebom SPSS softvera (1995). Razlike srednjih vrednosti tretmana su testirane LSD-testom.

Tabela 1. Srednje mesečne temperature vazduha i količina padavina u Požegi

*Table 1. Precipitation sum and average monthly temperature in Požega*

Godina Year	Meseci/Months									Prosek/Average
	Oct.	Nov.	Dec.	Jan.	Feb.	Mar.	Apr.	May	Jun.	
	Srednje mesečne temperature vazduha (°C) Mean monthly air temperature (°C)									
2017/18	10.1	4.5	2.1	0.4	0.8	4.4	14.5	17.5	19.3	8.2
2018/19	11.3	4.9	0.2	-3.1	1.6	7.4	11.6	13.2	20.9	7.6
	Količina padavina (mm) /The sum of precipitation (mm)									
2017/18	108.1	29.8	68.9	48.5	76.7	109.6	20.4	48.5	95.4	605.9
2018/19	30.7	67.3	63.7	69.3	54.9	24.5	69.1	105.5	17.8	502.8

Područje Požege karakteriše umereno kontinentalna klima, sa neravnomernom raspodelom padavina po mesecima. U prvoj godini u periodu od oktobra do jula je zabeleženo 605 mm padavina, dok je u istom periodu druge godine količina padavina bila za oko 100 mm manja (502,8 mm) (tabela 1). Uslovi za nicanje i početni porast biljaka u prvoj godini bili su znatno povoljniji. Takođe, u prvoj godini u periodu mart–jun, zabeležena je veća količina padavina u odnosu na

drugu godinu. Polazeći od činjenice da su količine padavina i temperature u ovim mesecima veoma važne za razvoj strnih žita, prva godina se može okarakterisati kao povoljnija u pogledu rasporeda i količine padavina.

### Rezultati istraživanja i diskusija

Prinos i masa 1000 zrna tritikalea su osobine u velikoj meri uslovljene sortom, brojem biljaka po jedinici površine i mineralnom ishranom (Biberdžić i sar., 2006). Sorta KG-20 je, u proseku za obe godine i varijante đubrenja imala značajno veći prinos od sorte Odisej (Tabela 2).

Tabela 2. Prinos zrna (kg) i masa 1000 zrna (g) sorti tritikalea u 2018. i 2019. godini na različitim varijantama đubrenja (I - neđubreno, II - 300 kg ha<sup>-1</sup> KAN (27% N), III - 300 kg ha<sup>-1</sup> NPK (15:15:15 NPK) i IV - 300 kg ha<sup>-1</sup> NPK + 2400 kg ha<sup>-1</sup> "Njival Ca" (98,5% CaCO<sub>3</sub>, 1% MgCO<sub>3</sub>))

Table 2. Grain yield (kg) and 1,000-grain weight (g) of triticale varieties in 2018 and 2019 on fertilizer variant (I - non-fertilized, II - 300 kg ha<sup>-1</sup> KAN (27% N), III - 300 kg ha<sup>-1</sup> NPK (15:15:15 NPK) and IV - 300 kg ha<sup>-1</sup> NPK + 2400 kg ha<sup>-1</sup> "Njival Ca" (98.5% CaCO<sub>3</sub>, 1% MgCO<sub>3</sub>))

Sorta/varijanta đubrenja Variety/fertilizer variant		Prinos zrna Grain yield			Masa 1000 zrna 1,000-grain weight		
		2018	2019	$\bar{X}$	2018	2019	$\bar{X}$
KG 20		5132 <sup>a</sup>	5012 <sup>a</sup>	5072 <sup>A</sup>	36.18 <sup>a</sup>	35.5 <sup>a</sup>	35.86 <sup>A</sup>
	Odisej	4697 <sup>b</sup>	5106 <sup>a</sup>	4857 <sup>B</sup>	34.87 <sup>b</sup>	34.2 <sup>c</sup>	34.54 <sup>B</sup>
KG 20	I	3531 <sup>e</sup>	4110 <sup>d</sup>	3820 <sup>C</sup>	31.6 <sup>e</sup>	31.8 <sup>e</sup>	31.7 <sup>C</sup>
	II	5013 <sup>c</sup>	5079 <sup>c</sup>	5046 <sup>B</sup>	35.35 <sup>cd</sup>	34.75 <sup>d</sup>	35.05 <sup>B</sup>
	III	5360 <sup>bc</sup>	5500 <sup>ab</sup>	5430 <sup>A</sup>	37 <sup>b</sup>	36.9 <sup>b</sup>	36.95 <sup>A</sup>
	IV	5755 <sup>a</sup>	5547 <sup>ab</sup>	5651 <sup>A</sup>	38.15 <sup>a</sup>	36.05 <sup>b</sup>	37.1 <sup>A</sup>
KG 20	I	3890 <sup>f</sup>	4090 <sup>f</sup>	3999 <sup>DC</sup>	32.3 <sup>f</sup>	33.4 <sup>f</sup>	32.85 <sup>D</sup>
	II	5239 <sup>b-e</sup>	5159 <sup>cde</sup>	5199 <sup>BC</sup>	35.9 <sup>cde</sup>	36.3 <sup>b-d</sup>	36.1 <sup>B</sup>
	III	5590 <sup>abc</sup>	5380 <sup>a-d</sup>	5485 <sup>AB</sup>	37.3 <sup>b</sup>	36.8 <sup>b-d</sup>	37.05 <sup>A</sup>
	IV	5810 <sup>a</sup>	5420 <sup>a-d</sup>	5615 <sup>A</sup>	39.2 <sup>a</sup>	35.7 <sup>dc</sup>	37.45 <sup>A</sup>
Odise j	I	3172 <sup>g</sup>	4130 <sup>f</sup>	3651 <sup>E</sup>	30.9 <sup>g</sup>	30.2 <sup>h</sup>	30.55 <sup>E</sup>
	II	4787 <sup>e</sup>	4999 <sup>de</sup>	4893 <sup>C</sup>	34.8 <sup>e</sup>	33.2 <sup>f</sup>	34 <sup>C</sup>
	III	5130 <sup>cde</sup>	5620 <sup>abc</sup>	5375 <sup>AB</sup>	36.7 <sup>bcd</sup>	37.0 <sup>b-d</sup>	36.85 <sup>AB</sup>
	IV	5700 <sup>ab</sup>	5675 <sup>ab</sup>	5687 <sup>A</sup>	37.1 <sup>bc</sup>	36.4 <sup>b-d</sup>	36.75 <sup>AB</sup>
$\bar{X}$		4905 <sup>A</sup>	5059 <sup>A</sup>		35.52 <sup>A</sup>	34.88 <sup>B</sup>	

\*Srednje vrednosti interakcija sorta/godina, đubrenje/godina i sorta/đubrenje/godina označene istim malim slovima ne razlikuju se značajno (p>0.05) na osnovu LSD testa. Srednje vrednosti za sorte,

varijante đubrenja, interakcija sorta/đubrenje, kao i za godine obeležene istim velikim slovima ne razlikuju se značajno ( $p > 0.05$ ) na osnovu LSD testa.

*\*Mean values of variety/year, fertilization/year and variety/fertilization/year interactions designated with the same lowercase letter are not significantly different at the 95% level according to the LSD test. Mean values for varieties, fertilization variants, variety/fertilization, as well as for years marked with the same uppercase letters are not significantly different at the 95% level according to the LSD test.*

Značajne razlike u prinosu zrna sorti na nivou celog ogleada su posledica značajno većeg prinosa sorte KG-20 u odnosu na sortu Odisej u prvoj godini ( $p < 0,01$ ), dok se u drugoj godini njihovi prosečni prinosi u proseku za sve varijante đubrenja nisu značajno razlikovali (interakcija sorta/godina). Prosečan prinos obe sorte za sve varijante đubrenja nije se razlikovao po godinama. Značajno veći prinosi zrna u proseku za obe sorte i godine postignuti su na III i IV varijanti đubrenja u odnosu na II varijantu, dok je na neđubrenoj varijanti prinos bio značajno niži u odnosu na đubrene varijante ( $p < 0,01$ ). Pri tome su, prosečno za obe sorte, značajne razlike između III i IV varijante utvrđene samo u prvoj godini, u kojoj se takođe prinos zrna nije značajno razlikovao između II i III varijante (interakcija đubrenje/godina). Sorte su, u proseku za obe godine značajno veće prinose zrna postigle na III i IV varijanti u odnosu na neđubrenu varijantu ( $p < 0,01$ ) pri čemu je kod sorte Odisej značajno veći prinos zabeležen na III u odnosu na II varijantu đubrenja (interakcija sorta/đubrenje). Posmatrano po godinama sorta Odisej je u prvoj godini imala značajno veći prinos zrna na IV varijanti u odnosu na III varijantu, dok se kod obe sorte prinosi postignuti na II i III varijanti đubrenja nisu značajno razlikovali u obe godine. Pored toga, sorta Odisej je imala značajno veći prinos zrna na neđubrenoj varijanti u drugoj u odnosu na prvu godinu ( $p < 0,01$ ) (interakcija sorta/đubrenje/godina). Prisustvo interakcija prvog i drugog reda ukazuje na nesaglasnost u reakciji sorti po godinama na promenljive agroekološke uslove, naročito na količine primenjenih hraniva, kao i na promenljive klimatske činioce.

Masa 1000 zrna je jedan od bitnih pokazatelja kvaliteta zrna tritikalea. Ova osobina je, pored genetske osnove u velikoj meri određena i agroekološkim uslovima, naročito u periodu formiranja i nalivanja zrna (Milovanović i sar., 2006; Madić i sar., 2018 i 2019; Đekić i sar., 2019). Kirchev et al. (2016) ističu da masa zrna u klasu i masa 1000 zrna najviše zavise od broja zrna u klasu, veličine i oblika zrna. U proseku za godine i varijante đubrenja masa 1000 zrna je bila značajno veća kod sorte KG-20 u odnosu na sortu Odisej. Sorta Odisej je, pored toga, imala i značajno manju masu 1000 zrna u drugoj u odnosu na prvu godinu (interakcija sorta/godina). Značajno veću masu 1000 zrna su obe sorte, u proseku za obe godine, imale na III i IV u odnosu na II varijantu đubrenja, dok je značajno manja masa 1000 zrna zabeležena na neđubrenoj u odnosu na đubrene varijantie ( $p < 0,01$ ). Posmatrano po godinama masa 1000 zrna se u prvoj godini značajno razlikovala između III i IV varijante đubrenja (interakcija đubrenje/godina). Obe sorte su, prosečno za sve varijante đubrenja, imale značajno veću masu 1000 zrna u prvoj u odnosu na drugu godinu ( $p < 0,01$ ). U proseku za godine i sorte, masa 1000 zrna je bila značajno veća na III i IV varijanti u odnosu na ostale varijante

đubrenja, pri čemu je na neđubrenoj varijanti njena vrednost bila značajno niža u odnosu na đubrene varijante ( $p < 0,01$ ). Ova razlika je naročito uočljiva kod sorte Odisej, čija je masa 1000 zrna na ovoj varijanti značajno manja od sorte KG-20 ( $p < 0,01$ ) (interakcija sorta/đubrenje). Posmatrano po godinama, postoji nesaglasnost u razlikama srednjih vrednosti na tretmanima sorta/đubrenje. Masa 1000 zrna u prvoj godini se razlikovala na III i IV varijanti đubrenja kod sorte KG-20, dok u drugoj godini nije bilo značajnih razlika između II i III varijante (interakcija sorta/đubrenje/godina). Kao i kod prinosa zrna, i kod mase 1000 zrna nesaglasnost u razlikama srednjih vrednosti interakcija prvog i drugog reda ukazuje na značajnost interakcije genotip/sredina, odnosno različitu reakciju sorti na količine mineralnih hraniva kao i promenljive meteorološke činioce. Klimatski uslovi su naročito važni tokom nalivanja zrna, jer nedostatak vlage i visoke temperature tokom ovog perioda utiču na smanjenje mase 1 000 zrna (Pržulj i sar., 2014), što potvrđuju i rezultati ovih istraživanja. Značajne razlike u masi zrna tritikalea nezavisno od godine, kao i značajne razlike između godina nezavisno od genotipa, takođe navode Kondić et al., (2012), dok Lalević i Biberdžić (2016) ukazuju da povećanje količine mineralnih đubriva, naročito azota, dovodi do povećanja prinosa i mase 1000 zrna. Sorta Odisej se odlikuje velikim brojem zrna po klasu (Lalević i Biberdžić, 2016); nešto dužim periodom vegetacije i srazmerno dužim periodom najivanja zrna u odnosu na sortu KG-20, tako da je osetljivija na nedostatak vode i visoke temperature u periodu od cvetanja - puna zrelost. Time se može objasniti manji prinos zrna i niža vrednost mase 1000 zrna sorte Odisej u odnosu na sortu KG-20.

### **Zaključak**

Obe sorte su u agroekološkim uslovima Požege ostvarile zadovoljavajući prinos i masu 1000 zrna. Sorta KG-20 je u obe godine imala veći prinos i masu 1000 zrna u odnosu na sortu Odisej. Prisustvo interakcija prvog i drugog reda ukazuje na nesaglasnost u reakciji sorti po godinama na promenljive agroekološke uslove, naročito na količine primenjenih hraniva, kao i promenljive klimatske činioce. Pri normiranju količina mineralnih hraniva za tritikale treba uzeti u obzir da njihovo iskorišćavanje u velikoj meri zavisi od sorte i agroekoloških uslova lokaliteta.

### **Napomena**

Istraživanja u ovom radu deo su projekata TR 031054 i TR 031092 koje finansira Ministarstvo prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije.

### **Literatura**

Biberdžić M., Jelić M., Deletić M., Barać S., Stojković S. (2012). Effects of agroclimatic conditions at trial locations and fertilization on grain yield of triticale. *Research Journal of Agricultural Science*, 44(1): 3-8.

- Biberdžić M., Barać S., Mihajlović I., Milenković J. (2006). Rezultati proizvodnje tritikalea na novoosnovanim površinama. Zbornik radova 41. Hrvatskog i 1. Međunarodnog znanstvenog Simpozija agronoma. Opatija, Hrvatska.
- Đekić V., Milivojević J., Madić M., Popović V., Branković S., Perišić V., Terzić D., (2019). Grain yield and quality of two-row winter barley cultivars on an acid soil. *Journal of Central European Agriculture*, 20(1): 238-250.
- Đekić V., Mitrović S., Milovanović M., Djurić N., Kresović B., Tapanarova A, Djermanović V, Mitrović M (2011). Implementation of triticale in nutrition of non ruminant animals. *African Journal of Biotechnology*, 10(30): 5697-5704.
- Kondić D, Knežević D, Paunović A (2012). Grain weight of genotypes of triticale (*x Triticosecale* Wittmack) in agroecological conditions of Banja Luka. *Genetika*, 44(2): 419-428.
- Kirchev H., Penchev E., Georgieva R. (2016). Yield plasticity and stability of triticale varieties (*x Triticosecale* Wittm.) under increasing nitrogen fertilization norms. *Research Journal of Agricultural Science*, 48 (2): 65-68.
- Lalević D., Biberdžić M. (2016). Uticaj doze azotnih đubriva na prinose i komponente prinosa ozimog tritikalea. *Journal of Agricultural Sciences*, 61(2): 127-135.
- Madić M., Đurović D., Jelić M., Rastija M., Paunović A., Bokan N. (2013). Response of triticale to mineral and organic fertilisation and liming on acid soil. 48<sup>th</sup> Croatian and 8<sup>th</sup> International Symposium on Agriculture. 17<sup>th</sup> – 22<sup>nd</sup> February 2013, Dubrovnik, Croatia. 520-524.
- Madić M., Paunović A., Đurović D., Marković G., Knežević D., Jelić M., Stupar V. (2018). Grain yield and its component in triticale grown on a pseudogley soil. *Journal of Central European Agriculture*, 19(1): 184-193.
- Madić M., Knežević D., Đurović D., Paunović A., Stevović V., Tomić D., Đekić V. (2019). Assessment of the correlation between grain yield and its components in spring barley on an acidic soil. *Acta Agriculturae Serbica*, XXIV(47): 41-49.
- Marković G., Madić M., Ćirković M., Brković D. (2012). Tritikale kao komponenta riblje hrane. XVII Savetovanje o biotehnologiji sa međunarodim učešćem, Zbornik radova, Agronomski fakultet Čačak, 6-7. april 2012., 17(19): 270-275.
- Milovanović M., Kuburović M., Stojanović S., Ognjanović R. (1995). Some recent results of winter triticale breeding in Kragujevac. 1st Balkan Symposium “Breeding and cultivation of wheat, sunflower and legume crops”, Albena- IWS, Bulgaria, Proceedings, 125-129.
- Milovanović M., Perišić V., Staletić M. (2006). Ozimi tritikale za intenzivne uslove proizvodnje-sorta Favorit. Zbornik radova Više tehničke škole Požarevac, Požarevac, 1-2: 93-97.
- Nožinić M., Mandić D., Marković M., Đurašinović G., Pržulj N. (2009). Triticale in the Years with Extreme Weather Conditions. *Plant Breeding and Seed Production*, Novi Sad, 15(4): 35-54.
- Oettler G., Wiethholter S., Horst W.J. (2000). Genetic parameters for agronomic traits of triticale and other small-grain cereals grown on aluminium-toxic soil in southern Brazil. *Plant Breeding*, 119: 227-231.



- Przulj N., Momcilovic V., Simic J., Miroslavljevic M. (2014). Effect of year and variety on barley quality. *Genetika*, 46(1): 59-73.
- Radecki V.S., Miller E.R. (1990). Triticale. In: Thacker, A.P. and R.N. Kirkwood, ed.: Nontraditional Feed sources for use in swine production, Butterwska, Boston, London, Singapore, Sydney, Toronto, Wellington.
- Stošović D., Biberdžić M., Jelić M., Paunović A., Jovović Z. (2010). Utjecaj gnojidbe dušikom na prinosa i komponente prinosa zrna tritikalea. 45th Croatian and 5th International Symposium on Agriculture, 15-19 February 2010, Opatija, Croatia, 935-939.

## GRAIN YIELD OF TRITICALE VARIETIES AS DEPENDENT ON MINERAL NUTRITION

*Milomirka Madić<sup>1</sup>, Milan Biberdžić<sup>2</sup>, Dragan Đurović<sup>1</sup>, Aleksandar Paunović<sup>1</sup>, Desimir Knežević<sup>2</sup>, Vladeta Stevović<sup>1</sup>, Dalibor Tomić<sup>1</sup>, Vera Rajičić<sup>3</sup>*

### Abstract

Field trials were set up during 2017/18 and 2018/19 in the Požega area (Western Serbia) to analyze the impact of mineral nutrition on the grain yield of triticale, a relatively new cereal crop. Two varieties of triticale (KG-20 and Odyssey) and four fertilizer treatments (non-fertilized and different amounts of nitrogen, phosphorus and potassium) were used in the experiment. The application of mineral fertilizers resulted in a significant increase in grain yield and 1,000 grains weight in both varieties. The presence of first- and second-order interactions (variety / fertilization / year) indicates different responses of the varieties to changing agroenvironmental conditions, especially the quantities of nutrients used, as well as to the changing climatic factors. When normalizing the quantities of mineral nutrients for triticale, it should be taken into account that their rates largely depend on the variety used as well as on the agroenvironmental conditions of the locality.

**Key words:** triticale, mineral nutrition, grain yield, 1,000-grain weight

---

<sup>1</sup>University of Kragujevac, Faculty of Agronomy in Čačak, Cara Dušana 34, Čačak, Srbija (mmadic@kg.ac.rs)

<sup>2</sup>University of Priština temporarily seated in Kosovska Mitrovica, Faculty of Agriculture, Kopaonička bb, Lešak, Serbia

<sup>3</sup>University of Niš, Faculty of Agriculture in Kruševac, Kosančićeva 4, 37000 Kruševac, Serbia



## DIGITAL ROENTGENOGRAPHY IS AN INNOVATIVE METHOD OF ASSESSING SEED QUALITY

*Evgenia P. Klyuchka<sup>1</sup>, Alexander D. Lukyanov<sup>2</sup>,  
Danila Yu. Donskoy<sup>3</sup>, Marko Petkovic<sup>4</sup>*

**Abstract:** An experimental study, which begins with an evaluation of the quality of seeds by Digital roentgenography, will bring significant savings for the organization, increase the accuracy and reproducibility of research. The choice should be made in the assessment of seed quality. Using the Digital roentgenography, it is possible to determine the tomato seed germination by two approaches. The first one is a percent ratio between the linear seed's dimension ( $R_{gL} = 45,78 \%$ ), and the second one is a percent ratio between the section square seed's dimension ( $R_{gS} = 49,33 \%$ ). Both values have a 10% tolerance.

**Key words:** Digital roentgenography, seeds, seedlings, assessment of seed quality, tomato

### Introduction

Plants and seeds for an experiment are a sophisticated element. The analysis should begin with an assessment of seed quality. A preliminary evaluation will bring significant savings for the organization of scientific research to increase the accuracy and reproducibility of scientific experiments. Standard methods can be morphological, biochemical, luminescent, and others. Conventional methods for assessing the quality of seeds do not cover the entire spectrum of modern requirements. An analysis of the literature showed that radiography is an effective method for determining seed quality (ISTA, 1999).

The advantage of Digital roentgenography (DR) is the use of imaging techniques. The DR preserves the integrity of the seeds in assessing their quality, which allows for further analysis by other methods. The DR enables the use of seeds for new sowing, which is an essential factor in working with small batches of seeds, reveals the extent of injured seeds, the presence of microcracks, and examines the population and damage of seeds by microorganisms. This information is of great importance in industrial practice, in cases where the seeds are stored or shipped to other regions. The DR provides almost the only

---

<sup>1</sup>Don State Technical University, Ploshchad' Gagarina 1, Rostov-on-Don, Russian Federation ([klyuchkae@mail.ru](mailto:klyuchkae@mail.ru));

<sup>2</sup>Don State Technical University, Ploshchad' Gagarina 1, Rostov-on-Don, Russian Federation ([alexlukjanov1998@gmail.com](mailto:alexlukjanov1998@gmail.com));

<sup>3</sup>Don State Technical University, Ploshchad' Gagarina 1, Rostov-on-Don, Russian Federation ([dand22@bk.ru](mailto:dand22@bk.ru));

<sup>4</sup>University of Kragujevac, Faculty of Agronomy Čačak, Cara Dušana 34, Čačak, Serbia ([marko.petkovic@kg.ac.rs](mailto:marko.petkovic@kg.ac.rs)).

opportunity to detect hidden seed germination (Nikolsky, 2015, Musaev et al., 2016). X-ray diffraction determines defects in the internal structure of seeds and the degree of viability and energy growth. The seeds of vegetables are poorly studied previously by the method of radiography compared with grains. The seeds of vegetable plants have significant differences in biology, morphology, biochemical composition and physiological state of the plant, which form the seeds (Gryaznov, et al., 2017). For these reasons, it requires unique methodological solutions and the organization of analytical processes (Musaev and Bukharov, 2016, Kim et al., 2015).

Thus, DR should be used as a universal imaging method for assessing the impact of various factors on the internal processes of the vegetative development of plants. For example, the influence of water quality on the process of swelling and germination, the effect of light regimes, the impact of various physical fields on the vegetative and root parts of plants (Musaev et al., 2015). The results of the experiments can be used for parametric modeling of an artificial microclimate in closed systems.

The aim of the study is to explore the possibility of using the DR for evaluation of seed quality by identifying the intrinsic attributes of seeds at different stages of development in the process of tomato germination.

## **Material and methods**

The DR was used to identify seeds with a visual assessment of standardized roentgenography of the original seeds and seeds of the next reproduction. The main components of the seeds are high molecular weight organic compounds, consisting mainly of polysaccharides and proteins, which complicates the visualization using X-ray computed tomography. We used correlative radiography with a resolution of about 20  $\mu\text{m}$  in combination with magnetic resonance imaging with a resolution of about 120  $\mu\text{m}$  to create the basis for visualization of germinated seeds. The seeds were grown using LED lighting of a different spectrum. In total, 40 tomato seeds were selected for research. For research, a microfocus radiation source RAP50 was used, having a range of variation of the anode voltage of the X-ray tube 5 – 50 kV, a variety of change of the anode current between 20 – 200  $\mu\text{A}$ .

The device Xradia Versa 520 (Carl Zeiss X-ray Microscopy, Inc., Germany) was used in a scientific experiment. The sample was placed in a plastic tube with a small piece of water moistened sponge and sealed with wax. The sample was applied at the lowest possible distance to the X-ray source. X-ray projections of the sample were obtained with a detector based charge-coupled array on the matrix solution 2048 $\times$ 2048 and cooled with Peltier elements to – 59 °C. The photography was done with binning 2; therefore, the resolution of the images, to store projections of up to 1024 $\times$ 1024 pixels. The choice of the filter to X-ray radiation was based on measured values of transmittance by the recommendations of the user's guide Xradia Versa 520. To minimize ring artifacts has been used Dynamic Ring Removal (DRR), which provided a small arbitrary displacement of the sample before taking each next

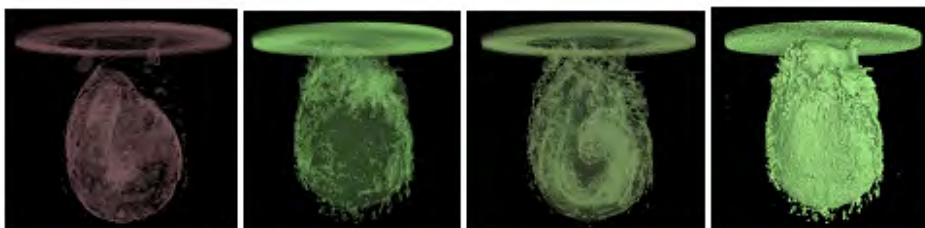
projection. In the process of imaging was done shooting ten backgrounds (reference) image of the air (without a sample between source and detector), which were averaged and applied to each received projection. The remaining parameters are listed in: Optical zoom (lens) 4X; Voltage, 30 kV; Power, 1,8 W; The target current, 58,8  $\mu$ A; Filter Without a filter; Exposure time, 7 sec; The voxel size, 3.39  $\mu$ m; The number of projections 1601. The method is standardized OCT56-94-88, ИСО6639/4-87. Analysis of seeds was performed by the “Method of Roentgenography in agriculture and crop production” (Musaev et al., 2015).

## **Results and discussion**

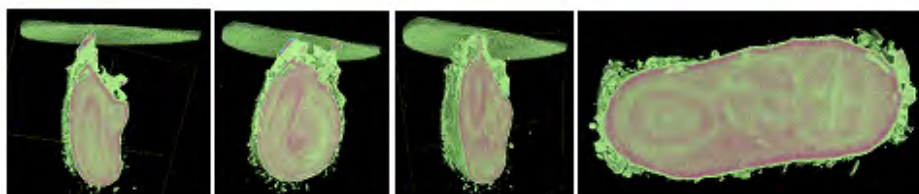
The study presents the regulation of morphogenesis in the growth process of tomato seeds, depending on the conditions of artificial microclimate (Graph. 1.). The physical properties of seeds are characterized by extended sizes and shapes, which are essential indicators of seed quality. The form of the seed indicates the degree of level of viability and energy germination. The type of the seed is also an external indicator of the processes of synthesis, transformation, distribution, and accumulation of organic substances in the embryonic and storage tissues. The specific form of the seed determines the kind and grade of culture and is characterized by the ratio of the linear dimensions: length, width, and thickness. A preliminary conclusion about the quality of the seed is formed by measurement and analysis of linear dimensions of the seeds of some form. The linear dimensions of the seeds are determined with a ruler; the complexity and uncertainty of such a method are apparent.

One of the most significant elements of the integrity of plant organisms is the polarity, that is, the axial or an axial organization of the body in space. Polarity is a specific orientation of activity and morphogenesis of plants in the area. Polarity can be defined as the existence of functionally important asymmetrical structures formed in response to a vectorized external or internal stimulus. Axial (or axial) polarity requires a well-developed longitudinal axis that bears lateral organs: lateral branches, roots, leaves, and flowers. Axial symmetry is the foundation on which to create a specific three-dimensional structure of the organism is orientation in space, the coordination of its functions, and adequate reaction to various stimuli. The axis of polarity appears on the stage of the zygote, forms the embryo and directs the processes of growth and development during the further ontogeny of the plant.

The analysis, which is based on the ratio of the linear dimensions, shape and axial polarity, has revealed the typical defects and anomalies of the internal structure of the seeds (Graph. 2.). For a full analysis of seed quality recording of abnormalities and weaknesses of the internal structure of seeds is not enough, it will be essential to determine the extent of their influence on viability by germination of seeds in the future. This approach addresses methods of digital phenotyping that are not considered here.



Graf. 1. Spoljašnja struktura semena paradajza  
*Graph. 1. The external structure of the seed tomato*

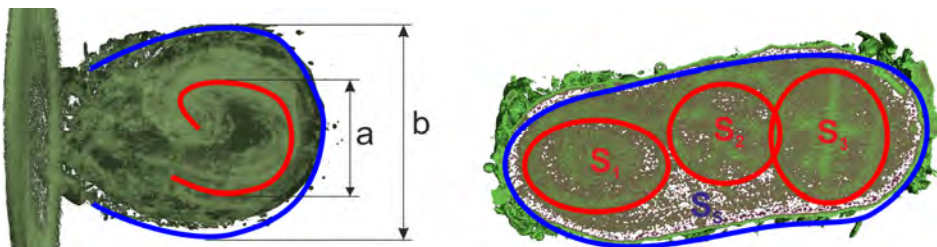


Graf. 2. Unutrašnja struktura semenke paradajza u fazi bubrenja  
 (3 dana tretiranja na veštačkom osvetljenju na 2000 Lux i temperaturi od 25 °C)

*Graph. 2. The internal structure of tomato seed in the stage of swelling  
 (3 days of training at artificial illumination at 2000 Lux and temperature of 25 °C)*

Traditional roentgenography is based on the collection of information focused on the film, which is both a detector image, the carrier image (memory), and virtual material archiving. The advantage of DR is the possibility of separation processes get the picture into stages, each of which can be individually optimized. These steps are the detection of spatial images; image processing, image recording; the image and the browsing; archiving. The first phase of the research involves creating a Bank of reference images. The difficulty that we are facing towards creating a Bank of reference images, associated with the notion of ontogenesis. Ontogeny traditionally involves the development of an individual organism, while the general patterns of morphogenesis refer to the formation and differentiation of organs and tissues. The problem is to separate the unique characteristics of the seeds and emphasize the morphogenesis of specific cultures and varieties. Therefore, the qualitative result of the study should be based on a large sample of events. A computer program automatically holds must process the images to identify the types of latent defects of the seed, to select seeds with different types of errors, and conducts automatic reporting and report generation in a separate file. The main disadvantage of currently developed computer programs is the lack of versatility.

Using the DR images, we can determine seeds germination faster, than the visual view. The Graph. 3. demonstrate two approaches for determining a seed germination ratio.



Graf. 3. Dva pristupa za izračunavanje stepena klijanja semena paradajza  
 Graph. 3. Two approaches for calculation a degree of seed tomato germination

The first approach lies in calculating a percent ratio  $R_{gL}$  between seed’s germ dimension  $a$  and a linear seed’s dimension  $b$  ( $R_{gL} = \frac{a}{b} \cdot 100 \%$ ). The second approach lies in calculating a percent ratio  $R_{gS}$  between germ section square  $S_1 + S_2 + S_3$  and a whole seed’s section square  $S_s$  ( $R_{gS} = \frac{S_1 + S_2 + S_3}{S_s} \cdot 100 \%$ ).

All values for both approaches can be easily calculated automatically (Table 1.):

Tabela 1. Procentualni odnos  $R_{gL}$  i  $R_{gS}$   
 Table 1. The percent ratio  $R_{gL}$  and  $R_{gS}$

Linearni pristup <i>Linear approach</i>		Kvadratni pristup <i>Square approach</i>		
	$R_{gL} (\%)$	$S_1$	$0,67 \text{ mm}^2$	$R_{gS} (\%)$
$a$	0,90 mm	$S_2$	$0,50 \text{ mm}^2$	49,33
$b$	1,66 mm	$S_3$	$0,72 \text{ mm}^2$	
		$S_s$	$3,73 \text{ mm}^2$	

Both values ( $R_{gL}$  and  $R_{gS}$ ) have a 10 % tolerance, but the square approach is slightly better for program realization.

### Conclusion

Its digital radiography method can guarantee the high-quality hybrid seeds without a single flawed internal structure of the seed. The technique makes it possible to determine the presence of mechanical trauma, a hidden population, and damage by insects, inner sprouting, and other defects and anomalies of the internal structure of seeds shown on the various types in varying degrees of intensity (Klyuchka et al., 2019).

Using the Digital roentgenography, it is possible to determine the tomato seed germination by two approaches. The first approach is a percent ratio between the

linear seed's dimension ( $R_{gl} = 45,78 \%$ ), and the second approach, more appropriate, is a percent ratio between the section square seed's dimension ( $R_{gs} = 49,33 \%$ ). Both values have a 10% tolerance.

Further evolution of the method can rapid assessment result in a high-speed X-ray separation of the seeds for which will further the maintenance of a data Bank for X-ray signs of vegetable seeds. With growing applicability due to reduced costs and increased computer processing capabilities images, 3-D X-ray imaging of the seeds will find its way not only in seed laboratories but also for modeling and design of various systems with artificial microclimate. As a result, their commercial value will only increase. It is expected that the methods and treatments using the technology of three-dimensional Roentgenography in the future will become part of the certification and standardization of seeds in regulations or guidance ISTA.

## References

- Gryaznov A. Yu., N. Staroverov. E. Batalov, K. S. (2017). Application of a method of Roentgenography for quality control of seeds. Horticulture and viticulture of South Russia. 48(06). UDC 58.087 Available at: <http://journal.kubansad.ru/pdf/17/06/06.pdf>
- International Seed Testing Association-ISTA, 1999. Biochemical test for viability. Seed Sci. Technol. (27 Supplement), 33-35.
- Kim J. H., Lee A. K., Suh J. K. (2015) Effect of warm and cold stratification, and ethanol treatment on germination of *Corylopsis* seeds. Horticultural Science. 43: 84–92.
- Klyuchka, E., Kuznetsov, D., Dudnik, V., Lukyanov, A., Gaponov, V. (2019). New Methods of Seeds Functional State and Activity Control for the Development of the Biotechnical Feedback Concept. AIP Conference Proceedings 2188(1), <https://doi.org/10.1063/1.5138408>
- Musaev F. B., Antoshkina M. S., Soldatenko A. V., Beletsky, S. L., Potrakhov N. N. (2015). algorithms of the automatic digital analysis of vegetable seeds quality. General agriculture: 86-88. UDC 631.531.011:517
- Musaev F. B., Bukharov A. F., Potrakhov N. N. (2016) The definition of internal (hidden) seed germination by the method of microfocus Roentgenography. Potatoes and vegetables. 10: 35-36.
- Musaev F. B., A. F. Bukharov (2016). The Roentgenography seeds of cucumber (*Cucumis sativus* L.): identification of defects. Bulletin of the Altai state agrarian University. 11(145): 10-15.
- Nikolsky M. A. (2015). International experience of the use introscopy research methods in agriculture biology and food industry. Horticulture and viticulture of South Russia. 34(04). UDC 631.811.98:634.8 Available at: <http://journal.kubansad.ru/pdf/15/04/04.pdf>



## DIGITALNA RENTGENOGRAFIJA JE INOVATIVNA METODA PROCENE KVALITETA SEMENA

*Evgenia P. Klyuchka<sup>1</sup>, Alexander D. Lukyanov<sup>2</sup>,  
Danila Yu. Donskoy<sup>3</sup>, Marko Petković<sup>4</sup>*

**Izvod:** Eksperimentalna studija, koja započinje ocenom kvaliteta semena Digitalnom roentgenografijom, doneće značajne uštede za organizaciju istraživanja, povećaće tačnost i obnovljivost naučnih eksperimenata. Digitalnom roentgenografijom moguće je utvrditi klijavost semenki paradajza pomoću dva pristupa. Prvi je procentualni odnos između linearne dimenzije semena ( $R_{gL} = 45,78\%$ ), a drugi je procentualni odnos između kvadratne dimenzije (površine) semena ( $R_{gS} = 49,33\%$ ). Obe vrednosti imaju 10% tolerancije.

**Ključne reči:** Digitalna rentgenografija, seme, sadnica, procena kvaliteta semena, paradajz

---

<sup>1</sup>Državni tehnički univerzitet Don, Trg Gagarina 1, Rostov na Donu, Ruska Federacija ([klyuchkae@mail.ru](mailto:klyuchkae@mail.ru));

<sup>2</sup>Državni tehnički univerzitet Don, Trg Gagarina 1, Rostov na Donu, Ruska Federacija ([alexlukjanov1998@gmail.com](mailto:alexlukjanov1998@gmail.com));

<sup>3</sup>Državni tehnički univerzitet Don, Trg Gagarina 1, Rostov na Donu, Ruska Federacija ([dand22@bk.ru](mailto:dand22@bk.ru));

<sup>4</sup>Univerzitet u Kragujevcu, Agronomski fakultet Čačak, Cara Dušana 34, Čačak, Srbija ([marko.petkovic@kg.ac.rs](mailto:marko.petkovic@kg.ac.rs)).



## PROIZVODNJA PIVA I JAKIH ALKOHOLNIH PIĆA SA DODATKOM PLODONOSNOG TELA GLJIVA *Coriolus versicolor* i *Ganoderma lucidum*

Jelena Pantović<sup>1</sup>, Saša Despotović<sup>2</sup>, Viktor Nedović<sup>2</sup>, Miomir Nikšić<sup>2</sup>

**Izvod:** Gljive predstavljaju deo tradicije zemalja Istočne Azije, posebno Kine, Japana, Koreje ali i područja na kojima su živeli Sloveni. Gljive su od davnina poznate po svojim nutritivnim i medicinskim svojstvima. *Ganoderma lucidum* korišćena je hiljadama godina u tradicionalnoj medicini dalekog istoka. Svoju slavu stekla je u lečenju raznih bolesti i zaslužno je stekla nazive poput „Eliksir života”, „Hrana bogova” i „Gljiva univerzuma”. Gljiva *Coriolus versicolor* ima značajna antitumorska i imunostimulatorska svojstva. Ova gljiva zbog čvrstog plodonosnog tela spada u nejestive lekovite gljive. Pivo je kompleksno piće. Sadrži preko 800 različitih komponenti, od kojih mnoge poseduju bioaktivna svojstva. Alkoholna pića poboljšavaju cirkulaciju krvi i pospešuju lekovitost. Proizvedeno je 9 ekstrakata maceracijom gljive *Coriolus versicolor* u šljivovoj prepečenici i 5 ekstrakata maceracijom gljive *Ganoderma lucidum* u različitim tipovima piva. Dobijena pića pokazala su veći antioksidativni i antimikrobni potencijal u odnosu na polazne alkoholne medijume i piva. Proizvedena pića su prema oceni potrošača novog, prijatnog i zanimljivog ukusa i boje, odnosno dobrih senzornih karakteristika. S obzirom na to istraživanja će ići u pravcu proizvodnje još nekih tipova jakih alkoholnih pića i piva sa dodatkom plodonosnih tela ove dve gljive u kombinaciji, ili pojedinačno.

**Ključne reči:** *Coriolus versicolor*, *Ganoderma lucidum*, pivo, jaka alkoholna pića

### Uvod

Poslednjih decenija, vršena su brojna istraživanja koja su se bavila zdravstvenim aspektima piva. Istraživanja potvrđuju da pivo u umerenim količinama ima blagotvorna svojstva poput: smanjenja rizika od kardiovaskularnih bolesti, snižavanja holesterola u krvi, regulacije insulina, prevencije osteoporoze i demencije, a ujedno predstavlja izvor vitamina, minerala i antioksidanasa. Gljive su od davnina poznate po svojim nutritivnim i medicinskim svojstvima. Gljive predstavljaju deo tradicije zemalja Istočne Azije, posebno Kine, Japana, Koreje ali i područja na kojima su živeli Sloveni (Wasser, 2002). *Ganoderma lucidum* korišćena je hiljadama godina u tradicionalnoj medicini dalekog istoka, korišćena je u verskim obredima, bila je

---

<sup>1</sup>Univerzitet u Kragujevcu, Agronomski fakultet u Čačku, Cara Dušana 34, Čačak, Srbija (jelenakovacic79@gmail.com);

<sup>2</sup>Univerzitet u Beogradu, Poljoprivredni fakultet Beograd, Nemanjina 6, 11080 Beograd, Zemun, Srbija;

dragocen poklon i inspiracija mnogim umetnicima, ispričana je u mnogim legendama, a danas predstavlja vredan proizvod sa tržištem od preko 2,5 milijardi US\$. Svoju slavu stekla je u lečenju raznih bolesti i zaslužen je stekla nazive poput „Eliksir života”, „Hrana bogova” i „Gljiva univerzuma”. Hemijskom karakterizacijom plodonosnog tela, spora i micelije *Ganoderma lucidum* otkriveno je preko 400 različitih komponenti. Polisaharidi i triterpeni predstavljaju dominantne grupe jedinjenja u plodonosnom telu gljive, a slede ih fenoli, steroidi, amino-kiseline, micini, vitamini, nukleozidi, masne kiseline, nukleotidi i elementi u tragovima. Gljiva *Coriolus versicolor* ima značajna antitumorska i imunostimulatorska svojstva. Ova gljiva zbog čvrstog plodonosnog tela spada u nejestive lekovite gljive. Iz ove gljive izolovani su polisaharidi za koje je dokazano da su biološki aktivne materije. Aktivne komponente ove gljive su β-glukan-proteini koji pokazuju antitumorska, antiviralna, antibakterijska, antioksidativna i imunomodulatorska svojstva i ergosterol. Istraživanja su pokazala da micelijum gljive *C. versicolor* sadrži dve najznačajnije bioaktivne komponente PSK (krestin) i PSP. Pored ove dve komponente sadrži i polisaharid koriolan za koji je dokazano da ima visoko antitumorsko dejstvo. Ove dve vrste gljiva našle su veliku primenu isključivo zbog njihovih medicinskih svojstava, a inače su nejestive zbog svoje grube i tvrde teksture i gorkog ukusa (Smith i saradnici, 2002). Polisaharidi gljiva ostvaruju indirektno antitumorni efekat aktiviranjem različitih odbrambenih imunih odgovora samog organizma, zbog čega su dobili naziv “biološki modulatori odgovora” (Mizuno, 1995; Mizuno i sar., 1995a, b; Mizuno, 1999).

Pivo je najpopularnije alkoholno piće širom sveta i drugo po broju konzumiranih alkoholnih pića u Evropi, što čini 37% od ukupne potrošnje alkohola u EU (Quifer-Rada, P., Vallverdú-Queralt, A., Martínez-Huélamo, M., Chiva-Blanch, G., Jáuregui, O., Estruch, R. and Lamuela-Raventós, R., 2015). Pivo je kompleksno piće. Sadrži preko 800 različitih komponenti, od kojih mnoge poseduju bioaktivna svojstva. Neke su posledica upotrebe različitih sirovina, koje u toku proizvodnje ostaju nepromenjene, dok su neke posledica hemijskih i biohemijskih transformacija nastalih u toku kumljenja, kuvanja, fermentacije i odležavanja (Briggs et al. 2004, Frías et al. 2016, Buiatti 2009). Zajedno, sve ove komponente daju jedinstven karakter pivu. Međutim, razni tipovi piva imaju sličan, a opet različit hemijski sastav (tabela 2.112 (Ferreira 2009, Baxter and Hughes 2001, Briggs et al. 2004, Buiatti 2009)). Jaka alkoholna pića se dobijaju alkoholnim vrenjem iz biljnih sirovina koje sadrže šećer (grožđe i dr. voće) ili skrob (ječam, kukuruz, raž, krompir), ili se dobijaju mešanjem ekstrakta, esencija i vode sa etanolom. Prema sadržaju etanola mogu se podeliti na slaba (pivo, vino, sake), srednje jaka (vermut, prošek, cherry, amaro, likeri) i jaka (rakija, viski, votka, džin, rum, konjak). Prema proizvodnom postupku razlikuju se alkoholna pića koja se proizvode bez primene destilacije i ona koja se proizvode uz primenu destilacije. Bez primene destilacije proizvode se pivo i vino; oni sadrže 5 do 20% etanola. Pića koja se proizvode destilacijom većinom su jaka, sadrže 12 do 55 ili više % etanola. Aroma destilata zavisi od vrste i

količine sirovine i od razlike u procesima fermentacije, destilacije i procesu starenja. Alkoholna pića poboljšavaju cirkulaciju krvi i pospešuju lekovitost (Nikšić i sar., 2001).

## Materijal i metode rada

Za proizvodnju eksperimentalnih piva korišćena je ohmeljena industrijska sladovina namenjena za proizvodnju svetlog lager piva dobijena od „BIP a.d“, Beograd. Kvasac donjeg vrenja *Saccharomyces pastorianus* dobijen je iz kolekcije iste pivare. Nabavljeno je i bezalkoholno i komercijalno pivo tipa *pils* sa lokalnog tržišta.

U istraživanju je korišćeno suvo plodonošno telo gljive *Coriolus versicolor* iz kolekcije za tehnološku mikrobiologiju Poljoprivrednog fakulteta u Beogradu. Ova gljiva je izolovana u okolini Beograda. Plodonošna tela su proizvedena na supstratu od hrastove strugotine i pšeničnih mekinja u poluindustrijskim uslovima, zatim su sušena do sadržaja vlage manje od 12%.

Uslovi za gajenje gljive *Coriolus versicolor*

Početni parametri su: prorastanje vegetativnog micelijuma, temperatura inkubacije 24-29°C, relativna vlažnost vazduha 90-100%, trajanje 14-21 dan. Formiranje primordija: početna temperatura 10-27°C, relativna vlažnost vazduha 95-100%, trajanje 7-14 dana, osvetljenje 500-2000 lux-a. Razvoj plodonosnih tela: temperature 18-24°C, relativna vlažnost vazduha 85-95%, trajanje 45-70 dana, osvetljenje 500-2000 lux-a. Ciklus plodonošenja: 2-3 talasa u toku tri meseca.

Suvo plodonošno telo gljive *Ganoderma lucidum* GL-I dobijeno je iz kolekcije za tehnološku mikrobiologiju Poljoprivrednog fakulteta u Beogradu. Gljiva je izolovana u okolini Beograda, na lokalitetu Bojčinske šume. Plodonošna tela su proizvedena na supstratu od hrastove strugotine i pšeničnih mekinja u poluindustrijskim uslovima, a potom osušena.

Kao poseban način dobijanja piva ispitana je mogućnost dodavanja dobijenog ekstrakta (G5) u komercijalno pivo tipa *pils* i bezalkoholno pivo nabavljeno sa lokalnog tržišta. Pivo je rashlađeno na temperaturu od 4±2°C, otvoreno i u aseptičnim uslovima dodat ekstrakt gljive. Nakon toga, pivo je zatvoreno i ostavljeno na odležavanje 24h na temperaturi od 4±2°C. Procedure za proizvodnju piva su bile sledeće:

- SP – bez dodatog ekstrakta,
- PG1 – 0,5 ml/l ekstrakta gljive,
- PG2 – 1,0 ml/l ekstrakta gljive,
- PG3 – 1,5 ml/l ekstrakta gljive,
- PG4 – 3,0 ml/l ekstrakta gljive,
- PG5 – 4,5 ml/l ekstrakta gljive;

Za proizvodnju pića sa dodatkom gljive korišćena je šljivova prepečenica proizvedena na oglednom dobru Radmilovac Poljoprivrednog fakulteta.

Proizvodnja ekstrakta gljive *Coriolus versicolor*: Usitnjena suva plodonosna tela gljive korišćena su za dobijanje sirovih alkoholnih ekstrakata 45% v/v. U istraživanju je napravljeno 9 ekstrakata, u kojima je ispitivan uticaj vremena ekstrakcije (5 dana, 15 dana i 30 dana), veličine čestica (seckani uzorci gljive) i temperature (sobna 25°C) na kvalitativne osobine ekstrakata.

Procedure za proizvodnju ekstrakata su sledeće:

**E1** -1% seckane gljive je estrahovano tokom 5 dana na sobnoj temperaturi na tamnom mestu;

**E2**-1% seckane gljive je estrahovano tokom 15 dana na sobnoj temperaturi na tamnom mestu;

**E3**-1% seckane gljive je estrahovano tokom 30 dana na sobnoj temperaturi na tamnom mestu;

**E4**-3% seckane gljive je estrahovano tokom 5 dana na sobnoj temperaturi na tamnom mestu;

**E5**-3% seckane gljive je estrahovano tokom 15 dana na sobnoj temperaturi na tamnom mestu;

**E6**-3% seckane gljive je estrahovano tokom 30 dana na sobnoj temperaturi na tamnom mestu;

**E7**-5% seckane gljive je estrahovano tokom 5 dana na sobnoj temperaturi na tamnom mestu;

**E8**-5% seckane gljive je estrahovano tokom 15 dana na sobnoj temperaturi na tamnom mestu;

**E9**-5% seckane gljive je estrahovano tokom 30 dana na sobnoj temperaturi na tamnom mestu;

## Rezultati istraživanja i diskusija

Nova pića dobijena su maceracijom. Dobijeno je 9 ekstrakata maceracijom gljive *Coriolus versicolor* u šljivovoj prepečenici i 5 ekstrakata maceracijom gljive *Ganoderma lucidum* u različitim tipovima piva. Dobijena pića pokazala su veći antioksidativni i antimikrobni potencijal u odnosu na polazne alkoholne medijume i piva. Proizvedena pića su prema oceni potrošača novog, prijatnog i zanimljivog ukusa i boje, odnosno dobrih senzornih karakteristika. Gljiva *Coriolus versicolor* je neutralnog mirisa i ukusa, tako da ne menja miris i ukus jakih alkoholnih pića, već utiče samo na boju od senzornih karakteristika. Istovremeno jaka alkoholna pića i pivo obogaćuju se antioksidativnim materijama i povećava se njihova antimikrobna aktivnost.

Tabela 1. Hemijski sastav različitih tipova piva  
 Table 1. Chemical composition of different types of beer

Hemijski sastav piva	Lager	Ale	Non-alcoholic beer
Alkohol [% v/v]	3,00-6,00	5,00-12,00	0,01-0,50
Ekstrakt [%]	3,52-5,17	3,31-10,24	6,52-10,64
pH	3,74-4,63	3,81-4,83	4,87-5,01
Diacetil [mg/l]	0,01-0,08	0,06-0,30	0,06-0,51
DMS [ $\mu$ g/l]	>15	>15	22-45
Glukoza [%]	0,49	1,0	0,61
Fruktoza [%]	0,18	1,0	0,25
Saharozna [%]	*	*	0,16
Maltoza [%]	0,25	0,7	5,00
Maltotrioza [%]	0,33	1,7	0,92

### Zaključak

Dobijena su nova alkoholna pića i piva sa zanimljivim senzornim karakteristikama za potrošače. Dobijeni su novi proizvodi koji imaju povećan antioksidativni i antimikrobni potencijal. Prema oceni potrošača dobijena pića zadovoljavaju njihove kriterijume. Na osnovu dobijenih rezultata može se zaključiti da je upravo bezalkoholno pivo sa ekstraktom *Ganoderma lucidum* proizvod koji ima najviše potencijala na tržištu. Svojim senzornim svojstvima, funkcionalnom vrednošću zahvaljujući sadržaju bioaktivnih supstanci i projektovanoj ceni koštanja, mogao bi zauzeti posebno mesto na tržištu i to ne samo kod potrošača koji su opredeljeni za pivo bez sadržaja alkohola, već i potrošača koji teže proizvodima sa dodatkom vrednošću koji pri tome imaju superiorna senzorna svojstva u odnosu sa standardne proizvode. S obzirom na to istraživanja će ići u pravcu proizvodnje još nekih tipova jakih alkoholnih pića i piva sa dodatkom plodonosnih tela ove dve gljive u kombinaciji, ili pojedinačno.

### Napomena

Istraživanja u ovom radu deo su projekta ИИИ 46010, Razvoj novih inkapsulacionih i enzimskih tehnologija za proizvodnju biokatalizatora i biološki aktivnih komponenata u hrani u cilju povećanja njene konkurentnosti, kvaliteta i bezbednosti koji finansira Ministarstva prosvete, nauke i obrazovanja Republike Srbije

## Literatura

- Briggs, D., Boulton, C., Brookes, P. and Stevens, R. (2004) 'Chemical and physical properties of beer', 662-712.
- Buiatti, S. (2009) 'Beer composition: an overview', Beer in health and disease prevention, 213-226.
- Mizuno, T. (1995) 'Bioactive biomolecules of mushrooms: food function and medicinal effect of mushroom fungi', Food Reviews International, 11(1), 5-21.
- Mizuno, T., Wang, G., Zhang, J., Kawagishi, H., Nishitoba, T. and Li, J. (1995) 'Reishi, Ganoderma lucidum and Ganoderma tsugae: bioactive substances and medicinal effects', Food Reviews International, 11(1), 151-166.
- Quifer-Rada, P., Vallverdú-Queralt, A., Martínez-Huélamó, M., Chiva-Blanch, G., Jáuregui, O., Estruch, R. and Lamuela-Raventós, R. (2015) 'A comprehensive characterisation of beer polyphenols by high resolution mass spectrometry (LC-ESI-LTQ-Orbitrap-MS)', Food Chemistry, 169, 336-343.
- Nikićević, N., Tešević, V., (2008) Jaka alkoholna pića-analitika i praksa, Poljoknjiga-Beograd
- Smith J., Rowan R., Sullivan R. (2002). Medicinal Mushrooms: Their therapeutic properties and current medical usage with special emphasis on cancer treatments. University of Strathclyde, Glasgow, UK.
- Wasser, S.P., 2011., Current findings, future trends, and unsolved problems in studies of medicinal mushrooms. Applied Microbiology and Biotechnology, 89, 1323-1332.



## **PRODUCTION OF BEER AND STRONG ALCOHOLIC BEVERAGES WITH ADDITION OF FERTILIZER BODY *Coriolus versicolor* and *Ganoderma lucidum***

*Jelena Pantović<sup>1</sup>, Saša Despotović<sup>2</sup>, Viktor Nedović<sup>2</sup>, Miomir Nikšić<sup>2</sup>*

### **Abstract**

Mushrooms are part of the tradition of East Asian countries, especially China, Japan, Korea and the areas where the Slavs lived. Mushrooms have long been known for their nutritional and medicinal properties. *Ganoderma lucidum* has been used for thousands of years in traditional Far Eastern medicine. She gained her fame in the treatment of various ailments and has deservedly been given names such as "Elixir of Life", "Food of the Gods" and "Mushroom of the Universe". *Coriolus versicolor* has significant antitumor and immunostimulatory properties. Due to its solid fruiting body, this fungus is an inedible medicinal mushroom. Beer is a complex drink. It contains over 800 different components, many of which have bioactive properties. Alcoholic beverages improve blood circulation and promote healing. 9 extracts were produced by maceration of *Coriolus versicolor* in plum rusk and 5 extracts by maceration of *Ganoderma lucidum* in different types of beer. The obtained beverages showed higher antioxidant and antimicrobial potential compared to starting alcoholic beverages and beers. The drinks produced are judged by the consumers to have new, pleasant and interesting taste and color, or good sensory characteristics. In view of this research will go towards the production of some other types of strong alcoholic beverages and beer with the addition of the fruiting bodies of these two mushrooms in combination, or individually.

**Key words:** *Coriolus versicolor*, *Ganoderma lucidum*, beer, alcoholic drinks

---

<sup>1</sup>Univerzitet u Kragujevcu, Agronomski fakultet u Čačku, Cara Dušana 34, Čačak, Srbija (jelenakovacic79@gmail.com);

<sup>2</sup>Univerzitet u Beogradu, Poljoprivredni fakultet Beograd, Nemanjina 6, 11080 Beograd, Zemun, Srbija;



## UTICAJ DUŽINE MACERACIJE CV. CABERNET SAUVIGNON NA FENOLNI SASTAV I ANTIOKSIDATIVNI POTENCIJAL VINA

*Nikolina Lisov<sup>1</sup>, Ivana Plavšić<sup>1</sup>, Valerija Madžgalj<sup>2</sup>, Danijela Petrović<sup>3</sup>, Aleksandar Petrović<sup>1</sup>, Ljiljana Gojković-Bukarica<sup>4</sup>*

**Izvod:** Cilj ovog rada bio je ispitivanje uticaja dužine maceracije na sadržaj ukupnih fenolnih jedinjenja kao i antioksidativni potencijal vina sorte Cabernet Sauvignon poredivši 2016. i 2017. godinu. Kontrola je dobijena odvajanjem šire odmah nakon muljanja, a ostali uzorci vina su odvajani od komine nakon 3., 5., 7., 14. i 21. dana, respektivno. Maksimalni sadržaj ukupnih fenolnih jedinjenja u vinu, za berbu 2016. i 2017. zabeležen je 19. dana maceracije u količinama 1,17 g l<sup>-1</sup> za 2016. godinu i 1,53 g l<sup>-1</sup> za 2017. godinu izraženih kao galna kiselina. Pokazana je statistički značajna razlika između sadržaja ukupnih fenolnih jedinjenja i FRAP vrednosti za obe godine istraživanja (P<0,05).

**Cljučne reči:** maceracija, fenolna jedinjenja, antioksidativnost

### Uvod

Fenolna jedinjenja igraju važnu ulogu u kvalitetu grožđa i vina, doprinoseći senzornim osobinama kao što su boja, oporost i gorčina. (Lopez i sar., 2009.). Fenolna jedinjenja iz vina mogu se klasifikovati u dve grupe: neflavonoidna jedinjenja (hidroksicimetne i hidroksibenzojeve kiseline i njihovi derivati i stilbeni) koji učestvuju u reakcijama oksidacije koje dovode do potamnjenja vina, i flavonoidnih jedinjenja (antocijana, flavanola i flavonola) koji doprinose boji vina budući da su antocijanini glavni pigmenti crvenog vina (Burin i sar., 2011.). Sadržaj ukupnih fenola u vinu je intenzivno proučavan, uglavnom sa stanovišta blagotvornih efekata na zdravlje, jer pored antioksidativnih karakteristika ispoljavaju i antiinflamatorne i antikancerogene efekte (Gojković-Bukarica i sar., 2019.). Fenolna jedinjenja poseduju funkcionalnu i fiziološku ulogu ponašajući se kao antioksidanti sprečavajući oksidaciju slobodnih radikala. Oni poseduju antioksidativno dejstvo u ljudskom organizmu, koje je povezano sa konzumacijom crvenog vina (Di Majo i sar., 2008.).

U ovom istraživanju proučavan je uticaj različitog vremena maceracije, kao i dodatak pektolitičkih enzima, u cilju poboljšanja uslova ekstrakcije fenolnih jedinjenja iz bobice grožđa. Dejstvom pektolitičkih enzima povećava se prinos šire,

---

<sup>1</sup>Univerzitet u Beogradu, Poljoprivredni fakultet, Nemanjina 6, Zemun, Beograd, Srbija (zesta@verat.net);

<sup>2</sup>“13. Jul Plantaže” ad., Put Radomira Ivanovića 2, Podgorica, Crna Gora;

<sup>3</sup>Hemijisko-prehrambena tehnološka škola, Lješka 82, Čukarica, Beograd, Srbija ;

<sup>4</sup>Univerzitet u Beogradu, Medicinski fakultet, dr Subotića 8, Beograd;

razarajući strukturu bobice i samim tim doprinosi većem sadržaju fenolnih jedinjenja u vinu (Kelebek i sar., 2009.).

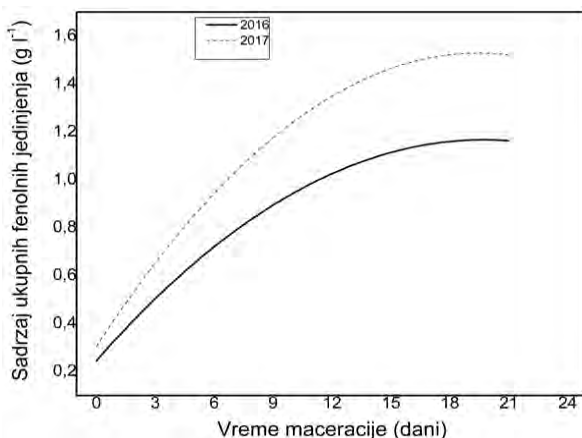
### **Materijal i metode rada**

Grožđe korišćeno u ovom istraživanju ubrano je u stanju tehnološke zrelosti i potiče iz vinograda (Radmilovac) oglednog dobra Poljoprivrednog fakulteta Univerziteta u Beogradu. Fitosanitarano stanje grožđa – zdravo 100% (vizuelno). Primarna prerada i vinifikacija sprovedena je u prostorijama vinarije oglednog dobra Poljoprivrednog fakulteta u Beogradu, Radmilovac 2016. i 2017. godine, u cilju poređenja dobijenih rezultata. Tehnološki postupak prerade grožđa podrazumevao je dezintegraciju bobica uz odvajanje šepurine (Griffo, Italija). Dobijeni kljuk je sulfitisano sa 5 g/100 kg slobodnog SO<sub>2</sub> (10 g K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>5</sub>/100 kg) i tretiran komercijalnim pektolitičkim enzimskim preparatom EXV (Lallemand, Kanada) u količini od 2 g hl<sup>-1</sup>. Nakon toga kljuk je zasejan čistom kulturom selekcionisanog vinskog kvasca BDX (Lallemand, Kanada) u količini 20 g hl<sup>-1</sup> i podvrgnut alkoholnoj fermentaciji sa maceracijom na temperaturi 25±2°C uz dva potapanja dnevno (pigeagé). Tečni deo je odvajan od komine odmah posle muljanja (kontrola), zatim posle 3., 5., 7., 14. i 21. dana od početka fermentacije, respektivno.

Za određivanje ukupnog sadržaja fenolnih jedinjenja korišćena je metoda po Folin-Ciocalteu (Tanner i Brunner, 1979.). Pored ove metode korišćene su i metode za određivanje antioksidativnog potencijala, DPPH (Blois, 1958.) i FRAP (Benzie i Strain, 1996.).

### **Rezultati istraživanja i diskusija**

Produženjem vremena maceracije povećava se sadržaj ukupnih fenolnih jedinjenja u obe godine istraživanja, a samim tim raste i antioksidativni kapacitet ispitivanih vina, što je u skladu i sa prethodnim istraživanjima (Gomez-Plaza i sar., 2001., Plavša i sar., 2012., Petrović i sar., 2019.). Najveći sadržaj ekstrahovanih ukupnih fenolnih jedinjenja za berbu 2016. i 2017. dostignut je devetnaestog dana maceracije u količinama 1,17 g l<sup>-1</sup> za 2016. godinu i 1,53 g l<sup>-1</sup> za 2017. godinu izraženih kao galna kiselina. Nakon tih maksimuma dolazi do eksponencijalnog opadanja sadržaja ukupnih fenolnih jedinjenja što se može objasniti njihovim međusobnim interakcijama (oksidacije, polimerizacije i kondenzacije), a jedan deo adsorbuje kvasac prilikom taloženja (Grafikon 1). Utvrđena je statistički značajna razlika za 2016. i 2017. godinu u sadržaju ukupnih fenolnih jedinjenja na nivou značajnosti (P<0,05).



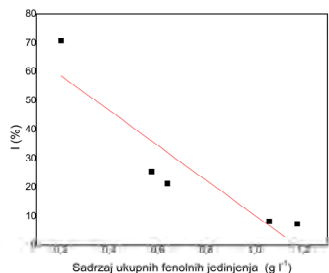
Graf. 1. Zavisnost sadržaja ukupnih fenolnih jedinjenja od vremena maceracije  
 Graph. 1. Correlation between total phenol content and maceration time

Iz rezultata dobijenih antioksidativnim testovima (Tabela 1), možemo da zaključimo da vina koja su imala duže vreme maceracije imaju i veći antioksidativni kapacitet. Statističke analize nisu pokazale značajnu razliku u antioksidativnom potencijalu vina iz 2016. i 2017. godine merenim DPPH testom, dok je dokazana statistički značajna razlika u vrednostima dobijenim FRAP testom za obe godine, na nivou značajnosti ( $P < 0,05$ ).

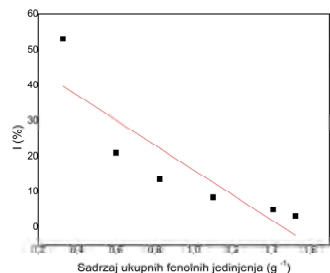
Sadržaj ukupnih fenolnih jedinjenja je u pozitivnoj korelaciji sa vrednostima antioksidativnih testova DPPH i FRAP, što je prikazano na graficima (Grafikoni 2, 3, 4, 5).

Tabela 1. Odnos vremena maceracije i vrednosti antioksidativnih testova  
 Table 1. Correlation between maceration time and values of antioxidant tests

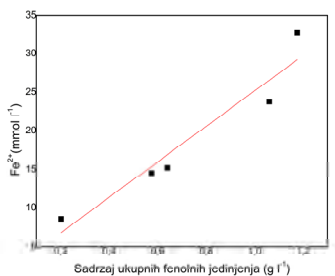
Vreme maceracije (dani) Maceration time (days)	2016		2017	
	DPPH (%) DPPH (%)	FRAP (mmol l <sup>-1</sup> ) FRAP (mmol l <sup>-1</sup> )	DPPH (%) DPPH (%)	FRAP (mmol l <sup>-1</sup> ) FRAP (mmol l <sup>-1</sup> )
0	70.90	8.52	53.13	8.07
3	25.51	14.53	21.00	8.16
5	21.27	15.22	13.50	11.07
7	-	-	8.40	20.40
14	8.18	23.76	5.05	28.80
21	7.33	32.80	3.20	36.06



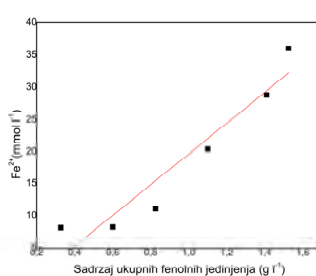
Graf.2. Zavisnost količine ukupnih fenolnih jedinjenja i DPPH testa (2016)  
*Graph.2. Positive correlation between total phenol content and anti-DPPH radical activity (2016)*



Graf.3. Zavisnost količine ukupnih fenolnih jedinjenja i DPPH testa (2017)  
*Graph.3. Positive correlation between total phenol content and anti-DPPH radical activity (2017)*



Graf.4. Zavisnost količine ukupnih fenolnih jedinjenja i FRAP testa (2016)  
*Graph.4. Positive correlation between total phenol content and FRAP values (2016)*



Graf.5. Zavisnost količine ukupnih fenolnih jedinjenja i FRAP testa (2017)  
*Graph.5. Positive correlation between total phenol content and FRAP values (2017)*

## Zaključak

Fenolna jedinjenja crvenih vina ispoljavaju različite blagotvorne efekte na zdravlje ljudi. Pored njihove količinske zastupljenosti u čvrstim delovima bobice grozda (pokožica, semenke), bitna je i njihova ekstraktibilnost tj. koliko će ovih materija preći u vino što zavisi od uslova vinifikacije (kvasci, temperatura, broj potapanja). Kako je alkohol koji nastaje iz šećera tokom fermentacije ekstragens ovih materija, to će od dinamike njegovog nastajanja zavisti i dinamika ekstrakcije fenolnih jedinjenja. Upravo, savremena nauka radi na iznalaženju najoptimalnijeg postupka vinifikacije crnih sorti grožđa kako bi se vino u što većoj meri obogatilo biološki aktivnim komponentama.

## Napomena

Istraživanja u ovom radu deo su projekta TR 31020 koji finansira Ministarstvo prosvete, nauke i tehnološkog razvoja.

## Literatura

- López N., Puértolas E., Hernández-Orte P., Álvarez I., Raso J. (2009). Effect of a pulsed electric field treatment on the anthocyanins composition and other quality parameters of Cabernet Sauvignon freshly fermented model wines obtained after different maceration times. *LWT - Food Science and Technology*, 42, 1225-1231.
- Burin V.M., Freitas Costa L.L., Pierre Rosier J., Bordignon-Luiz M. (2011). Cabernet Sauvignon wines from two different clones, characterization and evolution during bottle ageing. *LWT Food Science and Technology* 44, 1931-1938.
- Di Majo D., La Guardia M., Giammanco S., La Neve L., Giammanco M. (2008). The antioxidant capacity of red wine in relationship with its polyphenolic constituents. *Food Chemistry* 111, 45-49.
- Kelebek H., Canbas A., Selli S. (2009). Effects of different maceration times and pectolytic enzyme addition on the anthocyanin composition of *vitis vinifera* cv. Kalecik Karasi wines. *Journal of Food Processing and Preservation* 33, 296-311.
- Tanner H., Brunner H. R. (1979). “Gentranke-Analytik,” Verlag Heller Chemie und Verwaltungsgesellschaft mbH, Germany. Poglavlje 4: str. 20-23 i str. 88- 89.
- Blois M.S. (1958). Antioxidant determinations by use of a stable free radical. *Nature* 181, 1199-1200.
- Benzie I. F. F., & Strain J. J. (1996). The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”: the FRAP assay. *Analytical Biochemistry* 239, 70-76.
- Plavša T., Jurinjak N., Antunović D., Peršurić Đ., Kovačević Ganić K. (2012). The Influence of skin maceration time on the phenolic composition and antioxidant activity of red wine teran (*Vitis vinifera* L.). *Food Technology and Biotechnology* 50 (2), 152-158.
- Gojković-Bukarica Lj., Markovic-Lipkovski J., Heinle H., Cirovic S., Rajkovic J., Djokic V., Zivanovic V., Bukarica A., Novakovic R. (2019). The red wine polyphenol resveratrol induced relaxation of the isolated renal artery of diabetic rats: The role of potassium channel. *Journal of Functional Foods* 52, 266-275.
- Gómez-Plaza E., Gil-Muñoz R., López-Roca J.M., Martínez-Cutillas A., Fernández-Fernández J.I. (2001). Phenolic Compounds and Color Stability of Red Wines: Effect of Skin Maceration Time. *American Journal of Enology and Viticulture* 52, 266-270.
- Petrović A., Lisov N., Čakar U., Marković N., Matijašević S., Cvejić J., Atanacković M., Gojković Bukarica Lj. (2019). The effects of Prokupac variety clones and vinification method on the quantity of resveratrol in wine. *Food and Feed Research*. 46(2), 189-198.

## INFLUENCE OF MACERATION TIME CV. CABERNET SAUVIGNON ON TOTAL PHENOL CONTENT AND ANTIOXIDANT CAPACITY OF WINES

*Nikolina Lisov<sup>1</sup>, Ivana Plavšić<sup>1</sup>, Valerija Madžgalj<sup>2</sup>, Danijela Petrović<sup>3</sup>, Aleksandar Petrović<sup>1</sup>, Ljiljana Gojković-Bukarica<sup>4</sup>*

### Abstract

The aim of this paper was to investigate the influence of maceration time on the total phenol content and antioxidant capacity of Cabernet Sauvignon wines for 2016 and 2017 years. Control sample was obtained immediately after crashing, and other samples were separated after 3, 5, 7, 14 i 21 days. Maximal values of total phenol content of wines (2016 and 2017) were determined at 19th day from start of maceration. For wines of 2016 it was 1,17g l<sup>-1</sup> as GAE and 1,53 g l<sup>-1</sup> as GAE for wines of 2017. Statistical analysis showed positive correlations between the antioxidant activity determined by FRAP method and total phenol content for two years of investigation.

**Key words:** maceration, total phenol content, antioxidant capacity

---

<sup>1</sup>University of Belgrade, Faculty of Agriculture, Nemanjina 6, Zemun, Belgrade, Serbia (zesta@verat.net);

<sup>2</sup>“13. Jul Plantaže” ad., Put Radomira Ivanovića 2, Podgorica, Montenegro;

<sup>3</sup>Secondary school of Chemical and Food processing science, Ljeska 82, Belgrade, Serbia;

<sup>4</sup>University of Belgrade, Faculty of Medicine, dr Subotića 8, Belgrade, Serbia;



**PRELIMINARNO ISPITIVANJE ANTIMIKROBNOG I  
ANTIGENOTOKSIČNOG POTENCIJALA EKSTRAKATA ČEŠNJAČE  
(*Alliaria petiolata*, Brassicaceae)**

*Jelena S. Katanić Stanković<sup>1,\*</sup>, Sanja Matić<sup>1</sup>, Nikola Srećković<sup>2</sup>,  
Snežana Stanić<sup>3</sup>, Vladimir Mihailović<sup>2</sup>*

**Izvod:** Češnjača (*Alliaria petiolata*, Brassicaceae) je do sada nedovoljno ispitana, jestiva biljna vrsta koja je u upotrebi kako u kulinarstvu, tako i u tradicionalnoj medicini. U ovom radu, po prvi put, ispitan je antimikrobni potencijal metanolnih ekstrakata nadzemnog dela (APA) i korena (APR) češnjače i *in vitro* protektivni efekti ekstrakata kod oštećenja DNK indukovanih hidroksil i peroksil radikalima. Dobijeni rezultati ukazuju da su APA i APR ekstrakti ispoljili umerenu antimikrobnu aktivnost i značajan DNK-protektivni potencijal kod oksidativnih oštećenja izazvanih slobodnim radikalima, što podstiče dalja istraživanja i njihovu potencijalnu upotrebu u prehrambene i/ili farmakološke svrhe.

**Ključne reči:** *Alliaria petiolata*, češnjača, antimikrobna aktivnost, DNK-protektivni potencijal

### Uvod

*Alliaria petiolata* (M.Bieb.) Cavara & Grande, poznata u narodu kao češnjača (eng. *Garlic mustard* - beli luk, senf), je biljka iz porodice Brassicaceae. Listovi, cvetovi, kao i plod ove biljke su jestivi i imaju miris koji podseća i na beli luk i na senf, pa se koriste u kulinarstvu. Češnjača se, zahvaljujuću svojim farmakološkim osobinama, koristi i u tradicionalnoj medicini. Čaj od listova je u upotrebi za pročišćavanje krvi, nadzemni deo biljke u cvetu koristi se kao ekspektorant, antiseptik, antiastmatik, za zarastanje rana, kod ulceroznih promena na koži, a sok od biljke pospešuje protok krvi (Blažević i Mastelić, 2008). Jedinstvene organoleptičke osobine češnjače razvijaju se zbog prisustva glukozinolata ( $\beta$ -tioglukozid-N-hidroksisulfata), hemijskih jedinjenja koja predstavljaju sekundarne metabolite karakteristične za porodicu Brassicaceae (Avato i Argentieri, 2015). Glukozinolati se oslobađaju delovanjem enzima mirozinaze nakon oštećenja biljnog tkiva. *A. petiolata* sadrži glukozinolat sinigrin, koji učestvuje u zaštiti biljke od bolesti i štetočina, i aliarinozid,  $\gamma$ -hidroksinitril glukozid koji ima ulogu u odbrani biljke od herbivora (Frisch i sar., 2015). Pored toga, prisutni su i glikozidni

---

<sup>1</sup>Univerzitet u Kragujevcu, Institut za informacione tehnologije, Jovana Cvijića bb, 34000 Kragujevac, Srbija ([jkatanic@kg.ac.rs](mailto:jkatanic@kg.ac.rs));

<sup>2</sup>Univerzitet u Kragujevcu, Prirodno matematički fakultet, Institut za hemiju, Radoja Domanovića 12, 34000 Kragujevac, Srbija;

<sup>3</sup>Univerzitet u Kragujevcu, Prirodno matematički fakultet, Institut za biologiju i ekologiju, Radoja Domanovića 12, 34000 Kragujevac, Srbija.

derivati izoorientina i izoviteksina. Zbog specifičnih produkata sekundarnog metabolizma (izotiocijanat, nitril ili tiocijanat), ova biljka pokazuje veliki afinitet ka invazivnosti, pogotovo na teritoriji Severne Amerike (Cipollini i Cipollini, 2016). Predmet ovog rada bio je ispitivanje antimikrobnog i antigenotoksičnog potencijala metanolnih ekstrakata nadzemnog dela (APA) i korena (APR) *A. petiolata*, radi ukazivanja na pozitivne biološke osobine ove biljne vrste u cilju podsticanja njene upotrebe u prehrambene i/ili farmakološke svrhe.

## Materijal i metode rada

Biljni materijal je sakupljen u periodu cvetanja u selu Prijedor, u blizini Ovučarsko-Kablarske klisure, u aprilu 2014. godine. Sistematizacija i identifikacija biljke (broj vaučera 122/015) izvršena je u Institutu za biologiju i ekologiju, Prirodno-matematičkog fakulteta, Univerziteta u Kragujevcu. Osušen biljni materijal (nadzemni deo u cvetu i koren) ekstrahovan je metanolom, a dobijeni ekstrakti su upareni do suva sa masenim prinostom 18,22% za APA i 8,60% za APR.

Količina ukupnih fenolnih jedinjenja određena je metodom po Folin-Ciocalteu (Singleton i sar., 1999), a rezultati izraženi u ekvivalentima galne kiseline (mg GA/g ekstrakta).

Za *in vitro* ispitivanje antimikrobne aktivnosti metanolnih ekstrakata nadzemnih delova i korena *A. petiolata* korišćene su serije od 6 sojeva Gram-pozitivnih (G+) i Gram-negativnih (G-) bakterija i 6 fungalnih vrsta, preciznije njihovih standardnih (ATCC) i izolovanih (FSB) kultura, koje su navedene u Tabelama 1 i 2. Za određivanje antibakterijske i antifungalne aktivnosti APA i APR primenjena je mikrodiluciona metoda (Sarker i sar., 2007), koja se zasniva na određivanju minimalne inhibitorne koncentracije (MIC), odnosno minimalne koncentracije antimikrobnog jedinjenja koja inhibira rast i razvoj mikroorganizma. Kao standardni antibiotik i antimikotik korišćeni su hloramfenikol, odnosno ketokonazol. Početna koncentracija ekstrakata bila je 20 mg/mL, a antibiotika i antimikotika 10 µg/mL.

Zaštitna aktivnost ekstrakata biljke *A. petiolata* u različitim koncentracijama (25, 50, 100, 200 i 400 µg/mL) od oštećenja DNK izazvanih hidrosil radikalima utvrđena je prema metodi Lin i sar. (2008). Antigenotoksični efekat ekstrakata biljke *A. petiolata* (25, 50, 100, 200 i 400 µg/mL) na oštećenja DNK indukovana peroksil radikalima poreklom od 2,2'-azobis (2-amidinopropan) dihidrohlorida (AAPH) ispitivan je prema metodi Zhang i sar. (2017). U obe metode kao standard korišćen je flavonoid kvercetin u koncentraciji od 100 mM. Rezultati ispitivanja antigenotoksične aktivnosti su izraženi kao srednja vrednost  $\pm$  SD ( $n = 3$ ). Statistička procena podataka je analizirana sa ANOVA testom korišćenjem SPSS statističkog softverskog paketa, verzija 13.0 za Windows. Nivo značajnosti je postavljen na  $p < 0,05$ , pri čemu \* i \*\* ukazuju na statistički značajnu razliku u poređenju sa negativnim i pozitivnim kontrolnim grupama.

## Rezultati istraživanja i diskusija

Primenom spektrofotometrijskih metoda je potvrđeno da APA sadrži znatno veću količinu ukupnih fenolnih jedinjenja (~330 mg GA/g) u odnosu na APR (~150 mg GA/g) ekstrakt. Pregledom literaturnih podataka ustanovljeno je da, pored derivata flavona izoorientina i izoviteksina, biljka *A. petiolata* sadrži još i kempferol i njegove glikozide, kao i svercijajaponin, svertizin i izoskoparin-2''-β-D-glukopiranozid (Kumarasamy i sar., 2004; Barto i Cipollini, 2009), koji doprinose ukupnoj količini fenolnih jedinjenja u ekstraktima, a time i njihovom biološkom potencijalu.

Vrednosti minimalne inhibitorne koncentracije ekstrakata češnjače pri ispitivanju antibakterijskog delovanja (Tabela 1) bile su u rangu od 5-20 mg/mL. Dobijeni rezultati ukazuju da su APA i APR bili najefikasniji u sprečavanju rasta i razvoja dve bakterijske vrste, i to *M. lysodeikticus* i *A. chroococum*, sa MIC vrednošću 5 mg/mL u slučaju oba ekstrakata. Na preostale bakterijske vrste testirani ekstrakti su imali umerenu antibakterijsku aktivnost (MIC 10-20 mg/mL), dok je kod *K. pneumoniae* i *P. aeruginosa* u potpunosti izostalo delovanje APR u najvišoj primenjenoj koncentraciji (MIC > 20 mg/mL). Antibiotik hloramfenikol ispoljio je antibakterijsko delovanje u znatno nižem rangu koncentracija od 2,5-10 µg/mL.

Tabela 1. Antibakterijska aktivnost metanolnih ekstrakata nadzemnog dela (APA) i korena (APR) biljke *A. petiolata*

Table 1. Antibacterial activity of methanolic extracts of *A. petiolata* aerial parts (APA) and roots (APR)

Vrste bakterija <i>Bacterial species</i>	MIC*		
	APA	APR	Antibiotik <i>Antibiotic</i>
<i>Micrococcus lysodeikticus</i> (ATCC 4698) G+	5	5	2.5
<i>Enterococcus faecalis</i> (ATCC 92912) G+	20	20	2.5
<i>Escherichia coli</i> (ATCC 25922) G-	20	10	10
<i>Klebsiella pneumoniae</i> (ATCC 70063) G-	10	>20	>10
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (ATCC 10145) G-	20	>20	>10
<i>Azobacter chroococum</i> (FSB 14) G-	5	5	5

\*MIC – u mg/mL za APA i APR, u µg/mL za antimikotik (hloramfenikol).

Rezultati antifungalne aktivnosti ekstrakata *A. petiolata* predstavljeni su u Tabeli 2. Generalno, ispitivani ekstrakti nisu pokazali izražene antifungalne osobine na većinu primenjenih vrsta gljiva, obično su to MIC vrednosti 10 ili 20 mg/mL, dok je kod 4 vrste izostalo delovanje APR ekstrakta u najvišoj testiranoj koncentraciji (MIC > 20 mg/mL). Izuzetak čini aktivnost ekstrakata češnjače na rast gljivice *F. oxysporum*, gde su efekti značajno bolji u odnosu na ostale rezultate (MIC 1,25 mg/mL za APA i 2,5 za APR).

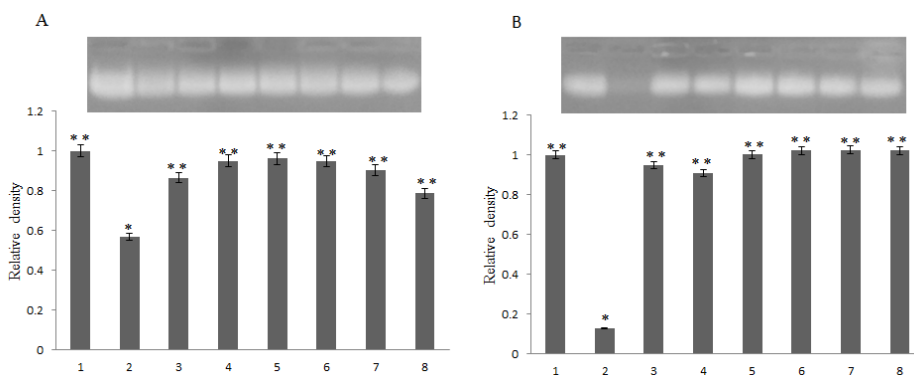
Tabela 2. Antifungalna aktivnost metanolnih ekstrakata nadzemnog dela (APA) i korena (APR) biljke *A. petiolata*

Table 2. Antifungal activity of methanolic extracts of *A. petiolata* aerial parts (APA) and roots (APR)

Vrste gljiva <i>Fungal species</i>	MIC*		
	APA	APR	Antibiotik <i>Antibiotic</i>
<i>Fusarium oxysporum</i> (FSB 91)	1.25	2.5	0.31
<i>Penicillium canescens</i> (FSB 24)	10	>20	1.25
<i>Phialophora fastigiata</i> (FSB 81)	10	20	10
<i>Alternaria alternata</i> (FSB 51)	20	>20	5
<i>Aureobasidium pillulans</i> (FSB 61)	10	>20	10
<i>Aspergillus niger</i> (FSB 31)	20	>20	0.625

\*MIC – u mg/mL za APA i APR, u µg/mL za antimikotik (ketokonazol).

Značajan faktor u patofiziologiji mnogih oboljenja predstavlja povećana produkcija slobodnih radikala koji indukuju oštećenja proteina, DNK i lipida. Slobodni radikali predstavljaju značajan problem i u prehrambenj industriji jer mogu da utiču na karakteristike hrane. Sintetički antioksidansi, koji se najčešće primenjuju, ispoljavaju neželjena dejstva dok se antioksidansi izolovani iz biljaka smatraju bezbednim za primenu u prehrambenoj industriji, a deluju i preventivno na razvoj mnogobrojnih oboljenja (Xu i Howard, 2012).



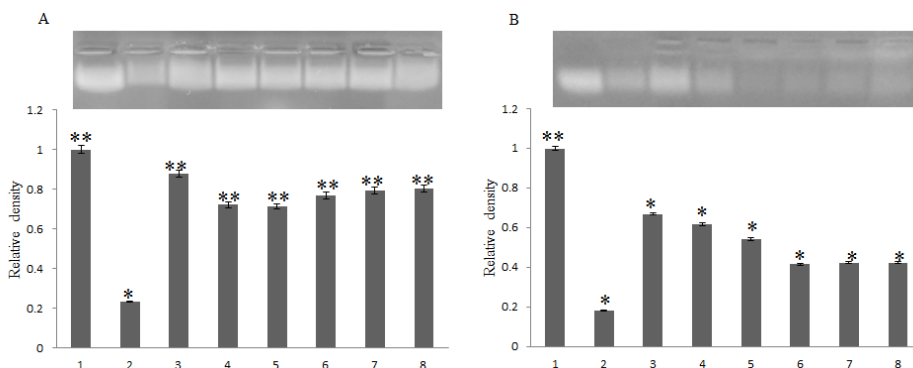
Slika 1. *In vitro* DNK-protektivni efekti ekstrakata biljke *A. petiolata* A) APA i B) APR od oštećenja izazvanog hidroksil radikalima. 1: Negativna kontrola; 2: Pozitivna kontrola; 3: Kvercetin (100 mM); 4–8: ekstrakti biljke *A. petiolata* (25, 50, 100, 200 i 400 µg/mL).

Figure 1. *In vitro* DNA-protective effects of *A. petiolata* extracts A) APA and B) APR from hydroxyl radicals-induced damage. 1: Negative control; 2: Positive control; 3: Quercetin (100 mM); 4–8: *A. petiolata* extracts (25, 50, 100, 200 and 400 µg/mL).

U cilju evaluacije antiogenotoksične aktivnosti ekstrakata nadzemnog dela i korena biljke *A. petiolata* primenjena su dva *in vitro* testa. Rezultati određivanja

sposobnosti ekstrakata biljke *A. petiolata* da zaštite DNK od oštećenja koja su indukovana hidroksil radikalima prikazani su na Slici 1. Ispitivani ekstrakti su pokazali vrlo sličnu, značajnu DNK-protektivnu aktivnost sličnu aktivnosti kvercetina (100 mM). Aktivnost APA se neznatno smanjivala sa porastom koncentracije (Slika 1A), dok je aktivnost APR neznatno rasla proporcionalno porastu koncentracije (Slika 1B).

Na Slici 2 prikazani su rezultati određivanja DNK-protektivne aktivnosti APA i APR ekstrakata kod oštećenja izazvanog peroksil radikalima. APA ekstrakt pokazao je statistički značajnu DNK-protektivnu aktivnost, ali neznatno slabiju u poređenju sa aktivnošću kvercetina (Slika 2A). Ekstrakt korena (APR) ispoljio je najslabiju zaštitu DNK, koja opada sa porastom koncentracije i statistički se značajno razlikuje od negativne kontrole (Slika 2B). U odnosu na kvercetin (100 mM), antigenotoksična aktivnost ekstrakta korena u nižim koncentracijama (25 i 50 µg/mL) je neznatno slabija.



Slika 2. *In vitro* DNK-protektivni efekti ekstrakata biljke *A. petiolata* A) nadzemnog dela i B) korena od oštećenja izazvanog peroksil radikalima. 1: Negativna kontrola; 2: Pozitivna kontrola; 3: Kvercetin (100 mM); 4–8: ekstrakti biljke *A. petiolata* (25, 50, 100, 200 i 400 µg/mL).

Figure 1. *In vitro* DNA-protective effects of *A. petiolata* extracts A) APA and B) APR from peroxy radicals-induced damage. 1: Negative control; 2: Positive control; 3: Quercetin (100 mM); 4–8: *A. petiolata* extracts (25, 50, 100, 200 and 400 µg/mL).

## Zaključak

Na osnovu eksperimentalnih rezultata, utvrđeno je da metanolski ekstrakt nadzemnog dela biljke *A. petiolata* poseduje veliku količinu ukupnih fenolnih jedinjenja, znatno veću od ekstrakta korena. Određena je antimikrobna aktivnost ekstrakata, pri čemu su bili najefikasniji na *M. lysodeikticus*, *A. chroococum* i *F. oxysporum*. Pored toga, rezultati istraživanja su pokazali da ekstrakti poseduju značajne *in vitro* DNK-protektivne efekte.

Ispitivani ekstrakti biljke *A. petiolata*, naročito nadzemnog dela, imaju obećavajući potencijal za upotrebu u prehrambenoj, farmaceutskoj i kozmetičkoj industriji. Ispitivanje antimikrobne i antigenotoksične aktivnosti biljke *A. petiolata* je rađeno po prvi put i deo je istraživanja lekovitih svojstava biljaka sa prostora Srbije koje se koriste u tradicionalnoj medicini. Takođe, dobijeni rezultati mogu dati neka objašnjenja o upotrebi češnjače u tradicionalnoj medicini i biti osnova nizu daljih istraživanja kojima bi se „invazivna reputacija“ ove biljne vrste promenila i usmerila ka novim načinima primene njenih ekstrakata kao biološki aktivnih, prirodnih suplemenata.

## Literatura

- Avato P., Argentieri M.P. (2015). Brassicaceae: a rich source of health improving phytochemicals. *Phytochemistry Reviews*. 14: 1019–1033.
- Barto E.K., Cipollini D. (2009). Half-lives and field soil concentrations of *Alliaria petiolata* secondary metabolites. *Chemosphere*. 76: 71-75.
- Blažević I., Mastelić J. (2008). Free and bound volatiles of garlic mustard (*Alliaria petiolata*). *Croatica Chemica Acta*. 81(4): 607-613.
- Cipollini D., Cipollini K. (2016). A review of garlic mustard (*Alliaria petiolata*, Brassicaceae) as an allelopathic plant. *The Journal of the Torrey Botanical Society*. 143(4): 339–348.
- Frisch T., Motawia M.S., Olsen C.E., Agerbirk N., Møller B.L., Bjarnholt N. (2015). Diversified glucosinolate metabolism: biosynthesis of hydrogen cyanide and of the hydroxynitrile glucoside alliarinoside in relation to sinigrin metabolism in *Alliaria petiolata*. *Frontiers in Plant Science*. 6: 926.
- Kumarasamy Y., Byres M., Cox, P.J., Delazar A., Jaspars M., Nahar L., Shoeb M., Sarker S.D. (2004). Isolation, structure elucidation, and biological activity of flavone 6-C-glycosides from *Alliaria petiolata*. *Chemistry of Natural Compounds*. 40(2): 122-128.
- Lin Y.W., Wang Y.T., Chang H.M., Wu J.S.B. (2008). DNA protection and antitumor effect of water extract from residue of jelly fig (*Ficus awkeotsang* Makino) achenes. *Journal of Food and Drug Analysis*. 16: 63-69.
- Sarker S.D., Nahar L., Kumarasamy Y. (2007). Microtitre plate-based antibacterial assay incorporating resazurin as indicator of cell growth, and its application in the *in vitro* antibacterial screening of phytochemicals. *Methods*. 42: 321-324.
- Singleton V.L., Orthofer R., Lamuela-Raventos R.M. (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent oxidants and antioxidants. *Methods in Enzymology*. 299: 152-178.
- Xu Z., Howard L.R. (2012). *Analysis of antioxidant-rich phytochemicals*. United Kingdom: Wiley-Blackwell.
- Zhang L.L., Zhang L.F., Xu J.G., Hu Q.P. (2017). Comparison study on antioxidant, DNA damage protective and antibacterial activities of eugenol and isoeugenol against several foodborne pathogens. *Food and Nutrition Research*. 61(1): 1353356.

**PRELIMINARY ASSESSMENT OF ANTIMICROBIAL AND ANTIGENOTOXIC POTENTIAL OF GARLIC MUSTARD (*Alliaria petiolata*, Brassicaceae) EXTRACTS**

*Jelena S. Katanić Stanković<sup>1</sup>, Sanja Matić<sup>1</sup>, Nikola Srećković<sup>2</sup>, Snežana Stanić<sup>3</sup>, Vladimir Mihailović<sup>2</sup>*

**Abstract**

Garlic mustard (*Alliaria petiolata*, Brassicaceae) is an edible plant that is used as culinary herb and in traditional medicine and it has not been tested so far. In this paper, the antimicrobial potential and the *in vitro* protective effects on DNA damage induced by hydroxyl and peroxy radicals of above-ground part (APA) and root (APR) methanolic extracts of garlic mustard were examined, for the first time. The obtained results indicate that APA and APR extracts exhibited moderate antimicrobial activity and significant DNA-protective potential on free radical-induced oxidative damage, which encourages further research and their potential use for nutritional and/or pharmacological purposes.

**Key words:** *Alliaria petiolata*, garlic mustard, antimicrobial activity, DNA-protective potential

---

<sup>1</sup>University of Kragujevac, Institute for Information Technologies, Jovana Cvijića bb, 34000 Kragujevac, Serbia ([jkatanic@kg.ac.rs](mailto:jkatanic@kg.ac.rs));

<sup>2</sup>University of Kragujevac, Faculty of Science, Department of Chemistry, Radoja Domanovića 12, 34000 Kragujevac, Serbia;

<sup>3</sup>University of Kragujevac, Faculty of Science, Department of Biology and Ecology, Radoja Domanovića 12, 34000 Kragujevac, Serbia.





## MALABAILA AUREA (SM.) BOISS. (APIACEAE): PRELIMINARNI SKRINING ANTIOKSIDATIVNE AKTIVNOSTI

Milan Stanković<sup>1</sup>, Nenad Zlatić<sup>1</sup>, Zora Dajić Stevanović<sup>2</sup>, Danijela Stešević<sup>3</sup>

**Izvod:** Količina ukupnih fenolnih jedinjenja, flavonoida i antioksidativna aktivnost analizirani su spektrofotometrijskim metodama u metanolnim ekstraktima biljnih delova vrste *Malabaila aurea* (Sm.) Boiss. (Apiaceae). Količina ukupnih fenolnih jedinjenja je u opsegu od 6,91 do 111,47 mg GA/g ekstrakta. Koncentracija flavonoida je opsegu od 4,60 do 344,48 mg RU/g ekstrakta. Antioksidativna aktivnost je u opsegu od 1964,92 do 98,46 µg/mL. Biljni delovi vrste *Malabaila aurea* prema količini ispitivanih jedinjenja i antioksidativnoj aktivnosti su u sledećem odnosu: listovi > cvetovi > stablo > plodovi > koren. Najveća količina ukupnih fenolnih jedinjenja i flavonoida izmerena je u ekstraktu listova za koji je utvrđena i najveća antioksidativna aktivnost.

**Ključne reči:** *Malabaila aurea*, fenolna jedinjenja, flavonoidi, antioksidativna aktivnost

### Uvod

Vrste familije Apiaceae su jednogodišnje ili višegodišnje zeljaste biljke, retko žbunovi. Listovi su naizmenično postavljeni, sa dugim drškama, često usečenim na dnu. Cvetovi su složeni u cvasti i uglavnom su dvopolni. Porodicu Apiaceae čini preko 450 vrsta koje su svrstane u 102 roda. Veliki broj vrsta ove familije su endemične, njih 130. Vrste koje pripadaju familiji Apiaceae su aromatične i ekonomski važne biljke zbog dobrog prinosa eteričnih ulja sa izraženim biološkim aktivnostima. Sekundarni metaboliti vrsta familije Apiaceae poseduju antioksidativnu, antibakterijsku i antitumorsku aktivnost, kao i različite terapijske efekte (Tzakou i sar., 2008; Vučković i sar., 2014).

Rod *Malabaila* Hoffm. pripada familiji Apiaceae i jedan je od malobrojnih rodova ove familije. Oblast rasprostranjenja vrsta ovog roda obuhvata istočni deo Mediterana, Iran i delove centralne Azije. U Evropi, rod *Malabaila* je prisutan sa tri vrste: *M. aurea* (Sm.) Boiss., *M. involucrata* Boiss. & Sprunger i *M. graveolens* (Sprengel) Hoffm. (Vučković i sar., 2014).

Vrsta *Malabaila aurea* je dvogodišnja biljka rasprostranjena u mediteranskim i submediteranskim delovima Balkanskog poluostrva. Vrsta naseljava osunčana i termofilna staništa (Tzakou i sar., 2008; Vučković i sar., 2014).

---

<sup>1</sup>Univerzitet u Kragujevcu, Prirodno-matematički fakultet, Radoja Domanovića 12, 34000 Kragujevac, Srbija (mstankovic@kg.ac.rs);

<sup>2</sup>Univerzitet u Beogradu, Poljoprivredni fakultet, Nemanjina 6, 11000 Beograd, Srbija;

<sup>3</sup>Univerzitet u Crnoj Gori, Prirodno-matematički fakultet, Džordža Vašingtona bb, 81000 Podgorica, Crna Gora.

Pregledom literature utvrđeno je da ne postoje podaci o istraživanju sekundarnih metabolita iz grupe fenolnih jedinjenja i biološke aktivnosti vrste *Malabaila aurea*. Rezultati dosadašnjih istraživanja sekundarnih metabolita ove vrste odnose se na količinu, sastav i biološku aktivnost eteričnog ulja (Tzakou et al., 2008; Vučković et al., 2014). Na osnovu toga, glavni cilj predstavljenog istraživanja je definisanje sadržaja ukupnih fenolnih jedinjenja i flavonoida kao i ispitivanje antioksidativne aktivnosti ekstrakata vrste *Malabaila aurea* dobijenih ekstrakcijom listova, stabla, cvetova, plodova, kao i korena korišćenjem metanola kao rastvarača. Istraživanje je obavljeno da bi se dopunili podaci o ispitivanoj vrsti i utvrdila veza između količine sekundarnih metabolita iz grupe fenolnih jedinjenja i antioksidativne aktivnosti.

## Materijal i metode rada

### *Hemikalije*

Organski rastvarač (metanol) i natrijum hidrogen karbonat ( $\text{NaHCO}_3$ ) nabavljeni su od proizvođača „Zorka pharma“ Šabac, Srbija. Galna kiselina, rutin i 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) reagens nabavljeni su od Sigma Chemicals Co., St Louis, MO, USA. Folin-Ciocalteu fenol reagens i aluminijum hlorid heksahidrat ( $\text{AlCl}_3 \times 6\text{H}_2\text{O}$ ) nabavljeni su od Fluka Chemie AG, Buchs, Switzerland.

### *Biljni materijal*

Vrsta *Malabaila aurea* uzorkovana je na lokalitetu Brdo Gorica – Podgorica (Crna Gora). Identifikacija vrste izvršena je na Prirodno-matematičkom fakultetu u Podgorici (Prof. Danijela Stešević).

### *Priprema biljnih ekstrakata*

Osušen biljni materijal (10 g) svakog uzorka pomešan je sa 200 mL metanola i ekstrahovan na sobnoj temperaturi. Nakon ekstrakcije, potpunim uparavanjem rastvarača dobijeni su suvi ekstrakti. Dobijeni biljni ekstrakti su čuvani na temperaturi od 4 °C do analiza.

### *Određivanje sadržaja ukupnih fenolnih jedinjenja*

Ukupna količina fenolnih jedinjenja u biljnim ekstraktima je određena primenom spektrofotometrijske metode (Stanković i sar., 2015). Dobijene vrednosti za količinu fenolnih jedinjenja u biljnim ekstraktima izražene su kao ekvivalent galne kiseline (mg GA g ekstrakta).

### *Određivanje sadržaja ukupnih flavonoida*

Količina flavonoida u ekstraktima određena je primenom spektrofotometrijske metode (Stanković i sar., 2015). Ukupna količina flavonoida u biljnim ekstraktima izražena je kao ekvivalent rutina (mg RU g ekstrakta).

*Ispitivanje antioksidativne aktivnosti*

Sposobnost biljnih ekstrakata da neutrališu DPPH radikale određena je spektrofotometrijskom metodom (Stanković i sar., 2015). Step en inhibicije izračunat je u procentima pomoću jednačine: % inhibicije = 100 × (A kontrole – A uzorka)/A kontrole. Na osnovu dobijenih procenata inhibicije, izračunate su IC<sub>50</sub> vrednosti antioksidativne aktivnosti izražene u µg/mL. Rezultati su prikazani kao srednja vrednost ± standardna devijacija (n = 3).

*Statistička obrada rezultata*

Statistička obrada rezultata merenja sprovedena je primenom SPSS (Čikago, Illinois) statističkog softver paketa (SPSS za windows, verzija XII, 2004).

**Rezultati istraživanja i diskusija**

Rezultati ispitivanja količine ukupnih fenolnih jedinjenja, količine flavonoida, kao i antioksidativne aktivnosti metanolnih ekstrakata delova vrste *Malabaila aurea*, prikazani su u Tabeli 1.

Tabela 1. Količina ukupnih fenolnih jedinjenja, flavonoida i antioksidativna aktivnost biljnih ekstrakata vrste *Malabaila aurea*  
 Table 1. Total phenolic content, flavonoid content and antioxidant activity of *Malabaila aurea* extracts

Biljni delovi <i>Plant parts</i>	Tip analize <i>Type of analysis</i>		
	Količina ukupnih fenolnih jedinjenja (mg Ga/g ekstrakta) <i>Total phenolic content (mg of GA/g of extract)</i>	Količina flavonoida (mg Ru/g ekstrakta) <i>Flavonoid content (mg of Ru/g of extract)</i>	Antioksidativna aktivnost IC <sub>50</sub> (µg/mL) <i>Antioxidant activity IC<sub>50</sub> (µg/mL)</i>
Listovi <i>Leaves</i>	111,47 ± 0,83	344,48 ± 1,13	98,46 ± 1,45
Stablo <i>Stem</i>	27,16 ± 0,40	70,88 ± 1,06	654,18 ± 1,06
Cvetovi <i>Flowers</i>	53,13 ± 1,02	100,87 ± 1,92	475,41 ± 1,26
Plodovi <i>Fruits</i>	21,24 ± 0,28	31,53 ± 0,66	1246,96 ± 2,78
Koren <i>Root</i>	6,91 ± 0,19	4,60 ± 0,51	1964,92 ± 1,48

Količina ukupnih fenolnih jedinjenja u metanolnim ekstraktima vrste *Malabaila aurea* ispitivana je spektrofotometrijskom metodom pomoću Folin-Ciocalteu reagensa. Dobijene vrednosti za količinu ukupnih fenolnih jedinjenja predstavljene su kao ekvivalent galne kiseline – mg GA/g ekstrakta. Dobijene vrednosti za količinu ukupnih fenolnih jedinjenja (Tabela 1) su u opsegu od 6,91 do 111,47 mg GA/g ekstrakta. Najveća količina utvrđena je u ekstraktu lista, dok je ekstrakt cveta na drugom mestu po količini. Ekstrakt stabla i ploda imaju slične vrednosti, dok je najmanja količina ukupnih fenolnih jedinjenja izmerena je u ekstraktu korena. Poređenjem dobijenih vrednosti uočava se da količina ukupnih fenolnih jedinjenja pokazuje određenu varijabilnost među ispitivanim biljnim organima.

Pored ukupnih fenolnih jedinjenja, u metanolnim ekstraktima vrste *Malabaila aurea*, određivan je i kvantitativni udeo flavonoida. Količina flavonoida određivana je spektrofotometrijskom metodom sa  $AlCl_3$ . Dobijene vrednosti količine flavonoida predstavljene su kao ekvivalent rutina – mg Ru/g ekstrakta. Dobijene vrednosti za količinu flavonoida (Tabela 1) su u opsegu od 4,60 do 344,48 mg Ru/g ekstrakta. Najveća količina izmerena je u ekstraktu lista, dok je ekstrakt cveta na drugom mestu po količini. Ekstrakt stabla je na trećem, dok je manja količina zabeležena u ekstraktu ploda. Najmanja količina flavonoida izmerena je u ekstraktu korena. Poređenjem dobijenih vrednosti uočava se da količina flavonoida znatno varira u zavisnosti od ispitivanog biljnog dela.

Antioksidativna aktivnost, odnosno sposobnost redukcije slobodnih radikala pod uticajem sekundarnih metabolita iz ekstrakata vrste *Malabaila aurea* određen je sprktrofotometrijskim koja se zasniva na merenju stepena neutralizacije 1,1-difenil-2- pikrilhidrazil radikala (DPPH). Navedenom metodom se efikasno određuje antioksidativna sposobnost biološki aktivnih jedinjenja u ekstraktima biljaka. Bioaktivna jedinjenja reaguju kao donori vodonikovog atoma čime redukuju stabilni 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil radikal do 1,1-difenil-2-(2,4,6-trinitrofenil)-hidrazina što se kvantifikuje promenom apsorbance na talasnoj dužini od 517 nm. Antioksidativna aktivnost predstavljena je kao  $IC_{50}$  vrednosti ( $\mu\text{g/mL}$ ).

Dobijene vrednosti za antioksidativnu aktivnost ispitivanih ekstrakata vrste *Malabaila aurea* (Tabela 1) su u opsegu od 1964,92 do 98,46  $\mu\text{g/mL}$ . Najveća antioksidativna aktivnost izmerena je za ekstrakt lista, dok je ekstrakt cveta na drugom mestu po aktivnosti. Slabija antioksidativna aktivnost utvrđena je u ekstraktima stabla i plodova. Najmanja aktivnost izmerena je za ekstrakt korena. Dobijeni rezultati ukazuju da visoka vrednost za antioksidativnu aktivnost ispitivanih ekstrakata karakteriše ekstrakte koji imaju veliku količinu fenolnih jedinjenja. Uočena je pozitivna korelacija ( $r = 0.985$ ) između količine fenolnih jedinjenja i flavonoida. Takođe, utvrđena je korelacija između količine ukupnih fenolnih jedinjenja i antioksidativne aktivnosti ( $r = 0.839$ ), kao i između flavonoida i antioksidativne aktivnosti ( $r = 0.790$ ) što ukazuje da su sekundarni metaboliti u okviru grupe fenolnih jedinjenja, glavni nosioci antioksidativne aktivnosti.

U dosadašnjim istraživanjima isparljivih komponenata vrste *Malabaila aurea* pokazano je da su najzastupljenija jedinjenja u stablu i listovima apiol, miristicin i falkarinol (Vučković et al., 2014). Ispitivanjem kvantitativnih i kvalitativnih karakteristika sekundarnih metabolita utvrđeno je da su glavne biološki aktivne komponente vrsta porodice Apiaceae fenolne kiseline, kao što su hlorogenska i rutin, zatim flavonoidi, saponini i fenil propanoidi (Pandey et al., 2012), koji doprinose biološkoj aktivnosti ekstrakata.

### Zaključak

Kvantitativni sastav fenolnih jedinjenja i antioksidativna aktivnost određeni su po prvi put za ekstrakte biljnih delova vrste *Malabaila aurea*. Ispitivane delove vrste *Malabaila aurea* (ekstrakti listova, cvetova, stabla, plodova i korena) karakteriše različita količina i antioksidativna aktivnost sekundarnih metabolita. Poređenjem vrednosti ispitivanih jedinjenja za biljne delove utvrđena je varijabilnost u količini ukupnih fenolnih jedinjenja, flavonoida, kao i u stepenu antioksidativne aktivnosti. Dobijeni rezultati ukazuju da sekundarni metaboliti vrste *Malabaila aurea* iz grupe fenolnih jedinjenja, pored već utvrđenih bioloških efekata, imaju antioksidativno dejstvo. Ispitivanjem ukupne količine fenolnih jedinjenja, flavonoida i antioksidativne aktivnosti u metanolnim ekstraktima biljnih delova vrste *Malabaila aurea* utvrđeno je da ekstrakt listova ove vrste karakteriše najveća količina fenolnih jedinjenja, kao i najveća antioksidativna aktivnost u odnosu na druge biljne delove.

### Literatura

- Pandey M.M., Vijayakumar M., Rastogi S., Rawat A.K.S. (2012). Phenolic content and antioxidant properties of selected Indian spices of Apiaceae. *Journal of Herbs, Spices & Medicinal Plants*, 18, 246-256.
- Stanković S.M., Petrović M., Godjevac D., Dajić-Stevanović Z. (2015). Screening inland halophytes from the central Balkan for their antioxidant activity in relation to total phenolic compounds and flavonoids: Are there any prospective medicinal plants? *Journal of Arid Environments*, 120, 26-32.
- Tzakou O., Mylonas P., Hancianu M., Poiata A. (2008). Composition and antimicrobial activity of *Malabaila aurea* Boiss. essential oil. *Journal of Essential Oil Research*, 20, 270-271.
- Vučković I., Vujisić Lj., Todosijević M., Stešević D., Milosavljević S., Trifunović S. (2014). Volatile constituents of different plant parts and populations of *Malabaila aurea* Boiss. From Montenegro. *Records of Natural Products*, 8, 148-155.

## MALABAILA AUREA (SM.) BOISS. (APIACEAE): PRELIMINARY SCREENING OF BIOLOGICAL ACTIVITY

Milan Stanković<sup>1</sup>, Nenad Zlatić<sup>1</sup>, Zora Dajić Stevanović<sup>2</sup>, Danijela Stešević<sup>3</sup>

### Abstract

The amount of total phenolic compounds, flavonoids and antioxidant activity were analyzed by spectrophotometric methods in methanolic extracts of plant organs of the *Malabaila aurea* (Sm.) Boiss species. (Apiaceae). The amount of total phenolic compounds is in the range of 6.91 to 111.47 mg GA/g extract. The concentration of flavonoids is in the range of 4.60 to 344.48 mg RU/g of the extract. Antioxidant activity ranges from 1964.92 to 98.46 µg/mL. The concentrations of the analyzed compounds and activities in the tested plant organs were compared as follows: leaf> flower> tree> fruit> root. The highest amount of total phenolic compounds and flavonoids was measured in leaf extract for which the highest antioxidant activity was determined.

**Key words:** *Malabaila aurea*, phenolic compounds, flavonoids, antioxidant activity

---

<sup>1</sup>University of Kragujevac, Faculty of Science, Department of Biology and Ecology, Radoja Domanovića 12, 34000 Kragujevac, Serbia (milan.stankovic@pmf.kg.ac.rs);

<sup>2</sup>University of Belgrade, Faculty of Agriculture, Nemanjina 6, 11000 Belgrade, Serbia;

<sup>3</sup>University of Montenegro, Faculty of Science, George Washington Street, 81000 Podgorica, Montenegro.

## ANTIMICROBIAL POTENTIAL OF *LACTARIUS VOLEMUS*, EDIBLE MUSHROOM

Nevena Petrović<sup>1</sup>, Mirjana Grujović<sup>1</sup>, Katarina Mladenović<sup>1</sup>,  
Marijana Kosanić<sup>1</sup>

**Abstract:** In this paper, we tested the antimicrobial potential of acetone extract of *Lactarius volemus*, an edible mushroom, applying the microdilution and antibiofilm assays. The extract was tested on six species of bacteria and seven species of fungi. The results revealed that the extract possesses quite strong antimicrobial power, with MIC values ranging from 0.1 mg/ml to 0.8 mg/ml for bacteria and 1.62 mg/ml to 15 mg/ml for fungi. Antibiofilm assay showed that the extract had a strong negative impact on biofilm forming of *Staphylococcus aureus*. As the results of this study indicate, this mushroom could be used as a valuable food source and an important health promoting agent.

**Key words:** acetone extract, antibacterial, antifungal, *Lactarius volemus*.

### Introduction

Nutritional and medicinal values of mushrooms were recognized millenia ago. Mushrooms represent an ideal part of human diet, considering their high protein content and low fat content. As Barros et al. (2008) showed, among several tested mushrooms the protein content varied between 17.18 g/100 g and 80.93 g/100 g, while fat content varied between 0.92 g/100 g and 4.88g/100 g. Together with valuable nutritional qualities, many edible species of mushrooms have different medicinal properties, as well, thus they exert positive influence on our health.

In this paper, we studied the antimicrobial potential of an edible mushroom, *Lactarius volemus*. *L. volemus*, the weeping milkcap, is a well known milkcap of the Northern hemisphere, ectomycorrhizal with both coniferous and deciduous trees. It can be easily recognised, based on its morphological properties, such as brownish – orange coloration of fruiting bodies and the ability to produce latex - milk, which is white in the beginning and then stains rusty brown. The odour is fishy and the taste is mild. It can be consumed fresh, also. The fruiting bodies are massively produced during the beginning of summer and the beginning of autumn, if the conditions are optimal (Van de Putte et al, 2010). There are not many studies regarding medicinal qualities of this mushroom. The antimicrobial potential of this mushroom was tested against bacteria and yeasts and it showed notable results, especially against Gram-positive bacteria (Ozen et al, 2011; Alves et al, 2012). However, they used a different solvent (methanol) and the extract has not been

---

<sup>1</sup>University of Kragujevac, Faculty of Science, Radoja Domanovića 12, 34 000 Kragujevac, Serbia (nevena.n.petrovic@pmf.kg.ac.rs)

tested on other species of fungi, only on yeasts. In our study, we are showing the antimicrobial potential of acetone extract of *L. volemus*.

## Material and methods

### The extract preparation

Samples of *Lactarius volemus* (Fr.) Fr. were collected in Kragujevac, in 2016, and identified using standard literature (Uzelac, 2009). Voucher specimens are stored in the Department of Biology and Ecology, Faculty of Science, in Kragujevac, Serbia. Fungal samples were properly desiccated and then ground to a fine powder, which was later dissolved in acetone and extracted in the Soxhlet extractor. Thereafter, the extract was filtered and concentrated under reduced pressure in a rotary evaporator. For experiments, the extract was dissolved in 10% dimethyl sulphoxide (DMSO) to reach the concentration of 30 mg/ml for microdilution assay and 40 mg/ml for antibiofilm assay. The desired concentration of DMSO was adjusted by adding sterile distilled water.

### Antimicrobial activity

The possible antimicrobial activity of the extract was tested applying microdilution and antibiofilm assays.

### Microdilution assay

In this experiment, we tested the acetone extract of *L. volemus* on five species of bacteria: Gram-positive bacteria: *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Bacillus subtilis* (ATCC 6633) and *B. cereus* (ATCC 10987); Gram-negative bacteria: *Escherichia coli* (ATCC 25922) and *Proteus mirabilis* (ATCC 12453); and seven species of fungi: *Aspergillus flavus* (ATCC 9170), *Candida albicans* (ATCC 10259), *Penicillium italicum* (ATCC 10454), *Fusarium solani* (ATCC 36031), *Paecilomyces variotii* (ATCC 18502), *Geotrichum candidum* (ATCC 34614) and *Trichophyton mentagrophytes* (ATCC 9533).

Cultures of tested species of microorganisms are provided from the American Type Culture Collection (ATCC). Bacterial suspensions were prepared from overnight-grown bacterial cultures on Mueller-Hinton agar with sterile distilled water and were adjusted to contain approximately  $10^8$  CFU/mL. Fungal suspensions were made of spores of 3 to 7 days old fungal cultures, maintained on potato dextrose agar, which were dissolved in sterile distilled water in order to achieve the turbidity of approximately  $10^6$  CFU, in accordance with the procedure approved by NCCLS (1998). Minimum inhibitory concentrations (MIC) were evaluated according to the method of Sarker et al. (2007). Streptomycin for bacteria and ketoconazole for fungi were used as positive control and DMSO was used as negative control.

### Antibiofilm assay

The antibiofilm activity of the extract was tested against three biofilm forming bacteria: *P. mirabilis*; *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 and *S. aureus*. Antibiofilm activity of the extract was tested by tissue culture plate method (TCP) described by O'Toole et al. (2000). Biofilm inhibitory concentration (BIC<sub>50</sub>) was defined as the lowest concentration of the extract that showed 50% inhibition on the



biofilm formation (Chaieb et al., 2011). Vancomycin and ceftriaxone were used as positive controls.

## Results and discussion

### Microdilution assay

The results of the microdilution assay are presented in Table 1.

Tabela 1. Minimalne inhibitorne koncentracije (MIC) acetonskog ekstrakta vrste *Lactarius volemus*

Table 1. Minimum inhibitory concentration (MIC) of acetone extract of *Lactarius volemus*

Tested organisms	<i>Lactarius volemus</i>	Streptomycin	Ketokonazole
	MIC (mg/ml)		
<i>Bacillus subtilis</i>	0.1	0.019	/
<i>Bacillus cereus</i>	0.2	0.019	/
<i>Staphylococcus aureus</i>	0.4	0.039	/
<i>Proteus mirabilis</i>	0.8	0.078	/
<i>Escherichia coli</i>	0.4	0.039	/
<i>Trichophyton mentagrophytes</i>	3.25	/	0.156
<i>Geotrichum candidum</i>	15	/	0.078
<i>Paecilomyces variotii</i>	7.5	/	0.156
<i>Fusarium solani</i>	7.5	/	0.156
<i>Candida albicans</i>	1.62	/	0.039
<i>Aspergillus flavus</i>	7.5	/	0.312
<i>Penicillium italicum</i>	15	/	0.156

As given in Table 1, MIC values of acetone extract of *L. volemus* for bacteria are in range of 0.1 mg/ml to 0.8 mg/ml and for fungi from 1.62 mg/ml to 15 mg/ml. Fungi have shown greater resistance to the extract than bacteria, which is based on their complex cell walls (Bowman and Free, 2006). Furthermore, Gram negative bacteria, as shown in this research, are more resistant than Gram positive bacteria, as a result of the unique structure of their outer membrane (Mai-Prochnow et al, 2016). The most susceptible bacterial species was *B. subtilis* (0.1 mg/ml), while the most susceptible fungal species was *C. albicans* (1.62 mg/ml). The results of this assay indicate that the acetone extract of *L. volemus* possesses fairly good antimicrobial properties. Comparing to positive controls, its activity is less expressed, but when compared to other tested species of mushrooms, it could be

said that this species can be considered as a relatively strong antimicrobial agent. For example, acetone extracts of *Clitocybe geotropa* and *C. nebularis* showed incomparably milder antimicrobial effect, than acetone extract of *L. volemus* (Kosanić et al, 2020). Its antimicrobial activity can also be considered strong, in comparison to antimicrobial activity of acetone extracts of *Boletus aestivalis*, *B. edulis* and *Leccinum carpini* (Kosanić et al, 2012). Of course, MIC values, apart from the characteristics of the extract, depend on the susceptibility of the tested organism and on the type of solvent used for preparation of the extract, as well.

### Antibiofilm assay

The results of antibiofilm assay are presented in Table 2.

Tabela 2. Biofilm inhibitorna koncentracija acetonskog ekstrakta vrste *Lactarius volemus*  
 Table 2. Biofilm inhibitory concentration of the acetone extract of *Lactarius volemus*

Tested organisms	<i>Lactarius volemus</i>	Vancomycin	Ceftriaxone
	BIC50 (mg/ml)		
<i>Staphylococcus aureus</i>	0.376	0.062	0.475
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	27.44	0.733	0.784
<i>Proteus mirabilis</i>	>1000	0.784	0.23

As shown above, the acetone extract of *L. volemus* showed the strongest inhibitory effect on biofilm forming of *S. aureus* (0.376 mg/ml) while it moderately affected *P. aeruginosa* (27.44 mg/ml) and it showed no effect against biofilm forming of *P. mirabilis*. With the forming of biofilm, bacterial resistance increases, as they are encased and well protected inside of a complex polysaccharide matrix (Stewart and Costerton, 2001). Besides synthetic compounds, there is an expanding need to find natural compounds, which could be used in the inhibition of bacterial biofilm formation. This and other similar studies (Bin et al, 2012; Alves et al, 2014; Papeti et al, 2018) indicate that mushrooms can be used as natural products which will inhibit the production of biofilm.

### Conclusion

This study has shown that *L. volemus* can be considered as a relatively strong natural antimicrobial agent. The significance of this study lies in the fact that this was the first time that the antimicrobial properties of the acetone extract of *L. volemus* were tested. Nowadays there is an expanding need for novel compounds with antibiotic properties, especially if they come from nature. Our study has shown that *L. volemus*, an edible mushroom, can be considered as a valuable

antimicrobial agent, thus its consumption and potential use in the pharmaceutical industry are highly advisable. Further research needs to be conducted in order to recognize the active constituents of this mushroom species.

### Acknowledgment

The research presented in this article is a part of the project Karakterizacija i primena metabolita gljiva i utvrđivanje potencijala novih biofungicida no. 173032, financially supported by Ministry of Education, Science and Technological progress of the Republic of Serbia.

### References

- Alves M. J., Ferreira I. C., Dias J., Teixeira V., Martins A., Pintado, M. (2012). A review on antimicrobial activity of mushroom (Basidiomycetes) extracts and isolated compounds. *Planta medica*, 78(16): 1707-1718.
- Alves M. J., Ferreira I. C., Lourenço I., Costa E., Martins A., Pintado M. (2014). Wild mushroom extracts as inhibitors of bacterial biofilm formation. *Pathogens*, 3(3): 667-679.
- Barros L., Cruz T., Baptista P., Estevinho L. M., Ferreira I. C. (2008). Wild and commercial mushrooms as source of nutrients and nutraceuticals. *Food and Chemical Toxicology*, 46(8): 2742-2747.
- Bin L., Wei L., Xiaohong C., Mei J., Mingsheng D. (2012). In vitro antibiofilm activity of the melanin from *Auricularia auricula*, an edible jelly mushroom. *Annals of microbiology*, 62(4): 1523-1530.
- Bowman S. M., Free S. J. (2006). The structure and synthesis of the fungal cell wall. *Bioessays*, 28(8): 799-808.
- Chaieb K., Kouidhi B., Jrah H., Mahdouani K., Bakhrouf A. (2011). Antibacterial activity of Thymoquinone, an active principle of *Nigella sativa* and its potency to prevent bacterial biofilm formation. *BMC complementary and alternative medicine*, 11(1): 29.
- Kosanić M., Ranković B., Dašić M. (2012). Mushrooms as possible antioxidant and antimicrobial agents. *Iranian journal of pharmaceutical research: IJPR*, 11(4): 1095.
- Kosanić M., Petrović N., Stanojković T. (2020). Bioactive properties of *Clitocybe geotropa* and *Clitocybe nebularis*. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 1-8.
- Mai-Prochnow A., Clauson M., Hong J., Murphy A. B. (2016). Gram positive and Gram negative bacteria differ in their sensitivity to cold plasma. *Scientific reports*, 6, 38610.
- M.A. Pfaller, National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of conidium-forming filamentous fungi, Proposed Standard M38-P, (NCCLS, Wayne, PA, USA, 1998) 18, 1-22.

- O'Toole G., Kaplan H. B., Kolter R. (2000). Biofilm formation as microbial development. *Annual Reviews in Microbiology*, 54(1): 49-79.
- Ozen T., Darcan C., Aktop O., Turkecul I. (2011). Screening of antioxidant, antimicrobial activities and chemical contents of edible mushrooms wildy grown in the Black Sea region of Turkey. *Combinatorial Chemistry & High Throughput Screening*, 14(2): 72-84.
- Papetti A., Signoretto C., Spratt D. A., Pratten J., Lingström P., Zaura E., Ofek I., Wilson M., Pruzzo C. Gazzani, G. (2018). Components in *Lentinus edodes* mushroom with anti-biofilm activity directed against bacteria involved in caries and gingivitis. *Food & function*, 9(6): 3489-3499.
- Sarker S. D., Nahar L., Kumarasamy Y. (2007). Microtitre plate-based antibacterial assay incorporating resazurin as an indicator of cell growth, and its application in the in vitro antibacterial screening of phytochemicals. *Methods*, 42(4): 321-324.
- Stewart P. S., Costerton, J. W. (2001). Antibiotic resistance of bacteria in biofilms. *The lancet*, 358(9276): 135-138.
- Uzelac B. (2009). Gljive Srbije i zapadnog Balkana. BGV Logik. Beograd, Srbija.
- Van de Putte K., Nuytinck J., Stubbe D., Le H. T., Verbeke, A. (2010). *Lactarius volemus* sensu lato (Russulales) from northern Thailand: morphological and phylogenetic species concepts explored. *Fungal Diversity*, 45(1): 99-130.

## ANTIMIKROBNI POTENCIJAL VRSTE *LACTARIUS VOLEMUS*, JESTIVE PEČURKE

Nevena Petrović<sup>1</sup>, Mirjana Grujović<sup>1</sup>, Katarina Mladenović<sup>1</sup>,  
Marijana Kosanić<sup>1</sup>

**Abstract.** Cilj ovog rada je ispitivanje antimikrobnog potencijala acetonskog ekstrakta vrste *Lactarius volemus*, jestive pečurke, primenom mikrodilucionog i antibiofilm testa. Ekstrakt je testiran na šest vrsta bakterija i sedam vrsta gljiva. Rezultati istraživanja pokazali su da ekstrakt poseduje izuzetnu antimikrobnu moć, sa vrednostima MIC od 0.1 mg/ml do 0.8 mg/ml za bakterije i od 1.62 mg/ml do 15 mg/ml za gljive. Antibiofilm test je pokazao da je ekstrakt izrazio snažan inhibitorni uticaj na formiranje biofilma kod bakterije *Pseudomonas aeruginosa*. Naše istraživanje ukazuje da se ova pečurka može koristiti kao značajan izvor hrane, koji može pomoći i u unapređenju zdravstvenog stanja organizma.

**Ključne reči:** acetonski ekstrakt, antibakterijski, antifungalni, *Lactarius volemus*.

---

<sup>1</sup>Univerzitet u Kragujevcu, Prirodno-matematički fakultet, Radoja Domanovića 12, 34 000 Kragujevac, Srbija (nevena.n.petrovic@pmf.kg.ac.rs);

## **ALLIUM URSINUM SOS (ORIGINALNI PROIZVOD): MIKROBIOLOŠKA ISPRAVNOST I ANTIMIKROBNA SVOJSTVA**

Katarina G. Mladenović<sup>1</sup>, Mirjana Ž. Grujović, Nevena N. Petrović,  
Marijana M. Kosanić, Ljiljana R. Čomić

**Izvod:** Istraživan je originalan proizvod pod nazivom *Allium ursinum* sos, napravljen od divljeg belog luka sa planine Kučaj (Srbija). Određena je mikrobiološka ispravnost i antimikrobna svojstva (antibakterijska i antifungalna) *A. ursinum* sosa disk difuzionom metodom. *A. ursinum* sos je pokazao antimikrobno delovanje na *Staphylococcus aureus* i *Pseudomonas aeruginosa*. Na osnovu preliminarnih rezultata može se zaključiti da je *A. ursinum* sos koristan kao dodatak ishrani jer može da učestvuje u kontroli pojedinih patogena koji se mogu naći u ljudskom okruženju.

**Ključne reči:** *Allium ursinum* sos, mikrobiološka ispravnost, antibakterijska aktivnost, antifungalna aktivnost

### **Uvod**

*Allium ursinum* (divlji beli luk) je vrsta koja se koristi u tradicionalnoj medicini i široko je rasprostranjena u Evropi i Aziji (Malinauskaitė i Šaluchaitė, 2018). U Srbiji je predstavljena kao autohtona vrsta (Igić i sar., 2010). Utvrđen je hemijski sastav i antimikrobno delovanje *Allium ursinum* vrste bugarskog porekla (Ivanova i sar., 2009).

Na osnovu literature konstatuje se da je *A. ursinum* poslednjih godina ispitivana u nekoliko aspekata. Sobolewska i sar., (2013) su ispitivali fitohemiju i farmakološka svojstva *A. ursinum* dok Lupoae i sar., (2013) su ispitali antimikrobno delovanje ekstrakata divljeg belog luka (*A. ursinum*) iz flore Rumunije. Ekstrakt divljeg belog luka smatran je prirodnim konzervansom ili aditivom u hrani, pa se može koristiti kao dodatna sredstvo za kontrolu razvoja patogena (Roller, 2000).

Ciljevi ovog rada su bili ispitivanje mikrobiološke ispravnosti i antimikrobne aktivnosti (antibakterijska i antifungalna) *A. ursinum* sosa. Prvi put je ispitivan uticaj *A. ursinum* sosa na rast patogena bakterija i gljiva, *in vitro*.

---

<sup>1</sup>Univerzitet u Kragujevcu, Prirodno-matematički fakultet, Institut za biologiju i ekologiju, Radoja Domanovića 12, Kragujevac, Srbija (katarina.mladenovic@pmf.kg.ac.rs);

## Materijal i metode rada

### Tehnološki proces pravljenja *A. ursinum* sosa

*A. ursinum* sakupljen je sa planine Kučaj. Kučaj je planina u istočnoj Srbiji i pripada grupi karpatsko-balkanskih planina. Pravac pružanja je severoistok-jugozapad, a nadmorska visina je 1284 m. Sveži list je usitnjen i konzerviran organskim suncokretovim uljem i himalajskom soli. Za 200 g *A. ursinum* sosa (oscilacije su prisutne do 5%) bilo je potrebno: 140 g lista, 35 ml suncokretovog ulja, 5 g soli. Biljni sos je čuvan u laboratoriji Instituta za biologiju i ekologiju, Prirodno-matematičkog fakulteta, Univerziteta u Kragujevcu (Srbija).

### Mikrobiološka analiza *A. ursinum* sosa

Mikrobiološka analiza *A. ursinum* sosa (detekcija *E. coli*, *Bacillus cereus* i određivanje brojnosti aerofilnih bakterija, plijesni i kvasca) *A. ursinum* sosa izvršena je prema akreditovanim metodama Instituta za javno zdravlje Kragujevac, Srbija (Zakon o bezbednosti hrane (Službeni propisi, Br. 41/2009) i odgovarajući podzakonski propisi i izveštaj o bezbednosti hrane H 5917, SRPS EN ISO16649-2: 2008, SRPS EN ISO7932: 2009, SRPS EN ISO215272: 2011, SRPS EN ISO4833-1: 2017).

### Priprema *A. ursinum* sosa i ispitivanih sojeva

Početna koncentracija od 20 mg/ml korišćena je za testiranje antimikrobne aktivnosti *A. ursinum* sosa. Sos je rastvoren u podlozi i DMSO rastvoru (10% ukupne zapremine), a za stabilizaciju *A. ursinum* sosa korišćen je Tween 20 (10% ukupne zapremine). Ispitivane bakterije su: *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella tiphimurium*, *Salmonella enterica*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, standardni sojevi (*Escherichia coli* ATCC 25923, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 70063, *Proteus mirabilis* ATCC 12453, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538) i probiotski sojevi (*Bacillus subtilis* IP 5832, *Lactobacillus plantarum*, *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis*). Ispitivane gljive su: *Candida albicans* ATCC 10259, *Geotrichum candidum* ATCC 34614, *Trihofiton mentagrofites* ATCC 9533.

### Disk difuziona metoda

Antimikrobna aktivnost *A. ursinum* sosa je ispitivana disk difuzionom metodom. Mueller-Hinton agar je korišćen za bakterijski rast, a Sabouraud dekstrozni agar za rast gljiva. Zatim je čvrsti medijum inokulisan bakterijama ili gljivama (gustina suspenzije  $1,5 \times 10^8$  CFU/ml). Nakon inokulacije podloga, u napravljene bunariće u određenoj podlozi dodato je 100  $\mu$ l *A. ursinum* sosa.

Pripremljeni uzorci sa bakterijama su inkubirani 37°C/24 h, a sa gljivama su inkubirani na 25°C 7 dana. Rezultati su interpretirani merenjem prečnika aktivnosti (izgled zone inhibicije u mm).

## Rezultati istraživanja i diskusija

### Mikrobiološka ispravnost *A. ursinum* sosa

Prema preliminarnim rezultatima i Zakonom o bezbednosti hrane (Službena pravila br. 41/2009), *A. ursinum* sos je zdravstveno bezbedan. Rezultati mikrobiološkog ispitivanja proizvoda prikazani su u Tabeli 1. Na osnovu prikazanih rezultata može se zaključiti da je siguran za konzumiranje, jer ne sadrži neželjene mikroorganizme.

### Antimikrobna aktivnost *A. ursinum* sosa

Antimikrobna aktivnost *A. ursinum* sosa, kao originalnog proizvoda, prvi put je ispitivana u ovom radu. Prema disk difuzijskoj metodi, testirane bakterije nisu pokazale osetljivost na *A. ursinum* sos, osim *P. aeruginosa* (14 mm), *S. aureus* (16 mm) i *S. aureus* ATCC 6538 (14 mm) (Tabela 2). Primećena je zamućena zona inhibicije kod spomenutih bakterija. Na osnovu rezultata, *A. ursinum* sos ne pokazuje antifungalno delovanje.

*A. ursinum* se koristi u medicini, kao antiseptik za unutrašnju i spoljašnju upotrebu. Sobolewska i sar., (2013) su istraživali antimikrobno dejstvo ekstrakta *A. ursinum* na bakterije, *in vitro*. Rezultati našeg istraživanja pokazali su da *A. ursinum* sos nema antimikrobno delovanje na pripadnike familije Enterobacteriaceae. Pokazano je antimikrobno delovanje na predstavnike roda *Staphylococcus*. *S. aureus* je jedan od najčešćih uzročnika infekcija kod ljudi. Pomenuta bakterija je deo komensalne mikrobiote kože, koja izaziva oportunističke infekcije pod odgovarajućim uslovima (Tohidpour i sar., 2010). Prema Venancio i sar., (2017) *A. sativum* i *A. tuberosum* poseduju molekule koji su povezani antimikrobnim svojstvima. Obe vrste su smanjile infekcije uzrokovane stafilokokom. Ispitivani su i različiti ekstrakti od divljeg belog luka *A. ursinum*. Ispitivano je antimikrobno delovanje acetonskog, hloroformnog, etil acetatnog, n-butanolnog i vodenog ekstrakta svežeg cveća i lišća bugarske vrste *A. ursinum*. Acetonski ekstrakti iz oba dela i hloroform ekstrakt iz lišća su pokazali antimikrobno delovanje na vrstu *S. aureus*, dok nijedan od ekstrakata nije pokazao antimikrobnu aktivnost na vrstu *E. coli* (Ivanova i sar., 2009). Upporedna analiza vodenih i metanolnih ekstrakta *A. ursinum* pokazuje veću antimikrobnu aktivnost metanolnog ekstrakta na: *S. aureus*, *B. subtilis*, *E. coli*, *P. mirabilis*, *S. enteritidis* (Synowiec i sar., 2010). *A. ursinum* sos u našoj studiji nije rastvaran u organskim rastvaračima, već je stabilizovan sa Tween 20, zbog mogućeg odvajanja masti. Kao takav, pokazuje ograničeno/selektivno

antimikrobno delovanje. Selektivno dejstvo je najverovatnije zasnovano na činjenici da su sekundarni metaboliti nerastvorljivi u suncokretovom ulju, koje je korišteno kao medijum sosa.

Antimikrobna aktivnost *A. ursinum* verovatno potiče od jedinjenja koja sadrže sumpor (Sobolewska i sar., 2013). Alin je prirodni sastojak i sastavni deo svežeg belog luka. To je derivat aminokiseline cistein, koja se pod dejstvom enzima alliinaza pretvara u alicin. Alicin je prekursor sumpornih jedinjenja, odgovoran za miris i neka farmakološka svojstva belog luka. Kada je izložen atmosferskom vazduhu, alicin se pretvara u drugo jedinjenje (diallyldisulphinate) koji ima antimikrobno delovanje (Wang i sar., 2011; Venâncio i sar., 2017).

Tabela 1. Mikrobiološka analiza *A. ursinum* sosa  
 Table 1. Microbiological analysis of the *A. ursinum* sauce

Mikrobiološki parametar Microbiological parameters	Merna jedinica Measuring unit	Dozvoljena vrednost Allowed value	Nađena vrednost Found value	Metoda Test method
<i>Escherichia coli</i>	cfu/g	<10 <sup>2</sup>	<10	SRPS EN ISO16649-2:2008
Ukupan broj aerofilnih kolonija Aerophilic number of colonies	cfu/g	<5.0x10 <sup>6</sup>	<10	SRPS EN ISO4833-1:2017
Plesni i kvasci Molds and yeasts	cfu/g	<10 <sup>4</sup>	<10	SRPS EN ISO215272:2011
<i>Bacillus cereus</i>	cfu/g	<10 <sup>4</sup>	<10	SRPS EN ISO7932:2009



Tabela 2. Antimikrobna aktivnost *A. ursinum* sosa  
 Table 2. Antimicrobial activity of the *A. ursinum* sauce

Vrsta Species	Zona inhibicije data u mm (milimetar) Zone of growth inhibition given in mm (millimeter)
<i>E. coli</i>	/
<i>E. coli</i> ATCC 25923	/
<i>K. pneumoniae</i>	/
<i>K. pneumoniae</i> ATCC 70063	/
<i>S. typhimurium</i>	/
<i>S. enterica</i>	/
<i>P. mirabilis</i>	/
<i>P. mirabilis</i> ATCC 12453	/
<i>P. aeruginosa</i>	14 mm (T*)
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 9027	/
<i>E. faecalis</i>	/
<i>E. faecalis</i> ATCC 29212	/
<i>B. subtilis</i> IP 5832	/
<i>B. subtilis</i> ATCC 6633	/
<i>L. plantarum</i>	/
<i>B. animalis</i> subsp. <i>lactis</i>	/
<i>S. aureus</i>	10 mm (T*)
<i>S. aureus</i> ATCC 6538	14 mm (T*)
<i>Candida albicans</i> ATCC 10259	/
<i>Geotrichum candidum</i> ATCC 34614	/
<i>Trihofiton mentagrofites</i> ATCC 9533	/

Izgled zone (C - prozirna zona inhibicije; T\* - mutna zona inhibicije; /-nema zone inhibicije)

### Zaključak

Divji beli luk ili *A. ursinum*, u bilo kojem obliku, kao svež ili poput sosa, kao začim ima povoljan uticaj na zdravlje ljudi. Može se koristiti kao dodatno sredstvo za lečenje infekcija prouzrokovanih patogenim mikroorganizmima ili kao sredstvo za sprečavanje njihove pojave. Ovaj sos predstavlja originalni proizvod, napravljen od divljeg belog luka sa planine Kučaj. Na osnovu rezultata predstavljenih u ovom radu, *A. ursinum* sos je bezbedan kao dodatak ljudskoj ishrani.

### Napomena

Istraživanje je podržano od Ministarstva prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije (Grant br. 41010).

## Literatura

- Igić R., Vukov D., Božin B., Orlović S. (2010). Lekovite biljke-Prirodni resursi Vojvodine, "Vrelo"-Društvo za zdravu ishranu i zaštitu životne sredine, Novi Sad, Srbija.
- Ivanova A., Mikhova B., Najdenski H., Tsvetkova I., Kostova I. (2009). Chemical composition and antimicrobial activity of wild garlic *Allium ursinum* of Bulgarian origin. *Natural Product Communications*, 4: 1059-1062.
- Lupoae M., Coprean D., Dinică R., Lupoae P., Gurau G., Bahrim G. (2013). Antimicrobial activity of extracts of wild garlic (*Allium ursinum*) from Romanian spontaneous flora. *Scientific Study & Research, Chemistry & Chemical Engineering, Biotechnology, Food Industry*, 14: 221-227.
- Malinauskait, R., Šaluchaitė A. (2018). Effect of ionized water and stratification on the condition of *Allium ursinum* L. seeds. *Biologija*, 64: 160-165.
- Roller S., (2003). *Natural antimicrobials for the minimal processing of foods*. Woodhead Publishing Limited, Cambridge, England.
- Sobolewska D., Podolak I., Makowska-Wąs J. (2013). *Allium ursinum*: botanical, phytochemical and pharmacological overview. *Phytochemistry Reviews*, 14: 81-97.
- [Synowiec A.](#), [Gniewosz M.](#), [Zieja I.](#), [Baczek K.](#), [Przybył J.](#) (2010). Poroównanie własności przeciwdrobnoustrojowych ekstraktów z czosnku niedźwiedziego (*Allium ursinum*). *Zeszyty Problemowe Postępów Nauk Rolniczych*, 553: 203-209.
- Tohidpour A., Sattari M., Omidbaigi R., Yadegar A., Nazemi J. (2010). Antibacterial effect of essential oils from two medicinal plants against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). *Phytomedicine*, 17: 142-145.
- Trajković J., Mirić M., Šiler S. (1983). *Analiza prehrambenih proizvoda*. Tehnološko-metalurški fakultet u Beogradu, Srbija.
- Venâncio PC., Raimundo Figueroba S., Dias Nani B., Eduardo Nunes Ferreira L., Vilela Muniz B., de Sá Del Fiol F., Sartoratto A., Antonio Ribeiro Rosa E., Carlos Groppo F. (2017). Antimicrobial activity of two garlic species (*Allium sativum* and *A. tuberosum*) against staphylococci infection. *In vivo study in rats*. *Advanced Pharmaceutical Bulletin*, 7: 115-121.
- Wang J, Cao Y., Wang C., Sun B. (2011). Low-frequency and low-intensity ultrasound accelerates alliinase-catalysed synthesis of allicin in freshly crushed garlic. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 91: 1766-1772.

## **ALLIUM URSINUM SAUCE (ORIGINAL PRODUCT): CHEMICAL CHARACTERISTICS, MICROBIOLOGICAL AND ANTIMICROBIAL PROPERTIES**

*Katarina G. Mladenović<sup>1</sup>, Mirjana Ž. Grujović, Nevena N. Petrović,  
Marijana M. Kosanić, Ljiljana R. Čomić*

### **Abstract**

An original product named *Allium ursinum* sauce, made from garlic from Kučaj Mountain (Serbia), was investigated. The microbiological and antimicrobial properties (antibacterial and antifungal) of the sauce were determined using a disk diffusion method. *A. ursinum* sauce showed an antimicrobial effect on *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*. Based on preliminary results, it can be concluded that *A. ursinum* sauce is useful as a dietary supplement because it can participate in the control of certain pathogens that can be found in the human environment.

**Key words:** *Allium ursinum* sauce, microbiological analysis, antibacterial activity, antifungal activity

---

<sup>1</sup>Univerzitet u Kragujevcu, Prirodno-matematički fakultet, Institut za biologiju i ekologiju, Radoja Domanovića 12, Kragujevac, Srbija (katarina.mladenovic@pmf.kg.ac.rs);



## PROMENE FIZIČKOHEMIJSKIH KARAKTERISTIKA *SJENIČKOG SUDŽUKA* TOKOM LETNJE PROIZVODNJE U TRADICIONALNIM USLOVIMA

*Nedim Čučević<sup>1</sup>, Marija Jakanović<sup>2</sup>, Predrag Ikonić<sup>3</sup>, Snežana Škaljac<sup>2</sup>, Maja Ivić<sup>2</sup>, Branislav Šojić<sup>2</sup>, Vladimir Tomović<sup>2</sup>*

**Izvod:** Cilj ovog rada je bio da se ispita mogućnost proizvodnje *Sjeničkog sudžuka* na tradicionalan način, u letnjem periodu. Proizvodnja je organizovana tokom juna meseca u tri nezavisna objekta za preradu mesa (D, E i F) u Sjenici. Tokom proizvodnje vršen je monitoring temperature i relativne vlažnosti vazduha, a u definisanim danima proizvodnje (0, 3, 7, 15, 23) određivan je gubitak mase, vrednost pH i aktivnost vode ( $a_w$ ) kobasica. U odnosu na „zimsku“ proizvodnju, registrovana je viša prosečna temperatura te niža prosečna relativna vlažnost vazduha. Posledično, gubitak mase je bio izrazitiji, utvrđene su niže  $a_w$  vrednosti, dok je promena pH vrednosti bila blaža tokom „letnje“ u odnosu na „zimsku“ proizvodnju.

**Ključne reči:** Sjenički sudžuk, fermentisana suva kobasica, tradicionalna proizvodnja

### Uvod

Sjenički sudžuk je suva fermentisana kobasica, koja se tradicionalno proizvodi u Sjenici i veoma je cenjen proizvod kako u Srbiji, tako i u okolnim zemljama. Proizvodi se na tradicionalan način, od kvalitetnog govedeg mesa, bez dodatka aditiva i starter kultura. Zbog svog specifičnog i prepoznatljivog kvaliteta, Sjenički sudžuk poseduje visoku reputaciju, te je pokrenuta inicijativa da se ovaj proizvod zaštiti oznakom geografskog porekla (<http://www.zis.gov.rs>).

I pored usaglašene recepture i tehnologije proizvodnje, osnovna karakteristika tradicionalne proizvodnje je da zavisi od uslova sredine, veštine i kreativnosti proizvođača. Otuda, svaka proizvodnja u Sjenici može imati neku specifičnu notu. Posmatranje procesa proizvodnje Sjeničkog sudžuka u tri nezavisna objekta za preradu mesa moglo bi pružiti značajne informacije, koje bi podržale usvajanje opšte recepture i standardizacije proizvodne tehnologije Sjeničkog sudžuka.

U ovom radu je vršena kontrola proizvodnje Sjeničkog sudžuka u letnjem periodu, koja je visoko rizična. Pri proizvodnji u tradicionalnim uslovima nema kontrole temperature u objektima, pa zato atmosferska temperature diktira uslove rade, kao i zbog proizvodnje bez upotrebe konzervansa. Prikazani rezultati su

---

<sup>1</sup>Regionalni centar za razvoj polj. i sela, Nova bb, 36310 Sjenica, Srbija ([nedim.cucevic.rcrps@gmail.com](mailto:nedim.cucevic.rcrps@gmail.com))

<sup>2</sup>Univerzitet u Novom Sadu, Tehnološki fakultet Novi Sad, Bulevar cara Lazara 1, 21000 Novi Sad, Srbija

<sup>3</sup>Univerzitet u Novom Sadu, Institut za prehrambene tehnologije u Novom Sadu, Bulevar cara Lazara 1, 21000 Novi Sad, Srbija

upoređeni sa prethodnim radom, koji se bavio tradicionalnom proizvodnjom u zimskim uslovima, koja se smatra tradicionalnom, da bi se videlo koliko je odstupanje u letnjem periodu u odnosu na proizvodnju u zimskom periodu, kada se sjenički sudžuk tradicionalno proizvodi (Čučević i sar., 2018).

Prepoznajući statistički značajne razlike između proizvođača, zaštita geografskog porijekla Sjeničkog sudžuka biće još jedan korak bliže realizaciji.

### **Istorijat ishrane u Sjenici**

Sjenica se prvi put pominje 1253. godine, kao naselje u kojem su odsedali trgovci sa karavanima na putu Carigrad-Dubrovnik. Od tada, pa sve do izgradnje Sjeničke tvrđave, Sjenica je bila stanica na pomenutom putu.

Uzgajao se ječam i raž, kasnije ovas i bob (sočivo-leća), voća je bilo vrlo malo, po koja autohtona jabuka, kruška i džanarika. Glavni prehrambeni proizvodi su bili meso i mleko, koji su se maksimalno koristili kao osnovna namirnica za ishranu stanovništva. Od mleka se pravio sir, danas poznati i zaštićen proizvod - Sjenički sir. Koristila se surutka, pavlaka i hurda (nus proizvod prokuvavanja surutke, sir dobijen kuvanjem surutke). Meso se uglavnom jelo adekvatno pripremano odmah nakon klanja, jer nije bilo uslova za čuvanje. Ono što je moglo da se čuva je sušeno meso, koga je bilo zimi, ali ne i leti. Meso se sušilo na tavanima. Sjeničke kuće nisu imale klasične dimnjake, nego je dim od loženja i zagrevanja kuće išao na tavan, gde se zadržavao i dimio meso, koje se na tavanu čuvalo u toku zime.

Nakon izgradnje Sjeničke tvrđave u prvoj polovini 17. veka, Sjenica dobija karakter grada u kome se otvaraju kovačnice, pre svega za potrebe vojske, ali služe i za unapređenje života stanovnika, pa samim tim i poljoprivrede. Polovinom 19. veka počinje uzgajanje krompira. Sve do početka 20. veka grad je bio siromašniji od sela. Zajednice na selima su imale u proseku po 400-500 ovaca, obrađivali su zemlju i mogle su sebi da priušte salate i crveno meso u ishrani. Ljudi u gradu, pretežno nadničari su za svoj rad, u većini slučajeva su dobijali otpatke, iznutrice i sl. Od iznutrica se pravila prža (začinjen proizvod od iznutrica). Sirovo meso se čuvalo u bunarima ili trapovima kavraisanjem, a sušeno meso se čuvalo na tavanima ili u žitu.

Početkom 20. veka Sjenica dobija ozbiljne trgovce. Godine 1911. imamo podatak da je samo u toj godini od jednog trgovca iz Sjenice krenuo karavan koga su organizovali sjenički trgovci za Solun, a njim je otišlo 400.000 oka sjeničkog sira (Oka je ~1,28 kg mase ili 1,33 L zapremine). Između dva svetska rata, za Dubrovnik je odlazilo u jednom konvoju i do 1000 volova. Tada gradske porodice preuzimaju primat u odnosu na seoske zajednice. U gradu se otvaraju prve uslužne mesare. Smatra se da su one prve počele sa ozbiljnom proizvodnjom sudžuka od odrezaka mesa, koje je ostajalo od proizvodnje pršute. Trgovalo se sa obližnjim gradovima, ali između dva svetska rata trgovina je postala ozbiljna i jednačita. Sjenica je prodavala sušeno meso, sir, živu stoku Prijepolju, Bijelom Polju i Brodarevu, a iz tih gradova je u Sjenicu stizalo povrće, voće i žitarice.

Od tih dana pa do danas u Sjenici su se zadržali običaji sirenja; pravljenja prže i hurde (sitni sir dobijen kuvanjem surutke), ovčavina (kuvano ovčije mleko); sušenja pršute, stelje (sušena ovčija lubina, cela) i sudžuka. Industrializacija se upliće u tradicionalne načine proizvodnje i uz manje ili više značajne izmene obezbeđuje ozbiljnu proizvodnju kvalitetnih i zdravstveno bezbednih proizvoda koji nisu namenjeni samo za ličnu i lokalnu upotrebu, nego i za izvoz.

## Materijal i metode rada

Za potrebe rada o istorijatu ishrane u Sjenici, usled nedostatka literature, urađeno je istraživanje tehnikom „slobodnog intervjua“ sa diplomiranim arheologom, gospodinom Mustafom Baltićem, koji već godinama radi na prikupljanju i utvrđivanju istorijskih činjenica o Sjenici. U toku intervjua su postavljana pitanja sa ciljem da se od kompetentnog stručnjaka izvuče što više korisnih informacija na temu istorijata ishrane u Sjenici, sa osvrtom na Sjenički sudžuk.

Osnovna formulacija Sjeničkog sudžuka je: goveđe meso I i II kategorije (oko 80%) i masno tkivo (oko 20%). So i začini (crvena slatka paprika, beli luk i crni biber) dodati su u definisanim količinama na dobijenu mešavinu usitnjenog mesa i loja (granulacija približno  $\emptyset$  4 mm). Nakon mešanja pripremljen nadev je punjen u tanka goveđa creva.

Proizvodnja sudžuka obavljena je u tri (D, E i F) registrovana zanatsko-industrijska objekta na teritoriji opštine Sjenica. Dimljenje je obavljeno prema iskustvu proizvođača. Kobasice su se dimile 8 uzastopnih dana. Postupci fermentacije, sušenja i zrenja nastavljeni su na istom mestu. Konačno, kada je završen postupak sušenja, kobasice su stavljane u komoru za hlađenje, na 8 °C.

Od momenta punjenja do 23. dana, u samom proizvodnom objektu je meren gubitak mase (kalo) kobasica, dok su na Tehnološkom fakultetu u Novom Sadu urađene fizičko-hemijske analize. Uzorci su uzeti nakon 0, 3, 7, 15 i 23 dana, pakovani u kese i odmah transportovani u laboratoriju, u pokretnom frižideru.

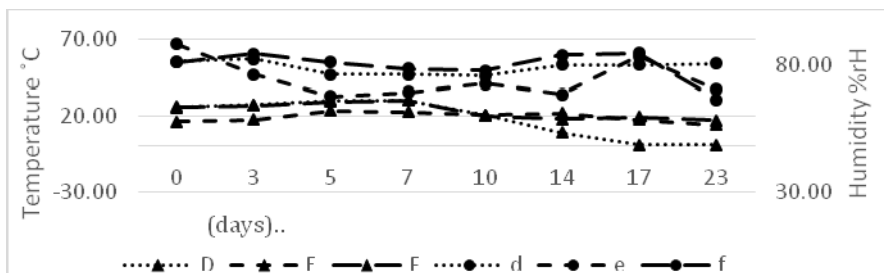
pH vrednost je određena prenosnim pH metrom TESTO 205 (Testo AG, SAD) sa kombinovanom ubodnom elektrodom sa temperaturnom kompenzacijom, za direktno određivanje pH u mesu (ISO 2917, 1999). Aktivnost vode ( $a_w$ ) određena je pomoću mernog instrumenta Testo 650 (Testo AG, SAD) (ISO 18787, 2017).

Da bi se ispravno protumačili rezultati ispitivanja, dobijeni podaci su statistički obrađeni i prikazani u tabelama kao aritmetička srednja vrednost  $\pm$  standardna devijacija. Značajnost razlika između dobijenih rezultata izračunat je korišćenjem analize varijanse (ANOVA) na legalnom softveru: "Past" (<https://folk.uio.no>). Razlike su smatrane značajnim pri  $P < 0,05$ .

## Rezultati istraživanja i diskusija

Temperature proizvodnog procesa Sjeničkog sudžuka u tri nezavisna objekta prikazani su na Grafikonu 1. Kobasice u objektima D i F su dimljene temperaturnim

režimom od 25 °C do 30 °C, dok su se kobasice u objektu E dimile na 16° C do 23 °C. Procesi sušenja i zrenja kobasica D bili su na temperaturama od 9 do 20 °C u periodu od samo 4 dana, i onda su skladištene u rashladnu vitrinu na 1 °C do 4°C. Kobasice E i F su više dana bile na zrenju, na temperaturama od 15 °C do 22 °C.



Graf. 1. Vlažnost vazduha (%rH) i temperature (°C) tokom proizvodnje  
 Graph. 1. Humidity (%rH) and average temperatures (°C) in the process

U odnosu na prethodno istraživanje u istim objektima (Ćučević i sar., 2018), prosečne temperature dimljenja su bile u letnjem periodu znatno više (19 °C do 27 °C), nego u zimskom (12 °C do 14 °C).

Upoređujući uslove proizvodnje (dimljenja, sušenja i zrenja) Sjeničkog sudžuka može se zaključiti da su kobasice sušene na višim temperaturama u letnjem periodu (zimski proizvodnja 12-14 ± 6 °C, letnja proizvodnja 25-30 ± 5 °C). Razlike u proizvodnim uslovima utiču na povećanje rizika proizvodnje ali ne i na dužinu proizvodnje, pa se prema kriterijumu za sadržaj vlage (<35%; Pravilnik 50/2019) smatra da je Sjenički sudžuk spreman za prodaju nakon 23 dana (Ikonić i sar., 2013.; Jokanović i sar., 2018).

Tabela 1. Vrednosti pH, a<sub>w</sub> i kalo i Sjeničkog sudžuka tokom dimljenja i sušenja  
 Table 1. Values of pH, a<sub>w</sub> and weight loss of sudžuk samples during drying and ripening process

Vreme (Dan) Time (Day)	Uzorci (Samples)								
	D			E			F		
	pH	a <sub>w</sub>	kalo	pH	a <sub>w</sub>	kalo	pH	a <sub>w</sub>	kalo
0	5,85 <sup>ab</sup>	0,95 <sup>a</sup>	0	5,80 <sup>b</sup>	0,95 <sup>a</sup>	0	5,94 <sup>a</sup>	0,95 <sup>a</sup>	0
3	5,33 <sup>a</sup>	0,90 <sup>a</sup>	21,10	5,55 <sup>b</sup>	0,93 <sup>a</sup>	15,37	5,69 <sup>b</sup>	0,90 <sup>a</sup>	18,29
7	5,25 <sup>a</sup>	0,86 <sup>ab</sup>	36,36	5,68 <sup>b</sup>	0,88 <sup>a</sup>	34,24	5,93 <sup>c</sup>	0,85 <sup>b</sup>	37,63
15	5,44 <sup>a</sup>	0,80 <sup>a</sup>	41,84	5,85 <sup>b</sup>	0,81 <sup>ab</sup>	46,18	5,97 <sup>b</sup>	0,82 <sup>b</sup>	43,70
23	5,47 <sup>a</sup>	0,76 <sup>a</sup>	43,58	5,91 <sup>b</sup>	0,79 <sup>ab</sup>	47,74	5,96 <sup>b</sup>	0,81 <sup>b</sup>	45,53

<sup>a-c</sup> Rezultatu u redovima sa različitim slovima se statistički značajno razlikuju (P<0,05)

Fermentacioni procesi, odnosno nastajanje mlečne kiseline, snižava vrednost pH u kobasicama i doprinosi higijenskoj bezbednosti proizvoda. Snižavanje vrednosti pH takođe izaziva i koagulaciju proteina mesa, smanjuje sposobnost vezivanja vode i olakšava odvijanje procesa sušenja. Iz rezultata prikazanih u



Tabeli 1, zapaža se naglo snižavanje vrednosti pH u prva tri dana, što se objašnjava činjenicom da se Sjenički sudžuk suši na visokim temperaturama. Najviša pH vrednost u nađevu zabeležena je u uzorku F (5,94), a najniža u uzorku E (5,80). Statistički značajne razlike pH vrednosti ( $P < 0,05$ ) su zapaženi između uzoraka E i F, dok se 3. dana proizvodnje pojavila između uzoraka D i F. Od 3. dana došlo je do značajne promene pH vrednosti uzorka D, koja je takođe bila značajno niža do kraja proizvodnje, u odnosu na pH vrednosti uzoraka E i F (Jokanović i sar., 2010).

Gubitak mase je bio blago naglašeniji u letnjem periodu (43,58%, 45,53% i 47,74%) nego u zimskom periodu (40,12%, 42,72% i 47,35%). Kobasice E zbog niže temperature dimljenja su imale manji gubitak mase do 7. dana, ali su do kraja zrenja one najviše kalirale (47,35%).

Prvih 7 dana, statistička analiza nije pokazala značajne razlike između uzoraka ( $P > 0,05$ ). Od 7. dana proizvodnje pojavila se razlika između uzoraka E i F. Do kraja proizvodnje, statistički značajna razlika je bila između uzoraka D i F, dok se uzorci E nisu statistički značajno razlikovali od uzoraka D i F. Vrednosti  $a_w$  dobijene na kraju procesa su bile takve da se pri njima samo ekstremofili (halofilne bakterije, *Aspergillus*) mogu razmnožavati (Leistner & Rodel, 2012).

Pored dostizanja niske  $a_w$  vrednosti i visoke temperature tokom sušenja, kobasice F nisu bile za konzum, usled mikrobiološkog kvara tokom proizvodnje. Proces kvara se može nazreti iz podataka u Tabeli 1, gde se zapaža da pH vrednost nije očekivano opadala, već je ostala na početnom nivou.

## Zaključak

Utvrđene razlike procesnih parametara tokom proizvodnje Sjeničkog sudžuka u toplijem periodu godine (viša prosečna temperatura i niža prosečna relativna vlažnost vazduha) u odnosu na zimski period, uslovile su i drugačiji tok promena fizičko-hemijskih karakteristika. Gubitak mase je bio intenzivniji u letnjem periodu, dok su promene pH vrednosti bile mnogo blaže, ukazujući na slabiji tok fermentacije. Ovakve promene fizičko-hemijskih karakteristika mogu negativno uticati na održivost i bezbednost finalnog proizvoda. Potrebna su dodatna istraživanja da bi se i u toplijem periodu godine omogućila proizvodnja Sjeničkog sudžuka, karakterističnih i prepoznatljivih svojstava.

## Napomena

Ovaj rad su podržali i finansirali MPNTR Republike Srbije - projekat TR 31032, proizvođači Sjeničkog sudžuka, Regionalnog centra za razvoj polj. i sela doo, kao i kompanija Bidament doo.

## Literatura

- Ikonić, P., Tasić, T., Petrović Lj., Škaljac, S., Jokanović, M., Mandić, A., Ikonić, B. (2013). Proteolysis and biogenic amines formation during the ripening of Petrovska klobása, traditional dry-fermented sausage, *Food Control*, 30, 69-75.
- Intellectual Property Office, Republic of Serbia (<http://www.zis.gov.rs/prava-is/oznake-geografskog-porekla>)
- ISO 18787, Determination of water activity, Geneva, 2017.
- ISO 2917, Meso i mesne preradevine – Određivanje vrednosti pH, Referentna metoda, 1999.
- Jokanović, M et al. (2018). Proteolysis and texture profile of traditional dry-fermented sausage as affected by primary processing method. **Meat Technology**, 58, 2, 103-109.
- Leistner, L., Rodel, W. (1975). [The Significance of Water Activity for Microorganisms in Meats](#). *Water Relations of Foods*, 309-323.
- National History Museum, University of Oslo: PAST (data analysis software system), version 3,20, 2018. <https://folk.uio.no/ohammer/past/>.
- [Pravilnik o kvalitetu usitnjenog mesa, poluproizvoda od mesa i proizvoda od mesa](#), Službeni glasnik RS, 50/2019.
- Ćučević, N., Jokanović, M., Ikonić, P., Škaljac, S., Ivić, M., Šojić, B., Peulić, T., Tomović, V. (2018). Changes of physical characteristics of sjenički sudžuk during production in traditional conditions, 4<sup>th</sup> International Congress, quality and safety, 21.
- Jokanović, M., Džinić N., Petrović Lj., Ikonić P., Tasić T., Tomović, V., Savatić S., (2010). Promena teksture tokom sušenja i zrenja tradicionalne petrovačke kobasice proizvedene od toplog i ohlađenog mesa, NODA 2010.

## CHANGES OF PHYSICOCHEMICAL CHARACTERISTICS OF *SJENIČKI SUDŽUK* DURING SUMMER PRODUCTION IN TRADITIONAL CONDITIONS

*Nedim Čučević<sup>1</sup>, Marija Jakanović<sup>2</sup>, Predrag Ikonić<sup>3</sup>, Snežana Škaljac<sup>2</sup>, Maja Ivić<sup>2</sup>, Branislav Šojić<sup>2</sup>, Tatjana Peulić<sup>3</sup>, Vladimir Tomović<sup>2</sup>*

### Abstract

The aim of this paper was to examine the possibility of producing Sjenica sudžuk in the traditional way in the summer. Production was organized in June at three independent meat processing facilities (D, E and F) in Sjenica. During production, temperature and relative humidity were monitored. Mass loss, pH, and water activity ( $a_w$ ) of sausages were determined during defined production days (0, 3, 7, 15, 23). Compared to winter production, a higher average temperature and a lower average relative humidity were registered. Consequently, the mass loss was more pronounced, lower  $a_w$  values were found, while the change in pH was milder during the „summer“ compared to the „winter“ production.

**Key words:** Sjenički sudžuk, fermented dry sausage, traditional production

---

<sup>1</sup>Regional Center for Agriculture and Rural Development, Nova bb, 36310 Sjenica, Serbia

<sup>2</sup>University of Novi Sad, Faculty of Technology Novi Sad, Boulevard cara Lazara 1, 21000 Novi Sad, Serbia

<sup>3</sup>University of Novi Sad, Institute of Food Technology in Novi Sad, Boulevard cara Lazara 1, 21000 Novi Sad, Serbia



## ISPITIVANJE TOPLOTNIH SVOJSTAVA HLEBA SA VOĆNIM PRAHOM ARONIJE (*ARONIA MELANOCARPA L.*)

Igor Đurović<sup>1</sup>, Marko Petković<sup>1</sup>, Nemanja Miletić<sup>1</sup>, Jovana Radovanović<sup>1</sup>

**Izvod:** U radu je ispitivan uticaj različitih udela voćnog praha (1, 2,5, 5 i 10%) crne aronije (*Aronia melanocarpa L.*) na toplotne osobine hleba od pšeničnog brašna. Voćni prah aronije dobijen je konvektivnim sušenjem svežih plodova na temperaturama 50, 60 i 70 °C, mlevenjem i prosejavanjem. Uzorci hleba sa dodatkom voćnog praha aronije imaju viši toplotni kapacitet u odnosu na beli hleb. Sa porastom udela voćnog praha aronije raste i specifični toplotni kapacitet. Hleb sa dodatkom 10% voćnog praha aronije sušene na 60 °C, ima najvišu vrednost specifičnog toplotnog kapaciteta ( $3,8161 \text{ J } 100 \text{ g}_{\text{suve materije hleba}}^{-1} \cdot \text{K}$ ).

**Ključne reči:** hleb, voćni prah aronije, specifični toplotni kapacitet.

### Uvod

Hleb je jedna od najstarijih namirnica. Arheološki nalazi su pokazali da su se razne vrste hleba koristile u ishrani, pre više od 4000 godina. U mnogim kulturama hleb je i danas jedna od osnovnih, svakodnevnih namirnica. Postoji veliki broj tipova hleba sačinjenih od različitih vrsta brašna, nekih biljnih dodataka ili smeše jednih i drugih. Osnovne komponente belog hleba su: pšenično brašno, voda, kvasac, šećer, so i ulje (mast) (Filipčev, 2008).

Aronija je žbunovita biljka, iz familije *Rosaceae* (ruža) i podfamilije *Maloidea*. Postoje tri vrste aronije: crna aronija (*Aronia melanocarpa L.*), crvena aronija (*Aronia rouge L.*) i ljubičasta aronija (*Aronia prunifolia L.*), koja je hibrid predhodne dve vrste. Crna aronija se najviše koristi u ishrani u obliku prerađevina, a manje kao sveža zbog specifičnog kiselog i oporog ukusa. Aronija potiče iz istočnih delova Severne Amerike. Oko 1900. godine njen areal se proširio na evropski kontinent, na delove Rusije, Skandinavije i Istočne Evrope. Pre 50 godina, aronija je počela da se gaji na Balkanskom poluostrvu, ali je kod nas u široj upotrebi od nedavno (Ćujić, 2017).

Hemijski sastav aronije zavisi od: sorte, vremena berbe, zrelosti plodova, primenjenih agrotehničkih mera i klimatskih uslova.

Aronija je najveći izvor polifenolnih jedinjenja. Najzastupljeniji polifenoli u plodovima aronije su: antocijani, procijanidini i fenolne kiseline (Kulling i Rawel, 2008). Pored polifenola, koji su najjači antioksidansi, u plodovima aronije nalaze se jedinjenja sa manjom antioksidativnošću, kao što su: karotenoidi, tokoferoli i vitamini. Aronija, za razliku od drugog bobičastog voća, obiluje u sadržaju

<sup>1</sup>Univerzitet u Kragujevcu, Agronomski fakultet Čačak, Cara Dušana 34, Čačak, Srbija  
[igor.djurovic@kg.ac.rs](mailto:igor.djurovic@kg.ac.rs); [marko.petkovic@kg.ac.rs](mailto:marko.petkovic@kg.ac.rs); [n.m.miletic@kg.ac.rs](mailto:n.m.miletic@kg.ac.rs); [radovanovicjovana2@gmail.com](mailto:radovanovicjovana2@gmail.com)

karotenoida. Od karotenoida su prisutni: likopen,  $\beta$ -karoten,  $\beta$ -kriptoksantin, lutein, 5,6-epoksilutein, *cis*- i *trans*- violaksantin i neoksantin (Simić, 2018).

Seme aronije sadrži gliceridno ulje, u kome su rastvoreni fosfolipidi i steroli.

Cilj istraživanja je ispitivanje efekta dodatka voćnog praha, dobijenog sušenjem ploda aronije na različitim temperaturama (50, 60 i 70 °C) na toplotne osobine hleba.

## Materijal i metode rada

U radu su korišćeni osušeni plodovi crne aronije (*Aronia melanocarpa* L.). Sušenje je vršeno konvektivnom metodom u komercijalnom dehidratoru (Colossus SSS 5330, 250 W, 60 Hz), na temperaturama 50, 60 i 70 °C.

Suvi plodovi aronije samleveni su u mlinu za kafu. Dobijeni praškasti materijali prosejani su (prečnik sita < 0,5 mm) i kao takvi korišćeni za pravljenje uzoraka. U sastav uzorka hleba ulaze: brašno "Danubius" T400, prah aronije, kvasac, šećer, so, palmino ulje i voda.

Hleb je napravljen sa udelima voćnog praha aronije od 1, 2,5, 5 i 10%. Pored uzoraka hleba sa dodatkom aronije, napravljen je i uzorak belog hleba bez aronije, koji predstavlja standard.

Priprema hleba obuhvatala je faze: odmeravanja sirovina, zamesa testa, fermentacije (I i II fermentacija) i pečenja. Sve faze, izuzev odmeravanja sirovina, vršila je sama mini pekara.

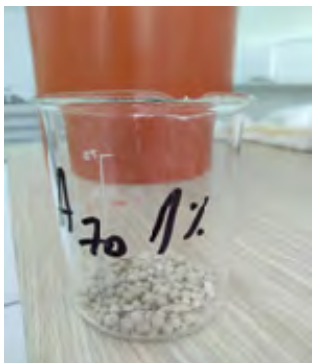
Pripremljeni uzorci hleba podvrgnuti su toplotnoj analizi (određivanju toplotnog kapaciteta uzoraka). Određivanje kapaciteta kalorimetra vrši se tako što se menzурom odmeri voda, izmeri njena masa  $m_1$  i prenese u kalorimetrijski sud. Temperatura ove vode  $t_1$  bliska je temperaturi okoline. Napunjen sud spušta se u kalorimetar i zatvara poklopcem. Na poklopcu se nalazi termometar i mešalica. Kako bi se uspostavila ravnoteža u sudu, povremeno se vrši mešanje. Nakon par minuta od postizanja ravnoteže u sistemu, očitava se temperatura u kalorimetru.

Zatim se zagreje približno ista zapremina vode mase  $m_2$  do temperature  $t_2$ . Ove dve vode se pomešaju u kalorimetarskom sudu i mešaju dok se ne uspostavi toplotna ravnoteža. Kada se temperatura smeše više ne menja (uspostavljena toplotna ravnoteža), očita se njena vrednost  $t_s$ .

$$C_k = m_2 \cdot c \cdot \frac{t_2 - t_x}{t_x - t_1} - m_1 \cdot c$$

Gde je:

- $C_k$  - kapacitet kalorimetra [J g<sup>-1</sup>·K];  $m_1$  - masa vode na temperaturi okoline [g];  $m_2$  - masa zagrejane vode [g];  $t_1$  - temperatura vode [°C];  $t_2$  - temperatura zagrejane vode [°C];  $t_s$  - temperatura smeše [°C];  $c$  - specifična toplota kalorimetrijske tečnosti (vode) 4,185 · 10<sup>3</sup> J kg<sup>-1</sup>·K



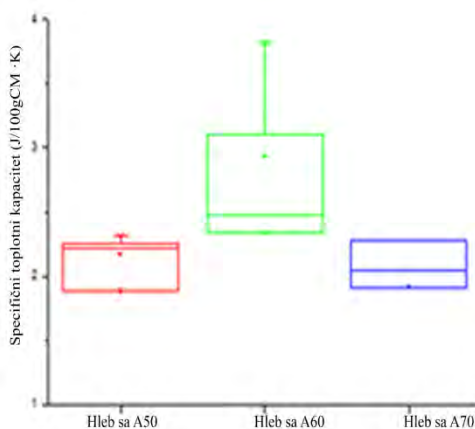
Graf. 1. Hlebne kuglice za određivanje specifičnog toplotnog kapaciteta različitih uzoraka hleba

*Graph. 1. Bread balls for determining the specific heat capacity of different bread samples*

Određivanje specifičnog toplotnog kapaciteta hleba vrši se tako što se odmeri određena masa sredine uzoraka hleba i od nje naprave kuglice veličine 1-2 mm (Graf. 1). Kuglice se stave u rezervoar. Oko rezervoara se nalazi vodeno kupatilo. Kada se vodeno kupatilo zagreje do temperature ključanja, uključuje se hronometar i meri 10 minuta. Nakon isteka vremena, kuglice se otvaranjem zapušača spuštaju u sud kalorimetara. U sudu kalorimetra nalazi se voda, poznate mase i temperature. Kad sve kuglice pređu u sud, meri se promena temperature u jedinici vremena, sve dok se ne postigne ravnoteža. Na ovaj način određuje se maksimalna temperatura sistema kuglice/voda.

## Rezultati istraživanja i diskusija

Rezultati specifičnih toplotnih kapaciteta prikazani su na Grafiku 1 i u Tabeli 1.



Graf. 2. Rezultati specifičnih toplotnih kapaciteta uzoraka hlepčića

*Graph. 2. Specific heat capacity results by quickbreads specimens*

Najnižu vrednost specifičnog toplotnog kapaciteta ima beli hleb  $1,5037 \text{ J}/100\text{g}_{\text{suve materije hleba}} \cdot \text{K}$ , dok najveću vrednost ima hleb sa 10% praha aronije, sušene na  $60 \text{ }^\circ\text{C}$ , (Graf. 2.). Zbog različitog temperaturnog režima sušenja i njegovog trajanja, pretpostavlja se da je došlo do određenih fizičko-hemijskih promena u komponentama ploda, koje utiču na rezultate specifičnog toplotnog kapaciteta hleba sa prahom aronije sušene na različitim temperaturnim režimima.

Porastom udela voćnog praha aronije, uočava se porast specifičnog toplotnog kapaciteta uzoraka (Tabela 1).

Tabela 1. Rezultati specifičnog toplotnog kapaciteta  
*Table 1. Specific heat capacity results*

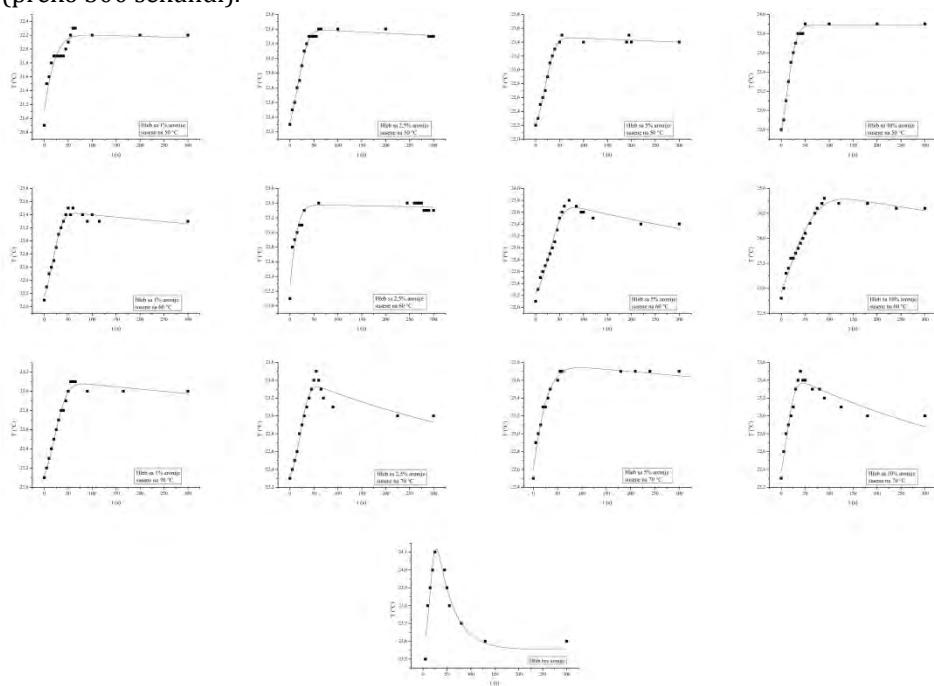
Vrsta hleba <i>Kind of bread</i>	Specifični toplotni kapacitet (J g <sup>-1</sup> ·K)  <i>Specific heat capacity (J g<sup>-1</sup> ·K)</i>	Specifični toplotni kapacitet (J 100 g <sub>suve materije hleba</sub> <sup>-1</sup> ·K)  <i>Specific heat capacity (J 100g dry matter of bread<sup>-1</sup> ·K)</i>
Beli hleb <i>White bread</i>	1,1176	1,7444
Hleb sa A <sub>50</sub> 1% <i>Bread with A<sub>50</sub> 1%</i>	1,2473	1,8840
Hleb sa A <sub>50</sub> 2,5% <i>Bread with A<sub>50</sub></i> 2,5%	1,5522	2,3108
Hleb sa A <sub>50</sub> 5% <i>Bread with A<sub>50</sub> 5%</i>	1,5209	2,2531
Hleb sa A <sub>50</sub> 10% <i>Bread with A<sub>50</sub></i> 10%	1,4796	2,2217
Hleb sa A <sub>60</sub> 1% <i>Bread with A<sub>60</sub> 1%</i>	1,5888	2,4735
Hleb sa A <sub>60</sub> 2,5% <i>Bread with A<sub>60</sub></i> 2,5%	1,5896	2,3355
Hleb sa A <sub>60</sub> 5% <i>Bread with A<sub>60</sub> 5%</i>	2,1245	3,0982
Hleb sa A <sub>60</sub> 10% <i>Bread with A<sub>60</sub></i> 10%	2,5254	3,8161
Hleb sa A <sub>70</sub> 1% <i>Bread with A<sub>70</sub> 1%</i>	1,2752	1,9140
Hleb sa A <sub>70</sub> 2,5% <i>Bread with A<sub>70</sub></i> 2,5%	1,4772	2,0499
Hleb sa A <sub>70</sub> 5% <i>Bread with A<sub>70</sub> 5%</i>	1,4979	2,2725
Hleb sa A <sub>70</sub> 10% <i>Bread with A<sub>70</sub></i> 10%	1,5037	2.1316

Na Graf.3. prikazane su promene temperature kuglica uzoraka u toku vremena. Na osnovu prikazanih grafika, uočava se da je najizraženiji vrh (pik) grafika kod uzorka belog hleba. Pik je oštar, dostiže vrednost temperature 24,1 °C i naglo opada do vrednosti 23,7 °C, vrednost se zatim lagano smanjuje do postizanja konstantne temperature.



Najduži period zagrevanja kuglica (oko 125 sekundi) ima uzorak hleba sa udelom od 10% praha aronije sušene na 60 °C , zbog čega ovaj uzorak ima najveći toplotni kapacitet.

Hleb sa 10% praha aronije sušene na 50 °C, nakon dostizanja maksimalne temperature, održava istu vrednost temperature u dužem vremenskom intervalu (preko 300 sekundi).



Graf. 3. Grafici promena temperature kuglica hleba  
 Graph. 3. Graphs of sample balls temperature changes

### Zaključak

Na osnovu rezultata dobijenih u ovom radu može se zaključiti da minimalnu vrednost specifičnog toplotnog kapaciteta ima kontrolni uzorak (1,7444 J 100 g<sub>suve</sub> materije hleba<sup>-1</sup>·K). Za razliku od njega, uzorak sa 10% biljnog materijala sušenog na 60 °C ima najvišu vrednost specifičnog toplotnog kapaciteta (3,8161 J 100 g<sub>suve</sub> materije hleba<sup>-1</sup>·K). Razlog ovome je različito trajanje procesa sušenja plodova aronije, pri različitim temperaturnim režimima. Takođe, porast udela voćnog praha aronije uticao je na rast specifičnog toplotnog kapaciteta uzoraka.

## Napomena

Istraživanja u ovom radu deo su Projekta 172016 i Projekta 172057 koje finansira Ministarstvo prosvete, nauke i tehnološkog razvoja.

## Literatura

- Filipčev B. (2009). Nutritivni profil, antioksidacioni potencijal i senzorni kvalitet specijalnih vrsta hlebova sa dodatkom melase šećerne repe. Doktorska disertacija, Novi Sad, Tehnološki fakultet.
- Ćujić N. (2017). Optimizacija ekstrakcije ploda aronije *Aronia melanocarpa* (Mishx.) Elliott, mikroinkapsulacija ekstrakta metodama elektrostatičke ekstruzije i sušenje raspršivanjem. Doktorska disertacija, Beograd, Farmaceutski fakultet.
- Kulling E., Rawel M. (2008). Chokeberry (*Aronia melanocarpa*): a review on the characteristic components and potential health effects. *Planta Medica*.74(13): 1625-1634.
- Simić M. V. (2018) Optimizacija mikrotalasne ekstrakcije polifenolnih jedinjenja iz ploda aronije (*Aronia melanocarpa* L.). Doktorska disertacija, Leskovac, Tehnološki fakultet.
- Petković M., Đurović I., Miletić N., Radovanović J. (2019). Effect of convective drying method of chokeberry (*Aronia melanocarpa* L.) on drying kinetics, bioactive components and sensory characteristics of bread with chokeberry powder. *Periodica Polytechnica Chemical Engineering* 1, 1-9.

## **THERMAL ANALYSIS PRODUCTS OF BREAD WITH A FRUIT DUST OF CHOKEBERRY (*ARONIA MELANOCARPA L*)**

*Igor Đurović<sup>1</sup>, Marko Petković<sup>1</sup>, Nemanja Miletić<sup>1</sup>, Jovana Radovanović<sup>1</sup>*

### **Abstract**

The effect of different proportions of fruit powder (1, 2.5, 5 and 10%) of black aronia (*Aronia melanocarpa* L.) on the thermal properties of wheat flour bread was examined. Aronia fruit powder was obtained by convective drying of fresh fruits at temperatures of 50, 60 and 70 °C, milling and sieving. Bread samples with the addition of aronia fruit powder have a higher heat capacity than white bread. As the proportion of aronia fruit powder increases, so does the specific heat capacity. Bread with the addition of 10% aronia fruit powder, dried at 60 °C, has the highest value of specific heat capacity (3,8161 J/ 100g<sub>dry matter of bread</sub> • K).

**Key words:** bread, fruit powder of aronia, specific heat capacity.

---

<sup>1</sup>University of Kragujevac, Faculty of Agronomy Čačak, Cara Dušana 34, Čačak, Serbia  
([igor.djurovic@kg.ac.rs](mailto:igor.djurovic@kg.ac.rs); [marko.petkovic@kg.ac.rs](mailto:marko.petkovic@kg.ac.rs); [n.m.miletic@kg.ac.rs](mailto:n.m.miletic@kg.ac.rs); [radovanovicjovana2@gmail.com](mailto:radovanovicjovana2@gmail.com))



## PROTEOLITIČKE PROMENE TOKOM PROIZVODNJE I SKLADIŠTENJA SUVIH FERMENTISANIH KOBASICA SA LANENIM ULJEM

*Slaviša Stajić<sup>1</sup>, Dušan Živković<sup>1</sup>*

**Izvod:** Cilj ovog ogleada je da ispita da li zamena različitih udela čvrstog masnog tkiva u nadevu suvih fermentisanih kobasica lanenim uljem u obliku alginatnog gela i emulzije sa izolatom proteina soje utiče na tok proteolitičkih promena tokom proizvodnje i 90 dana hladnog čuvanja u vakuumu ovih kobasica. Tok promena sadržaja neproteinskog azota tokom procesa proizvodnje modifikovanih kobasica je bio sličan kontrolnom tretmanu i na kraju procesa proizvodnje je povećan u odnosu na početak za 24,38% kod kontrolne kobasice, odnosno za 16,36–28,31% kod kobasica sa lanenim uljem. Promene na sarkoplazmatskim i miofibrilarnim proteinima tokom procesa proizvodnje i 90 dana skladištenja kobasica sa lanenim uljem bile su veoma slične promenama kod kontrolne kobasice i u saglasnosti s literaturnim podacima za fermentisane kobasice.

**Ključne reči:** fermentisane kobasice, laneno ulje, neproteinski azot, SDS-PAGE.

### Uvod

Fermentisane kobasice se prave usitnjavanjem mesa i masnog tkiva do željene granulacije, uz dodatak kuhinjske soli, nitrata/nitrita, askorbinske kiseline/askorbata, šećera i začina. Nadev se zatim puni u propusne omotače i podvrgava procesu dimljenja, fermentacije, sušenja i zrenja u trajanju od nekoliko nedelja, tokom kojeg se dešava niz biohemijskih transformacija povezanih s razvojem mikrobiološke flore i aktivnošću tkivnih enzima. Kao posledica ovih biohemijskih transformacija formiraju se specifična senzorna svojstva: narezivost, struktura, karakteristična boja, miris i ukus (Ammor i Mayo, 2007). Produkti proteolize doprinose nastanku karakterističnog mirisa i ukusa, kao i teksture fermentisanih kobasica (Casaburi i sar., 2008). Katepsini (naročito katepsin D) su odgovorni za početnu razgradnju miofibrilarnih i sarkoplazmatskih proteina, dok u kasnijoj fazi zrenja kobasica mikrobiološki enzimi imaju važniju ulogu (Casaburi i sar., 2008). Udeo masnog tkiva u nadevu fermentisanih kobasica najčešće nije veći od 30%, tako da sadržaj masti u gotovom proizvodu može biti i preko 40%. Masno tkivo je vrlo važan sastojak u formulaciji fermentisanih kobasica, jer doprinosi formiranju specifičnih senzornih svojstava, ali u nutritivnom smislu nije poželjno zbog velikog sadržaja nezasićenih masnih kiselina. Poboljšanje profila masnih kiselina fermentisanih kobasica zamenom dela masnog tkiva uljima koja sadrže

---

<sup>1</sup>Univerzitet u Beogradu, Poljoprivredni fakultet, Nemanjina 6, Beograd, Srbija (stajic@agrif.bg.ac.rs)

veće količine, pre svega omega-3 masnih kiselina, moguće je pod uslovom da se senzorna svojstva gotovog proizvoda ne promene do neprihvatljivosti.

Budući da proteolitičke promene doprinose nastanku specifičnih senzornih svojstava, cilj ovog istraživanja je da se istraži da li zamena dela masnog tkiva lanenim uljem u obliku alginatog gela i emulzije sa izolatom proteina soje utiče na tok proteolitičkih promena tokom proizvodnje i 90 dana hladnog skladištenja suvih fermentisanih kobasica, upakovanih u vakuum pakovanju.

## Materijal i metode rada

Formulacija tretmana fermentisanih kobasica i način izrade je bio identičan kao što su opisali Stajić i sar. (2014, 2018). Ukratko: kontrolni tretman fermentisanih kobasica (KON) je napravljen od mesa buta svinja (75%) i čvrstog masnog tkiva (ČMT - 25%), dok je 6 modifikovanih tretmana napravljeno zamenom različitih udela ČMT-a lanenim uljem (čiji je sadržaj u nadevu kobasica bio oko 5%, 7% i 9%), pripremljenih kao alginatni gel (A tretmani - A5, A7, A9) i emulzija sa izolatom proteina soje (E tretmani - E5, E7, E9). Proces proizvodnje je trajao 20 dana. Potom su kobasice upakovane u vakuum kese i čuvane 90 dana, na temperaturi od  $6 \pm 1$  °C. Po četiri kobasice su nasumično uzete na početku proizvodnje (P0), 2, 6, 13. dana (P2, P6 i P13), na kraju procesa proizvodnje (P20) i na svakih 30 dana tokom skladištenja (S30, S60 i S90), da bi se pratile promene na proteinima, sledećim analizama:

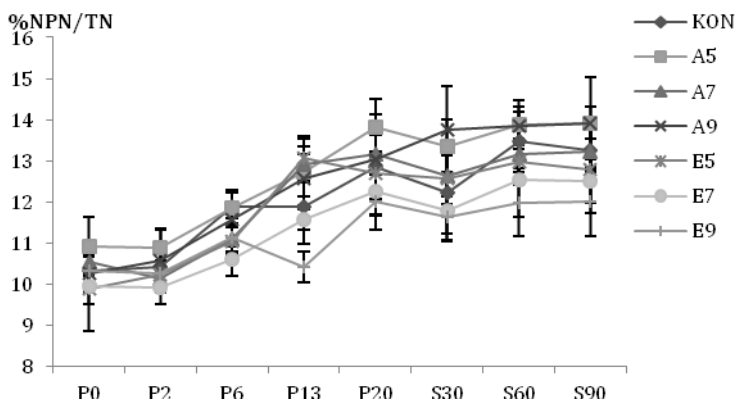
**Neproteinski azot (NPN)** ekstrahovan je na način koji su opisali Hughes i sar. (2002) a sadržaj azota je analiziran metodom po Kjeldalu. Rezultati su prikazani kao %NPN u ukupnom azotu (%NPN/TN) i obrađeni jednofaktorijskom analizom varijanse, dok su razlike između srednjih vrednosti testirane Takejevskim testom. Statistička značajnost je određivana na nivou od  $p < 0,05$ .

**Natrijum-dodecil-sulfat-poliakrilamid gel elektroforeza (SDS-PAGE):** Ekstrakti sarkoplazmatskih i miofibrilarnih proteina dobijeni su prema metodi koju su opisali Diaz i sar. (1997) i analizirani SDS-PAGE gel elektroforezom. Postupak, uslovi ekstrakcije i SDS-PAGE gel elektroforeze su bili identični kao što su opisali Stajić i sar. (2013).

## Rezultati istraživanja i diskusija

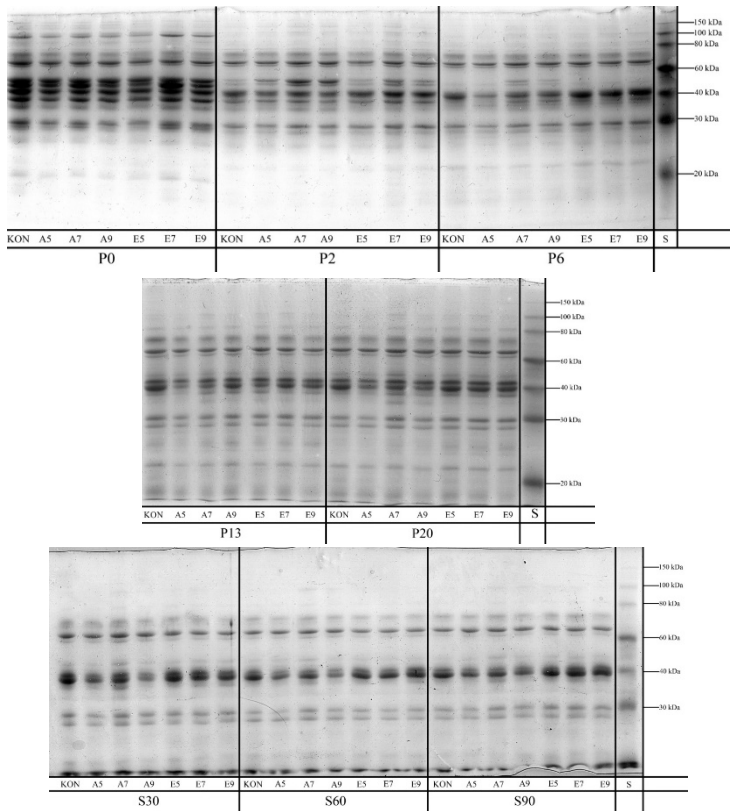
Sadržaj NPN-a u nadevu (P0, Grafikon 1) se kretao u intervalu 10–11%, bez značajnih razlika između tretmana. Kao posledica aktiviranja mišićnih proteinaza zbog pada pH vrednosti i bakterijske aktivnosti, od P2 do P20 uočava se intenzivan rast. Tada je sadržaj NPN-a manji kod E tretmana u odnosu na ostale, ali značajan samo kod E9 u odnosu na A5. U odnosu na P0, povećanje NPN-a je u P20 bilo veoma slično između svih tretmana [23,40%(E7)–28,31%(E5)], osim kod E9, gde je porast bio manji (16,36%). Rezultati se podudaraju sa literaturnim podacima Stajića i sar. (2013), koji su posle 30 dana proizvodnje sudžuka (sa starter kulturama i bez njih) utvrdili porast NPN-a 35–50%, dok su Hughes i sar. (2002) tokom 10 dana

proizvodnje polusuve fermentisane kobasice utvrdili porast od 10–15%. Tokom skladištenja (P20–S90), sadržaj NPN-a se nije značajno menjao i u odnosu na P0 veći je za 25,56%(A7)–35,81%(A9), osim kod E9 (16,45%). Ovi podaci su u skladu s literaturnim podacima o vakuumiranim fermentisanim kobasicama čuvanim na temperaturi frižidera (Dalmis i Soyer, 2008).



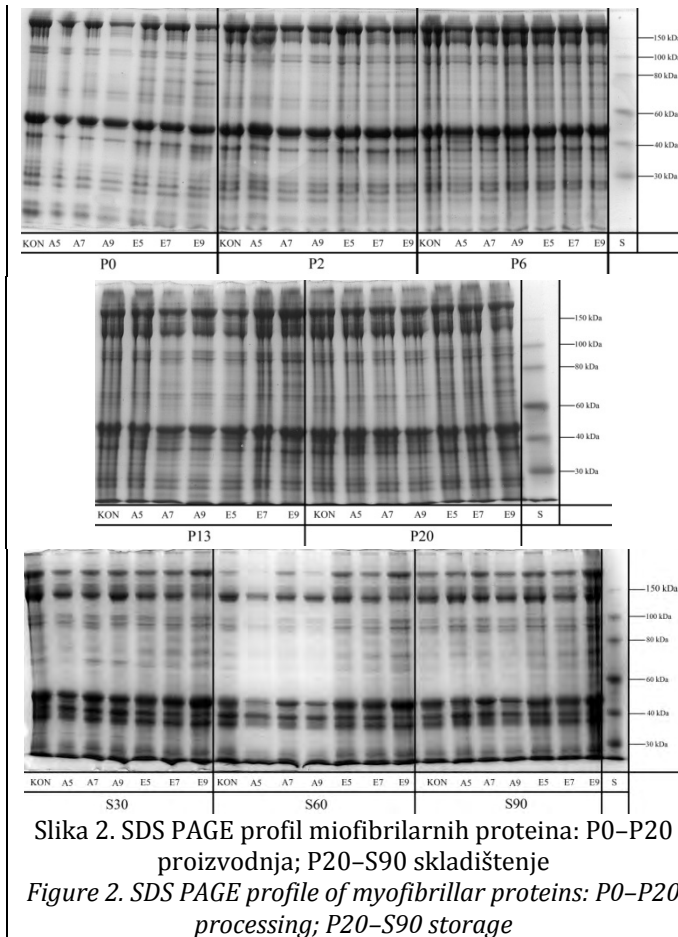
Graf. 1. Промена NPN-a: P0–P20 proizvodnja; P20–S90 skladištenje  
 Graph. 1. NPN changes: P0–P20 production period; P20–S90 storage

Promene na proteinima sarkoplazme (Slika 1) bile su slične kod svih tretmana i u saglasnosti s literaturnim podacima za fermentisane kobasice s dodatkom starter kultura (Casaburi i sar., 2007; Stajić i sar., 2013). Kod svih tretmana, frakcija protein relativne molekulske mase (Mr) oko 100 kDa je gotovo u potpunosti nestala 2. dana. Slične promene kod fermentisanih kobasica sa starter kulturama uočili su Stajić i sar. (2013). Najintenzivnije promene uočene su kod frakcija protein Mr=36–46 kDa, što je slično promenama koje su uočili Casaburi i sar. (2007) i Stajić i sar. (2013). Intenzivnija razgradnja frakcija Mroko 43 kDa (kreatinkinaza – Marino i sar., 2014) i 46 kDa intenzivnijaje kod KON i E tretmana 2. dana, pri čemu frakcije nestaju već 6. dana, a kod A tretmana 13. dana. Od 13. dana do kraja procesa proizvodnje nisu uočene velike promene na proteinima sarkoplazme kod svih tretmana, što je u skladu s literaturnim podacima za promene na proteinima sarkoplazme tokom skladištenja fermentisanih kobasica u vacuum pakovanju na temperature frižidera (Dalmis i Soyer, 2008; Živković i sar., 2011). Tokom skladištenja (P20–S90), najznačajnija promena ogleda se kod frakcije od oko 40 kDa, koja je intenzivnija nego na kraju procesa proizvodnje kod KON i E tretmana u odnosu na A tretmane. Nisu uočene razlike u promeni miofibrilarnih proteina tokom proizvodnje (P0–P20) i skladištenja (P20–S90) kod svih tretmana s lanenim uljem, u odnosu na kontrolnu varijantu (Slika 2). Postepena razgradnja frakcije koja odgovara teškom meromiozinu(190–200 kDa) tokom proizvodnje nastavlja se intenzivnije tokom skladištenja.



Slika 1. SDS PAGE profil sarkoplazmatskih proteina: P0–P20  
 proizvodnja; P20–S90 skladištenje  
 Figure 1. SDS PAGE profile of sarcoplasmic proteins: P0–P20  
 processing; P20–S90 storage





Međutim, za razliku od literaturnih podataka za fermentisane kobasice sa starter kulturama (Casaburi i sar., 2007; Stajić i sar., 2013), nije utvrđen potpuni nestanak aktina. Intenzivnija razgradnja aktina (oko 45 kDa) uočava se posle P6, dok se posle S30 uočava povećanje te frakcije, verovatno kao posledica komigracije peptida nastalih razgradnjom teškog meromiozina (Candogan i sar., 2008), pri čemu je intenzitet nešto manji kod A tretmana. Tokom skladištenja se uočava i pojava frakcije od oko 40 kDa, moguće kao posledica razgradnje teškog mermiozina.

## Zaključak

Povećanje udela lanenog ulja do 9% u nadevu i način njegove pripreme pre dodavanja nisu uticali na velikupromenu toka proteolitičkih promjenat tokom procesa proizvodnje suvih fermentisanih kobasica upakovanih u vakuum pakovanja i 90 dana njihovog hladnog skladištenja.

## Napomena

Istraživanja su deo projekta III-46009, koji finansira MPNTR Republike Srbije.

## Literatura

- Ammor, M.S., Mayo, B. (2007). Selection criteria for lactic acid bacteria to be used as functional starter cultures in dry sausage production: An update. *Meat Science*, 76 (1), 138–146.
- Candogan, K., Kartika, S., Wardlaw, F., Acton, J. (2008). Type of bacterial starter culture, aging and fermentation effects on some characteristics of inoculated beef sausages. *European Food Research and Technology*, 227 (6), 1651–1661.
- Casaburi, A., Aristoy, M. C., Cavella, S., Di Monaco, R., Ercolini, D., Toldrá, F., Villani, F. (2007). Biochemical and sensory characteristics of traditional fermented sausages of Vallo di Diano (Southern Italy) as affected by the use of starter cultures. *Meat Science*, 76 (2), 295–307.
- Casaburi, A., Di Monaco, R., Cavella, S., Toldra, F., Ercolini, D., & Villani, F. (2008). Proteolytic and lipolytic starter cultures and their effect on traditional fermented sausages ripening and sensory traits. *Food Microbiology*, 25 (2), 335–347.
- Dalmis, U., Soyer, A. (2008). Effect of processing methods and starter culture (*Staphylococcus xylosus* and *Pediococcus pentosaceus*) on proteolytic changes in Turkish sausages (sucuk) during ripening and storage. *Meat Science*, 80 (2), 345–354.
- Diaz, O., Fernandez, M., DeFernando, G.D.G., delaHoz, L., Ordonez, J. A. (1997). Proteolysis in dry fermented sausages: The effect of selected exogenous proteases. *Meat Science*, 46 (1), 115–128.
- Hughes, M.C., Kerry, J.P., Arendt, E.K., Kenneally, P.M., McSweeney, P.L.H., O'Neill, E.E. (2002). Characterization of proteolysis during the ripening of semi-dry fermented sausages. *Meat Science*, 62 (2), 205–216.
- Marino, R., Albenzio, M., della Malva, A., Caroprese, M., Santillo, A., Sevi, A. (2014). Changes in meat quality traits and sarcoplasmic proteins during aging in three different cattle breeds. *Meat Science*, 98 (2), 178–186.
- Stajić S., Lilić S., Danijela V., Tomović V., Živković D. (2018). Sastav lipida fermentisanih kobasica sa dodatkom lanenog ulja. Objavljeno u Zbornik radova

- XXIII Savetovanja o biotehnologiji, 499–504. Čačak, Srbija: Agronomski fakultet Univerziteta u Kragujevcu, Čačak.
- Stajić, S., Perunović, M., Stanišić, N., Žujović, M., Živković, D. (2013). Sucuk (turkish-style dry-fermented sausage) quality as an influence of recipe formulation and inoculation of starter cultures. *Journal of Food Processing and Preservation* 37, 870–880.
- Stajić S., Živković D., Tomović V., Nedović V., Perunović M., Kovjanić N., Lević S., Stanišić N. (2014). The utilisation of grapeseed oil in improving the quality of dry fermented sausages. *International Journal of Food Science and Technology*, 49 (11), 2356–2363.
- Živković, D., Tomović, V., Perunović, M., Stajić, S., Stanišić, N., & Bogičević, N. (2011). Sensory acceptability of “sremska” sausage made from meat of pigs of different ages. *Tehnologija mesa*, 52 (2), 252–261.

## PROTEOLYTIC CHANGES DURING PROCESSING AND STORAGE OF DRY FERMENTED SAUSAGES WITH FLAXSEED OIL

*Slaviša Stajić<sup>1</sup>, Dušan Živković<sup>2</sup>*

### Abstract

The aim of this paper was to determine if the replacement of various proportions of fatty tissue in the mixture for dry fermented sausages with flaxseed oil in the form of alginate gel and emulsion with soy protein isolate can influence the pattern of proteolytic changes during production and 90 days of cold storage in vacuum-packed sausages. The pattern of changes in the content of non-protein nitrogen during production of modified sausages was similar to the control treatment and at the end of production, relative to the beginning, it increased by 24.38% in control and by 16.36–28.31% in sausages with flaxseed oil. The changes in sarcoplasmic and myofibrillar proteins during production and 90 days of storage in sausages with flaxseed oil were very similar to the changes in the control sausage and in accordance with literature data for fermented sausages.

**Key words:** fermented sausages, flaxseed oil, non-protein nitrogen, SDS-PAGE.

---

<sup>1</sup>University of Belgrade, Faculty of Agriculture, Nemanjina 6, Belgrade (stajic@agrif.bg.ac.rs)



## **APARATURA ZA ODREĐIVANJE TEHNIČKIH KARAKTERISTIKA PUMPI I KOMPRESORA**

*Tomislav Trišović<sup>1</sup>, Lidija Rafailović<sup>2</sup>, Branimir Grgur<sup>3</sup>, Svetomir Milojević<sup>4</sup>,  
Branimir Jugović<sup>5</sup>, Trišović Zaga<sup>6</sup>*

**Izvod:** Tehnički razvoj civilizacije uslovljava sve veći broj uređaja i aparata koji nas okružuju a koje najčešće nismo u stanju da suštinski upoznamo principe njihovog rada. Zbog toga se takvi uređaji najčešće nepotpuno ili čak pogrešno koriste odnosno ne koriste se sve u optimalnim parametrima i u svim funkcijama za koje su projektovani. Nepoznavanje suštine rada pumpi i kompresora ima za posledicu da mnogi inženjeri ne znaju da pravilno odaberu tip pumpe i kompresora za pojedine uslove eksploatacije tj. transporta fluida. Posledica lošeg izbora ovih uređaja je povećana potrošnja energije za njihov rad, opterećenje mreže kuda fluid protiče, veliki ili nizak pritisak na željenim tačkama duž instalacije, smanjeno iskorišćenje i dr. Loš izbor takođe povlači nefunkcionalan rad i drugih uređaja koji zavise od rada pumpi i kompresora što za posledicu ima nekvalitetan proizvod ili uslugu koju zbirno ta oprema daje. Iz gore navedenih razloga napravljena je aparatura koja na jednostavan način demonstrira princip rada pumpi i kompresora. Aparatura na jednostavan način vizuelno prezentuje princip rada pumpi i kompresora, i na jednostavan način demonstrira kako se električna energija pretvara u energiju kretanja radnog kola pumpe a potom pretvara u potencijalnu, statičku i dinamičku energiju fluida nad kojim se vrši rad.

U ovom radu je pokazano da su izmerene H-Q krive u dobroj saglasnosti sa teorijskom Bernulijevom jednačinom. Na aparaturi se najbolje pokazuje funkcionalnost i primena Bernulijeve jednačine kao i njena detaljna analiza. Aparatura je namenjena svima koji imaju potrebu da se pravilno upoznaju sa tehničkim karakteristikama pumpi i kompresora i kako se te karakteristike mogu izmeriti.

**Ključne reči:** Mehanika fluida, pumpe, kompresori, visina dizanja

### **Uvod**

Vizuelni doživljaj i neposredna merenja su osnov učenja. Eksperimentalna demonstracija prirodnih zakonitosti sa neposrednim merenjem svih relevantnih parametara čini da se stekne trajno funkcionalno znanje. Svaka kuća, stan,

---

<sup>1</sup> Agronomski fakultet, Cara Dušana 34, 32 000 Čačak

<sup>2</sup> CEST, Viktor-Kaplan-Str. 2, A-2700 Wiener Neustadt, Viena

<sup>3</sup> Tehnološko-metalurški fakultet, Karnegijeva 4, 11 000 Beograd

<sup>4</sup> Fakultet tehničkih nauka, K. Miloša 7, 38220 Kosovska Mitrovica

<sup>5</sup> Mašinski fakultet, Kraljice Marije 16, 11 000 Beograd

<sup>6</sup> Institut tehničkih nauka SANU, K. Mihailova 35/4, 11000 Beograd

automobil imaju po nekoliko različitih pumpi počevši od već mašine, mašine za sudove, usisivača, fena, do pumpi za vodu, gorivo i ulje u automobilima. Suština rada ovih uređaja se ogleda u tome da je na usisu pumpe ili kompresora pritisak fluida (tečnost ili gas) niži nego na potisu pumpe ili kompresora. Razlika ta dva pritiska je znatna i može da iznosi od par milibara do par hiljada bara. Da bi se postigla ova razlika konstrukcija pumpe i kompresora je različita odnosno postoje više konstruktivnih rešenja u zavisnosti šta se želi postići prvenstveno što se tiče razlike pritiska i protoka fluida kroz potisnu stranu cevovoda. U tom smislu neophodno je rasvetliti na što jednostavniji način suštinu procesa rada ovih mašina.

Uređaji i aparature koji se koriste u obrazovnim ustanovama (srednje škole i fakulteti) a koji demonstriraju rad pumpi i kompresora ili ih nema ili su veoma složene konstrukcije tako da ne daju jasnu sliku principa rada pumpi i kompresora. Postoje nekoliko aparatura za određivanje karakteristika pumpi i kompresora. Najčešće korišćena aparatura je u kojoj je pumpa spregnuta sa ekspanzionom posudom u kojoj se meri pritisak. Na osnovu postignutog pritiska određuje se visina dizanja pumpe ili kompresora. Postoji i vežba pomoću instalacije koja se sastoji od rezervoara u koji je potopljena pumpa, creva kroz koja teče voda, Veturijeve cevi za merenje protoka sa priključenom sondom za merenje razlike pritiska i pijezometarskih cevi postavljenih na odgovarajućim mestima. Ovo je jedna vrlo netačna metoda za određivanje H-Q karakteristike pumpe. Savremenija oprema za laboratorijski uređaj na kome se određuje H-Q karakteristika pumpi, sastoji se od sistema za kruženje vode sa pumpom, u koji su ugrađeni davači protoka i pritiska i slavine, sa kojima se može uticati na protok vode. Pumpu pokreće trofazni asinhroni motor, koji se napaja preko frekventnog pretvarača. Postoji mogućnost kontrole protoka prigušenjem i promenom brzine radnog kola pumpe. Frekventnim pretvaračem se može upravljati ručno, preko lokalnog upravljačkog panela (Hand on) ili daljinski (Auto on). Daljinski se može upravljati sa komandne table preko analognih i digitalnih ulaza / izlaza ili serijski, korišćenjem različitih komunikacionih protokola. Cela se vežba izvodi upravljanjem sa lokalnog panela, a da se parametri frekventnog pretvarača podešavaju pomoću računara i softvera MCT 10, korišćenjem USB veze sa pretvaračem.

Analizom prvog principa termodinamike za otvoren sistem primenjen na pumpe i kompresore (zanemaren je član razmene toplote i član koji definiše promenu unutrašnje energije i promenu zapremine) pa je rad pumpi proporcionalan masenom protoku, specifičnoj zapremini i razlici pritiska na ulazu i izlazu iz pumpe odnosno kompresora. Znači da je pritisak fluida na ulazu u pumpu ili kompresor uvek niži od pritiska na izlazu iz pumpe ili kompresora. Pumpe i kompresori su mašine koje transformišu mehaničku energiju u energiju pritiska fluida preko radnog kola.

Radnom mediju - fluidu se pri prolasku kroz pumpu povećava energija. Kod pumpi energetski proces se odvija na način da se mehanička energija predaje

radnom mediju preko rotora pumpe pri čemu se primarno povećava energija pritiska, kinetička energija i potencijalna energija.

Ako se pumpa napaja sa električnom energijom, elektomotor električnu energiju koju povlači iz mreže pretvara u mehaničku energiju rotacije rotora elektromotora a ovaj rotira radno kolo pumpe koje preko lopatica energiju prenosi na fluid sa kojim je u kontaktu.

Mehanički rad rotacije se kod pumpi predaje fluidu preko radnog kola koji je u potpunosti potopljeno u radnom mediju -fluidu tokom rada. Ta energija može da se pretvori u toplotu, na smanjenje međumolekulske rastojanja u fluidu zbog porasta pritiska ili na druge vidove unutrašnje energije. Kako bi ta izmena energije bila moguća moraju postojati sile koje deluju između rotora pumpe i fluida. Te sile su isključivo inercione sile i one djeluju prvenstveno u smeru ili suprotnom smeru rotacije.

### Materijal i metode rada

Princip rada pumpi i kompresora je definisan Bernulijevom jednačinom koja definiše transport realnog fluida (tečnost ili gas) kroz neki cevovod. Jednačina pokazuje da zbir statičkog, brzinskog, visinskog pritiska i visine dizanja pumpe na jednom preseku 1-1 jednaka je zbiru statičkog, brzinskog, visinskog pritiska na posmatranom preseku 2-2 i visine gubitaka kroz cevovod između posmatranih preseka 1-1 i 2-2. Iz praktičnih razloga članovi sa pomenutim pritiscima su podeljeni sa  $\rho g$  kako bi članovi u jednačini imali dimenziju u metrima tj iskazani su kao visina stuba radnog fluida tj fluida sa kojim se vrši merenje. Matematička formulacija Bernulijeve jednačine tada glasi <sup>1</sup>:

$$\frac{p_1 + p_b}{\rho g} + \frac{v_1^2}{2g} + z_1 + H = \frac{p_2 + p_b}{\rho g} + \frac{v_2^2}{2g} + z_2 + \xi_{1-2}$$

Prvi član i sa leve i sa desne strane je statički pritisak, drugi član definiše dinamički pritisak dok treći član definiše visinski pritisak. Član H definiše visinu dizanja pumpe ili kompresora a  $\xi_{1-2}$  definiše visinu gubitaka kroz cevovod.

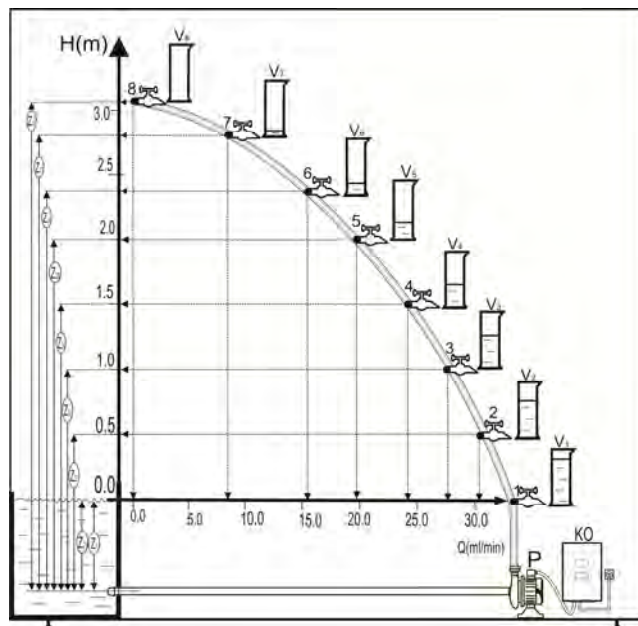
Visinu dizanja H obezbeđuje pumpa ili kompresor koji vrše mehanički rad nad fluidom povećavajući pritisak u njemu, povećavajući brzinu njegovog kretanja i/ili povećavajući geodetsku visinu fluida u odnosu na početno stanje. Analiza ove složene jednačine svakog laika, učenika ili studenta će da obeshrabri da dalje uđe u suštinu analize ove jednačine. Da bi se to uradilo najbolje je posmatrati praktične primere koji se javljaju u praksi <sup>2,3</sup>.

## Rezultati istraživanja i diskusija

Određivanje visine dizanja fluida u odnosu na protok je osnovna tehnička karakteristika pumpi i kompresora. Matematička formulacija sadržaja energije fluida je opisana Bernulijevom jednačinom koja se sastoji iz tri člana <sup>4,5</sup>. Prvi član opisuje statički, tj mirni pritisak, drugi član opisuje visinski pritisak tj geografski položaj između posmatranih tačaka i treći član opisuje dinamički tj pritisak uslovljen kretanjem fluida U pomenutoj jednačini se svi članovi izražavaju u jedinicama pritiska tj Paskalima (barima) ali najčešće se svi članovi izražavaju kao visine tj deljenjem svakog člana sa  $\rho g$  i u jednačini su izraženi u visini tj u jedinici dužine.

Aparatura za merenje H-Q karakteristike pumpe se sastoji od postolja sa pravougaonom mrežom kao nosačem čija je donja horizontalna stranica X osa na kojoj se mere protoci a leva vertikalna stranica Y osa na kojoj se mere visine dizanja. Rezervoar sa vodom instaliran je tako da se linija X ose poklapa sa visinom vode u rezervoaru sa vodom. Na donjem delu rezervoara sa vodom instalirana je usisna cev pumpe koja potiskuje vodu u potisnu cev na kojoj se nalaze trokrake slavine u tačkama 1,2,3,4,5,6,7, i 8 (Slika 1). Pumpi se dovodi rad preko elektomotora koji je povezan na električnu mrežu preko komandnog ormara. Na komandnom ormaru je instaliran uređaj za merenje jačine struje i napona kako bi se izračinao koeficijent korisnog dejstva pumpe u pojedinim tačkama. Preseci na kojima se posmatra stanje fluida i mere parametri su 1-1 nivo vode u rezervoaru sa vodom, dok je drugi nivo posmatranja 2-2 promenljiv u pojedinim tačkama isticanja vode tj tačke sa trokrakim slavinama (1), (2), (3), (4), (5), (6), (7), (8). Referentni nivo 0-0 je nivo ose usisne cevi. Visina  $z_1$  je visina od ose usisne cevi do nivoa vode u rezervoaru sa vodom tj nivo 1-1. Visina  $z_{21}$  je identična sa visinom  $z_1$  što je ustvari tačka isticanja na trokrakoj slavini (1). Ostale visine od  $z_{12}$  do  $z_{18}$  su veće od  $z_1$  i definišu visine isticanja na tačkama od 2 do 8 u odnosu na referentni nivo 0-0. Referentni nivo 0-0 i nivo vode u rezervoaru sa vodom se tokom merenja ne menjaju ili je njihova promena zanemariva. Tokom merenja neophodno je meriti zapreminu vode menzурom koja ističe na potisnoj cevi tj u tačkama od 1 do 8, kao i vreme isticanja vode pri punjenju menzure. Pored ovih parametara neophodno je izmeriti jačinu struje i napon na komandnom ormaru. Postupak merenja se sastoji u sledećem. Određivanje parametara radne tačke 1 na H-Q dijagramu. Trokraka slavinna (1) se zakrene tako da voda mora da ističe na njoj. Rezervoar sa vodom se napuni sa istom do nivoa 1-1. Uključi se pumpa koja preko usisne cevi transportuje vodu u potisnu cev. U trenutku kad počne isticanje na trokrakoj slavini 1 uključi se merenje vremena isticanja. Voda koja ističe se prihvata u menzuru kako bi se odredila ukupna količina u toku vremena isticanja. U toku stacionarnog isticanja treba zapisati vrednosti struje i napona koje bi trebalo da budu stabilne tokom samog merenja. Kada se menzura napuni neophodno je isključiti pumpu i zabeležiti tačno vreme za koje se menzura napunila. Ostala merenja do tačke 8 se izvode ekvivalentno kao i za tačku 1. Aparatura je prikazana na Slici 1 a rezultati merenja su prikazani u Tabeli 1.





Slika 1. Primer pretvaranja mehaničkog rada pumpe u statički, dinamički i visinski pritisak fluida

$$H = \frac{p_2 + p_b}{\rho g} + \frac{v_2^2}{2g} + z_2 - \left( \frac{p_1 + p_b}{\rho g} + \frac{v_1^2}{2g} + z_1 \right) + \xi_{1-2}$$

Izračunavanje brzine strujanja fluida merenjem zapremine u toku vremena, protoka, poprečnog preseka. Rezultati merenja se nalaze u tablici 7. Primer sa slike 1 je veoma čest u inženjerskoj praksi kao što je eksploatacija vode iz bunara i izbor pumpe za takvu eksploataciju uzimajući u obzir izdašnost bunara, statički i dinamički nivo u bunaru i visinu dizanja od dinamičkog nivoa u bunaru do mesta isticanja kod krajnjeg korisnika.

Tabela 1. Rezultati merenja protoka za različite visine dizanja

$P_1/\text{bar}$	1	1	1	1	1	1
$P_2/\text{bar}$	1	1	1	1	1	1
$Z_1/\text{m}$	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
$Z_2/\text{m}$	1	1,5	2,0	2,5	3,0	3,5
$\Delta Z = (Z_2 - Z_1)/\text{m}$	0,5	1,0	1,5	2,0	2,5	3,0
$v_1/\text{m/s}$	0	0	0	0	0	0
$v_2/\text{m/s}$	0,02	0,13	0,22	0,36	0,48	0,66
$vS$	8	16	21	29	38	58
$V/\text{ml}$	500	500	500	500	500	500
$Q = V/\tau; \text{ml/s}$	62,5	31,2	23,8	17,2	13,2	8,6
$H/\text{m}$	0,5	1,0	1,5	2,0	2,5	3,0

Ono što je uočljivo je to da je iskorišćenje energije jako malo tj da se energija uzeta iz mreže samo 40% konvertuje u energiju dizanja vode sa jedne na drugu kotu gde se ostvaruje rad protiv sila zemljine težje. Ovo je u saglasnosti sa literaturnim podacima tj što je veća visina dizanja manje je iskorišćenje tj manje se rada pretvara u energiju fluida. Da bi se pravilno odabrala pumpa neophodno je znati ova dva parametra tj visinu dizanja i protok za tu visinu dizanja.

### Zaključak

Na osnovu prikazanih rezultata može se zaključiti da aparatura za određivanje tehničkih karakteristika pumpi moguće je izmeriti sve neophodne parametre da bi se izračunao protok tj radna tačka na određenoj visini dizanja. Na osnovu izmerenih vrednosti moguće je odrediti visinu dizanja  $H$  iz Bernulijeve jednačine za svako pojedinačno merenje. Aparatura za određivanje tehničkih karakteristika pumpi predstavlja jednostavnu i pouzdanu aparaturu na kojoj je moguće odrediti tehničke karakteristike pumpe prvenstveno preko  $H-Q$ ,  $H-P$  i  $H-\eta$  dijagrama.

### Literatura

- Đorđević B. Valent V. Šerbanović S. Termodinamika sa termotehnikom, Tehnološko-metaluruški fakultet Beograd, 1997.
- Stephenson, D., 1981, Pipeline design for water engineers, Elsevier.
- Thorley, A. R. D., 1991, Fluid transients in pipeline systems, D. & L. George Ltd. England.
- Protić, Z., Nedeljković, M., 1991, Pumpe i ventilatori, Mašinski fakultet, Beograd.
- Ivetic M, Računska hidraulika tečenje u cevima, Gradjevinski fakultet Univerziteta u Beogradu, Beograd, 1996.

## APPARATUS FOR DETERMINING THE TECHNICAL CHARACTERISTICS OF PUMPS AND COMPRESSORS

*Tomislav Trišović<sup>1</sup>, Lidija Rafailović<sup>2</sup>, Branimir Grgur<sup>3</sup>, Svetomir Milojević<sup>4</sup>,  
Branimir Jugović<sup>5</sup>, Trišović Zaga<sup>6</sup>*

### Abstract

The technical development of civilization is conditioned by the increasing number of devices and apparatus that surround us, which we are most often unable to substantially understand the principles of their operation. As a result, such devices are most often incompletely or even incorrectly used, or not all are used in optimal parameters and in all the functions for which they are designed. Unfamiliarity with the essence of the operation of pumps and compressors results in many engineers not knowing how to correctly select the type of pump and compressor for particular operating conditions, ie fluid transport. The consequence of poor selection of these devices is the increased energy consumption for their operation, the load on the network where the fluid flows, the high or low pressure at the desired points along the installation, reduced utilization, etc. Poor selection also entails dysfunctional operation of other devices that depend on the operation of pumps and compressors, resulting in a poor quality product or service provided by that equipment. For the above reasons, an apparatus has been made that demonstrates the principle of operation of pumps and compressors in a simple manner. The apparatus visually presents the principle of operation of the pumps and compressors and demonstrates in a simple manner how electricity is converted into the energy of the pump impeller and then converted into the potential, static and dynamic energy of the fluid over which it is operated.

This paper shows that the measured H-Q curves are in good agreement with the theoretical Bernoulli equation. The functionality and application of Bernoulli's equation and its detailed analysis are best demonstrated on the apparatus. The apparatus is intended for all those who need to know properly the technical characteristics of pumps and compressors and how these characteristics can be measured.

**Key words:** Fluid mechanics, pumps, compressors, lift height

---

<sup>1</sup> Agronomski fakultet, Cara Dušana 34, 32 000 Čačak

<sup>2</sup> CEST, Viktor-Kaplan-Str. 2, A-2700 Wiener Neustadt, Viena

<sup>3</sup> Tehnološko-metalurški fakultet, Karnegijeva 4, 11 000 Beograd

<sup>4</sup> Fakultet tehničkih nauka, K. Miloša 7, 38220 Kosovska Mitrovica

<sup>5</sup> Mašinski fakultet, Kraljice Marije 16, 11 000 Beograd

<sup>6</sup> Institut tehničkih nauka SANU, K. Mihailova 35/4, 11000 Beograd



## UPOTREBA BILJNIH EKSTRAKTA U KONZERVISANJU PROIZVODA OD MESA

*Vladimir Kurćubić<sup>1</sup>, Slavica Vesković<sup>2</sup>*

**Izvod:** Cilj ovog rada je prikaz upotrebe biljnih ekstrakata kao antimikrobnih i antioksidativnih sredstava u preradi proizvoda od mesa. Aktivnost mikroorganizama i oksidacija lipida su osnovni uzroci smanjenog roka trajanja i kvara proizvoda od mesa. Razvoj mikroorganizama u proizvodima od mesa dovodi i do razvoja oboljenja prenosivih hranom. Oksidacija lipida u proizvodima od mesa dovodi do stvaranja neprijatnog ukusa i nepoželjnih hemijskih jedinjenja. Biljke, začini, voće i povrće, tj. njihovi ekstrakti i ulja su provereno dobar izvor raznih fenolnih jedinjenja (flavonoidi, terpenoidi, karotenoidi). Inkorporirani u proizvode od mesa, mogu produžiti njihov rok trajanja i očuvati im bezbednost.

**Ključne reči:** proizvodi od mesa, biljni ekstrakti, prirodni antioksidansi i konzervansi, kvar mesa

### Uvod

Meso i široka lepeza proizvoda od mesa su odlični izvori visokokvalitetnih proteina, masti i minerala, kao esencijalnih hranljivih sastojaka (Aminzare i sar., 2016). Razmnožavanje mikroorganizama i brzu oksidaciju lipida uglavnom prati stvaranje i nagomilavanje toksičnih jedinjenja, narušavanje teksture, gubitak boje i hranljivih materija, nagomilavanje štetnih jedinjenja i smanjenje roka trajanja, što dovodi do opadanja nutritivnog kvaliteta proizvoda od mesa (Shah i sar., 2014). Oksidacija lipida je osnovni uzrok kvara mesa i proizvoda od mesa, usled visokog sadržaja masti i niske vrednosti aktivnosti vode ( $a_w$ ), što dovodi do gubitka hranljive vrednosti i sposobnosti vezivanja vode, neprijatnog ukusa i teksture (Ding i sar., 2015; García-Lomillo i sar., 2017).

Ovaj pregledni rad je fokusiran samo na najnovija naučna saznanja o prirodnim konzervansima za hranu, koji se klasifikuju u dve grupe: antimikrobna i antioksidativna sredstva.

Prirodni konzervansi hrane mogu biti biljnog, životinjskog i mikrobnog porekla (Inetianbor i sar., 2016). Biljke su odličan izvor prirodnih važnih bioaktivnih antimikrobnih sredstava koja se mogu primeniti za konzervisanje hrane, jer ih potrošači zahtevaju, svesni rizika od upotrebe sintetičkih konzervanasa (Sharif i sar., 2017). Jedinjenja koja potiču iz prirodnih izvora imaju veliki potencijal u borbi protiv mikroorganizama izazivača kvara hrane i patogeni prenosivih hranom (Gyawali i Ibrahim, 2014). Biljke sintetišu veoma raznolike

---

<sup>1</sup>Univerzitet u Kragujevcu, Agronomski fakultet u Čačku, Cara Dušana 34, Čačak, Srbija (vkcubic@kg.ac.rs);

<sup>2</sup>Institut za higijenu i tehnologiju mesa, Kačanskog 13, 11000 Beograd, Srbija;

sekundarne metabolite, koji ih svojim antimikrobnim aktivnostima štite od predatora i patogenih mikroorganizama. Jedna od najzastupljenijih grupa jedinjenja u sekundarnim metabolitima su fenoli i polifenoli. Nekoliko podgrupa jedinjenja (flavonoidi, hinoni, kumarini, fenolne kiseline, tanini, fenoli, flavoni i flavonoli) izuzetno snažno inhibišu aktivnosti mikroorganizama. Danas je registrovano više od 1340 biljaka iz kojih je ekstrahovano preko 30000 antimikrobnih jedinjenja (Hayek i sar., 2013). Upotreba prirodnih antimikrobnih sredstava je široko prihvaćena od strane potrošača, jer ima GRAS status (GRAS - *Generally Recognised As Safe* - opšte prepoznato kao bezbedno).

Antioksidansi se često dodaju prilikom proizvodnje proizvoda od mesa, i mogu biti sintetički i prirodni. Prirodni se najčešće dobijaju iz voća, povrća, različitih drugih biljaka i začina (Falowo i sar., 2014). Postoji niz studija o upotrebi prirodnih antioksidanasa u proizvodima od mesa, koji su ekstrahovani iz različitih delova biljaka, kao što su list, koren, stablo, plodovi i semenke (Rather i sar., 2016). Nekoliko studija je potvrdilo dobru efikasnost biljnih ekstrakata bogatih fenolnim jedinjenjima kao prirodnih antioksidanasa u mesu i proizvodima od mesa. Kumar i sar. (2015) izveštavaju da je u većini ovih studija pokazano da su prirodni antioksidansi efikasniji u sprečavanju oksidacije lipida, u poređenju sa pozitivnom kontrolom (sintetski antioksidansi: butil hidroksi anizol - BHA i butil hidroksi toluen - BHT).

### **Antimikrobni i antioksidativni efekti biljnih ekstrakta na meso i proizvode od mesa**

Hać-Szymańczuk i sar. (2019) su ispitivali uticaj preparata *Origanum vulgare* L. (origano) na stabilnost mesa živine mehanički separisanog niskim pritiskom (BAADER meso), skladištenog na -18 °C tokom 9 meseci. Origano je dodavan u meso kao sušeni začim, vodeni i etanolni ekstrakti (40 i 70% (v/v)) i eterično ulje. Uzorci su ispitivani odmah po dolasku u laboratoriju i nakon 1, 2, 3, 4, 6 i 9 meseci skladištenja. Eterično ulje origana je bilo najefikasnije u usporavanju oksidacije lipida i inhibiciji rasta bakterija u BAADER mesu. Broj koliformnih bakterija u uzorcima BAADER mesa sa dodatkom 0,1% esencijalnog ulja je značajno niži od onog u kontrolnim uzorcima.

Parafati i sar. (2019) su ekstrakt ploda jestivog kaktusa (prickly pear extract - PPE) direktno ili kao inkapsuliran u alginatne kuglice davali u mleveno goveđe meso za burgere. Tokom skladištenja mlevenog mesa (do 8 dana na 4 °C) ispitivan je njegov mikrobiološki kvalitet, pH, tekstura i varijacije boje. Na kraju skladištenja, uzorci mlevenog mesa fortifikovani na oba načina sa PPE pokazali su značajno ( $p < 0,05$ ) niži broj mezofilnih bakterija, *Enterobacteriaceae* i *Pseudomonas* spp. u poređenju sa kontrolnim uzorcima, kojima je dodata sterilna destilovana voda (SDV) ili inkapsulirana SDV. Uzorci sa dodatim inkapsuliranim PPE su pokazali najmanje varijacije boje ( $a^*$  vrednosti - udeo crvene boje) tokom razmatranog perioda skladištenja, a zatim uzorci kojima je direktno dodat PPE, što ukazuje na zaštitni efekat ekstrakata prema oksidaciji mioglobina. Parametri teksture (tvrdoća, kohezivnost i prolećnost) su dostigli najviše nivoe nakon 8 dana

skladištenja, ukazujući da se dodatak PPE može koristiti kao prirodni konzervans za održavanje parametara kvaliteta mlevenog govedeg mesa za pripremu burgera.

Ergezer i sar. (2018) su ispitivali antioksidativni i antimikrobni potencijal ekstrakta artičoke (AE) u pljeskavicama od sirove govedine (RBP), tokom njenog skladištenja. Ovo je prva studija koja pokazuje antioksidativno i antimikrobno delovanje AE u sistemu modela hrane. AE u RBP je inhibirala vijabilnost ukupnih aerobnih psihrofilnih bakterija, koliformnih bakterija i kvasaca/plesni, u zavisnosti od koncentracije. AE je sprečavao rast *E. coli* ATCC25922 i *L. monocitogenes* ATCC19118, inokuliranih u RBP. Zaključak je da primena AE u koncentraciji od 1000 ppm ispoljava zadovoljavajuće antioksidativno i antimikrobno delovanje u pljeskavicama od sirove govedine.

Ouerfelli i sar. (2019) su određivali antioksidativni efekat listova u prahu biljke *Azadirachta indica* (*A. indica*), koji su dodavani direktno sirovim hlađenim govedim pljeskavicama, skladištenim na  $4 \pm 1$  °C, tokom 11 dana. Nakon tog perioda, ispitivan je stepen oksidacije lipida, promene pH i boje, rast mikroorganizama, formiranje metmioglobina, sadržaj heksanala i antioksidativni kapacitet. Dokazano je da *A. indica* sadrži prirodne antioksidanse koji mogu zameniti sintetičke. Dobra strategija je upotreba *A. indica* za unapređenje hranljive vrednosti proizvoda od govedeg mesa, uz osiguranje bezbednosti potrošača.

Manhani i sar. (2018) su upoređivali antioksidacioni potencijal prirodnih ekstrakata ruzmarina i origana u prethodno kuvanom govedem burgeru. Procenjivali su obim oksidacije lipida (reaktivnim materijama tiobarbiturne kiseline - TBRS) i senzornom analizom (panel od 40 neobučenih ocenjivača). Proizvedeno je pet eksperimentalnih grupa burgera, sa mesom koje sadrži: natrijum eritorbat (F1); dezodorirani ekstrakt ruzmarina (F2); ekstrakt origana (F3); kombinacija ekstrakata ruzmarina i origana (F4) i kontrolna formulacija bez dodatka antioksidanasa (CF). Stepens oksidacije lipida je procenjen na nultog, 15. i 30. dana. Formulacije F1, F2 i F4 su pokazale niže koncentracije TBRS, dok je uzorak CF već nultog dana pokazao veoma visoke vrednosti, što ukazuje na oksidaciju proizvoda. Senzorna analiza je pokazala dobru prihvatljivost uzoraka.

Abdulla i sar. (2016) ukazuju da ekstrakti lišća *Ziziphusa* inhibiraju rast *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* i *Streptococcus faecalis*, i smanjuju ukupan broj mikroorganizama u kobasicama. Zhang i sar. (2016) izvestili su da su ekstrakti začina (ruzmarin, karanfilić i njihova kombinacija) bili veoma efikasni protiv rasta mikroorganizama u sirovom pilećem mesu.

Casquete i sar. (2016) su procenjivali efikasnost etanolnog ekstrakta propolisa (EEP) u kontroli *Listeria innocua* PHLS 2030c (kao surogata za *Listeria monocitogenes*) tokom skladištenja fermentisane kobasice „Alheira“ na 4 °C. Utvrđen je ukupni sadržaj fenola da bi se odredila minimalna inhibitorna koncentracija EEP protiv rasta *L. innocua* agar dilucionom metodom. „Alheira“ kobasice su proizvedene inkorporacijom EEP-a (0,28 mg/mL) i patogenih bakterija i skladištenjem tokom 62 dana na 4 °C. Tokom skladištenja je određen rast *L. innocua*. Dodatak EEP-a je značajno uticao ( $p < 0,01$ ) na rast *L. innocua* u nadevu

kobasice. EEP je smanjio je populaciju Listerije na vrednost ispod granica detekcije, nakon 8 dana skladištenja. Rezultati sugerišu da bi uključivanje EEP-a u hranu osetljivu na kontaminaciju Listerijom moglo biti zanimljiva alternativa postojećim hemijskim konzervansima. Takođe, produžava održivost fermentisanih kobasica.

Kurćubić i sar. (2014) su proizveli fermentisane suve kobasice (FDS) bez dodatka nitrita, obogaćene bioaktivnim fenolnim i flavonoidnim jedinjenjima iz etanolnog ekstrakta biljke *Kitabelia vitifolia*. Oksidaciona stabilnost FDS-a, koja sadrži dva različita nivoa prirodnog konzervansa, procenjena je korišćenjem pet različitih savremenih metoda za određivanje antioksidativnog delovanja (20. dana skladištenja). Minimalne inhibitorne koncentracije (MIC) ekstrakata kobasice su određene protiv šest mikroorganizama, mikro dilucionom metodom. Utvrđena optimalno efikasna koncentracija ekstrakta *K. vitifolia* (12,5 g/kg mesnog testa) pokazala je snažno antioksidativno delovanje i umerenu antimikrobnu aktivnost protiv *Escherichia coli* (MIC = 15.625 µg/mL). Modifikovane kobasice su imale tipične hemijsko-fizičke karakteristike za FDS-a, kontrolisane 0, 13 i 26 dana zrenja i 20, 40 i 60 dana skladištenja. Prepoznajući činjenicu da nitriti imaju širok spektar dejstva (posebno antibakterijsko delovanje protiv *Clostridium botulinum*), potrebno je unaprediti istraživanje upotrebe biljnih ekstrakata kao zamene nitrita u budućnosti i promovisati nove pristupe, poput upotrebe male doze sinergističkih antimikrobnih kombinacija biljnih ekstrakata.

## Zaključak

Proučavanje ekstrakata biljnog porekla koji su dodati kao konzervansi ili antioksidansi u meso ili proizvode od mesa ima za cilj proširenje mogućnosti za primenu drugih održivih alternativa, koje osiguravaju integritet industrijalizovanih proizvoda. Treba uzeti u obzir da je upotreba ovih prirodnih aditiva često ograničena njihovim ekstremnim ukusom ili neprikladnom bojom, što može imati negativne posledice na senzorni kvalitet mesa i proizvoda od mesa. Za poboljšanje mikrobiološke stabilnosti i senzornog kvaliteta mesa i proizvoda od mesa dostupne su i savremene tehnologije, kao enkapsulacija ekstrakata u nanoemulzije i njihova primena kao deo tehnologije prepreka (zajedno sa pakovanjem u modifikovanoj atmosferi [MAP], dodavanjem EDTA, nizina, lizozima itd.). Biokonzervisanje proizvoda od mesa se može se kombinovati i sa konzervisanjem visokim pritiskom, pulsirajućim električnim poljima i ultrazvukom.

## Napomena

Istraživanja u ovom radu deo su projekta III 46009 koji finansira Ministarstvo prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije.



## Literatura

- Abdulla G., Abdel-Samie A., Zaki D. (2016). Evaluation of the antioxidant and antimicrobial effects of ziziphus leaves extract in sausage during cold storage. *Pakistan Journal of Food Sciences*, 26 (1), 10-20.
- Aminzare M., Aliakbarlu J., Tajik H. (2015). The effect of *Cinnamomum zeylanicum* essential oil on chemical characteristics of Lyoner- type sausage during refrigerated storage. *Veterinary Research Forum*, 6, 31-39.
- Casquete R., Castro S.M., Jácome S., Teixeira P. (2016). Antimicrobial activity of ethanolic extract of propolis in “Alheira”, a fermented meat sausage. *Cogent Food & Agriculture*, 2, 1125774. <http://dx.doi.org/10.1080/23311932.2015.1125774>
- Ding Y., Wang S.Y., Yang D.J., Chang M.H., Chen Y.C. (2015). Alleviative effects of litchi (*Litchi chinensis* Sonn.) flower on lipid peroxidation and protein degradation in emulsified pork meatballs. *Journal of Food and Drug Analysis*, 23, 501-508. <https://doi.org/10.1016/j.jfda.2015.02.004>
- Ergezer H., Kaya H.İ., Şimşek Ö. (2018): Antioxidant and antimicrobial potential of artichoke (*Cynara scolymus* L.) extract in beef patties. *Czech Journal of Food Sciences*, 36, 154-162.
- Falowo A.B., Fayemi P.O., Muchenje V. (2014). Natural antioxidants against lipid-protein oxidative deterioration in meat and meat products: A review. *Food Research International*, 64, 171-181.
- García-Lomillo J., Gonzalez-SanJose M.L, Del Pino-García R., Ortega-Heras M., Muñiz-Rodríguez P. (2017). Antioxidant effect of seasonings derived from wine pomace on lipid oxidation in refrigerated and frozen beef patties. *LWT - Food Science and Technology*, 77, 85-91.
- Gyawali R. and Ibrahim S.A. (2014). Natural products as antimicrobial agents. *Food Control*, 46 (1), 412-429.
- Hayek S.A., Gyawali R., Ibrahim S.A. (2013) Antimicrobial Natural Products. In: A. Méndez-Vilas (Ed.), *Microbial pathogens and strategies for combating them: science, technology and education*, 1 (1), 910-921. Formatex Research Center.
- Hać-Szymańczuk E., Cegiełka A., Karkos M., Gniewosz M., Piwowarek K. (2019). Evaluation of antioxidant and antimicrobial activity of oregano (*Origanum vulgare* L.) preparations during storage of lowpressure mechanically separated meat (BAADER meat) from chickens. *Food Science and Biotechnology*, 28 (2), 449-457.
- Inetianbor J., Yakubu J., Ezeonu S. (2016). Effects of food additives and preservatives on man - a review. *Asian Journal of Science and Technology*, 6 (2), 1118-1135.
- Kumar Y., Yadav D.N., Ahmad T., Narsaiah K. (2015). Recent Trends in the Use of Natural Antioxidants for Meat and Meat Products. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 14, 796-812. doi: 10.1111/1541-4337.12156
- Kurčić V.S., Mašković P.Z., Vujić J.M., Vranić D.V., Vesković-Moračanin S.M., Okanović Đ.G., Lilić S.V. (2014). Antioxidant and antimicrobial activity of *Kitabelia vitifolia* extract as alternative to the added nitrite in fermented dry sausage. *Meat Science*, 97, 459-467. <http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2014.03.012>

- Manhani, M.R., Nicoletti, M.A., Da Silva Barretto, A.C., De Jesus, G.R., Munhoz, C., De Abreu, G.R., Zaccarelli-Magalhães, J., Fukushima, A.R. (2018). Antioxidant Action of Rosemary and Oregano Extract in Pre-Cooked Meat Hamburger. *Food and Nutrition Sciences*, 9, 806-817. <https://doi.org/10.4236/fns.2018.97060>
- Ouerfelli M., Villasante J., Bettaieb Ben Kaâb L., Almajano M. (2019). Effect of Neem (*Azadirachta indica* L.) on Lipid Oxidation in Raw Chilled Beef Patties. *Antioxidants*, 8, 305. doi:10.3390/antiox8080305
- Parafati L., Palmeri R., Trippa D., Restuccia C., Fallico B. (2019). Quality Maintenance of Beef Burger Patties by Direct Addition or Encapsulation of a Prickly Pear Fruit Extract. *Frontiers in Microbiology*, 10, 1760. doi: 10.3389/fmicb.2019.01760
- Shah M.A., Bosco S.J.D., Mir S.A. (2014). Plant extracts as natural antioxidants in meat and meat products. *Meat Science*, 98, 21-33.
- Sharif Z.I.M., Mustapha F.A., Jai J., Mohd. Yusof N., Zaki N.A.M. (2017). Review on methods for preservation and natural preservatives for extending the food longevity. *Chemical Engineering Research Bulletin* 19, 145-153.
- Zhang H., Wu J., Guo X. (2016). Effects of antimicrobial and antioxidant activities of spice extracts on raw chicken meat quality. *Food Science and Human Wellness*, 5, 39-48.

## USE OF HERBAL EXTRACTS IN PRESERVATION OF MEAT PRODUCTS

*Vladimir Kurćubić<sup>1</sup>, Slavica Vesković<sup>2</sup>*

### Abstract

The aim of this paper is to demonstrate the use of herbal extracts as antimicrobial and antioxidant agents in the processing of meat products. The activities of micro-organisms and lipid oxidation are the main causes of reduced shelf life and breakdown of meat products. The development of microorganisms in meat products also leads to the development of foodborne diseases. Oxidation of lipids in meat products leads to the formation of unpleasant taste and undesirable chemical compounds. Plants, spices, fruits and vegetables, ie. their extracts and oils are a proven good source of various phenolic compounds (flavonoids, terpenoids, carotenoids). Incorporated into meat products can extend their shelf life and keep them safe.

**Key words:** meat products, herbal extracts, natural antioxidants and preservatives, meat spoilage

---

<sup>1</sup>University of Kragujevac, Faculty of Agronomy Čačak, Cara Dušana 34, Čačak, Serbia (vkcubic@kg.ac.rs)

<sup>2</sup>The Institute of Meat Hygiene and Technology, Kačanskog 13, 11000 Belgrade, Serbia;

## ANTOCIJANI KAO BIOHEMIJSKI MARKERI U VINU PROKUPAC

*Milan Mitić<sup>1</sup>, Sonja Janković<sup>1</sup>, Jelena Mašković<sup>2</sup>, Aleksandra Marković<sup>1</sup>, Violeta Ivanović<sup>1</sup>, Pavle Mašković<sup>2</sup>, Ivana Matović-Purić<sup>3</sup>, Snežana Mitić<sup>1</sup>*

**Izvod:** Sadržaj antocijana je veoma značajan parametar kvaliteta vina zbog uticaja ovih jedinjenja na boju, ukus i lekovita svojstva. U ovom radu određen je sastav antocijana crvenih vina proizvedenih od srpske autohtone sorte grožđa Prokupac. Sadržaj antocijana, određen HPLC metodom, kretao se u intervalu od 179,69 do 388,27 mg/L. Glavni antocijanin je malvidin-3-glukozid, sledi malvidin-3-acetil-glukozid. Kao mogući markeri u diferencijaciji vina Prokupac u odnosu na druga vina mogu poslužiti delfinidin-3-glukozid, peonidin-3-glukozid i acetati antocijana.

**Ključne reči:** antocijani, HPLC metoda, vino Prokupac

### Uvod

U vinogradima sa područja Južne Srbije dominiraju internacionalne sorte vinove loze od kojih se proizvode kvalitetna, u svetu prepoznativa vina. Pored internacionalnih sorti, sve više se pridaje pažnje očuvanju i uzgoju autohtonih sorti kao što je Prokupac i koje su prilagođene prirodnim uslovima karakterističnim za Južnu Srbiju. Prokupac je crveno grožđe koje se često koristi za proizvodnju tamno obojenog rozea. Grožđe je poznato zbog visokog nivoa šećera koje može da dostigne pre berbe i visokog nivoa alkohola koji može da dostigne nakon fermentacije. U literaturi postoji malo podataka o hemijskom sastavu vina proizvedenih od sorte Prokupac, koja se gaji na jugu Srbije (Menković i sar., 2014).

Grožđe i vino odlikuju se visokim sadržajem polifenola i ponašaju se kao prirodni antioksidansi, stoga je njihovo ispitivanje od velikog značaja. Polifenolni sastav grožđa u velikoj meri zavisi od sorte, mada značajan uticaj imaju i spoljašnji faktori: klimatski uslovi, primenjene agrotehničke mere u toku uzgajanja vinove loze, stepen zrelosti grožđa, godina berbe, lokacija vinograda i dr. (Cheng i sar., 2005).

Za procenu enološkog potencijala grožđa veliki značaj ima identifikacija prisutnih polifenolnih jedinjenja. U sastavu grožđa dominantni su flavonoidi i to antocijani (slobodni antocijani i polimerni pigmenti), flavan-3-ol monomeri, oligomeri i polimeri (tanini), flavonoli i fenolne kiseline. Najveća razlika u kvantitativnom sastavu fenolnih jedinjenja je između pokožice i semenki grožđa i u sastavu antocijana koji su prisutni u pokožici crvenih sorti grožđa, dok su u

<sup>1</sup>Univerzitet u Nišu, Prirodno matematički fakultet, Višegradska 33, 18000 Niš, Srbija; (milanmitic83@yahoo.com);

<sup>2</sup>Univerzitet u Kragujevcu, Agronomski fakultet u Čačku, Cara Dušana 34, Čačak, Srbija

<sup>3</sup>Medicinska škola, Episkopa Nikifora Maksimovića 8, Čačak, Srbija

semenkama najviše prisutni flavonoli. Genetski faktori su dominantni za svaku sortu grožđa da imaju specifični sastav antocijana. Profil antocijana može da posluži kao parametar za hemotaksonomsku klasifikaciju crnih *V. Vinifera* sorti, imajući u vidu da svaka sorta ima relativno stabilan i jedinstven sastav antocijana. Same količine ovih jedinjenja variraju sa godinama, zbog drugačijih ekoloških i agronomskih faktora (Zhu i sar., 2012).

Cilj ovog rada je bio da se određivanjem antocijaninskog profila vina proizvedenog od sorte Prokupac omogući potvrđivanje njegove autentičnosti.

## Materijal i metode rada

### *Materijal*

U ispitivanjima je kao materijal korišćeno vino proizvedeno od sorte Prokupac u privatnim vinarijama sa područja Južne Srbije.

### *Hemikalije*

U radu su korišćeni standardi glukozida antocijana proizvođača *Extrasynthese* (Genay, France). Sve hemikalije i rastvarači su p.a. i HPLC čistoće.

### *HPLC određivanje antocijana u vinu*

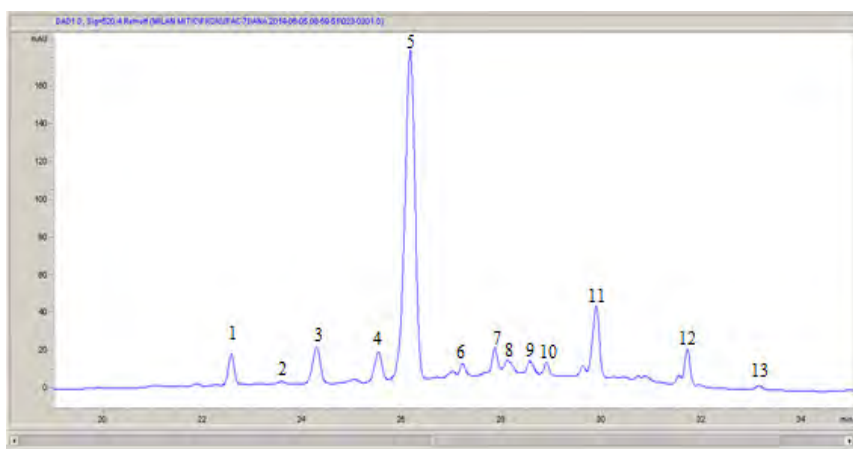
Sadržaj antocijana u vinu određen je metodom tečne hromatografije visokih performansi (*High Performance Liquid Chromatography*, HPLC) na aparatu HPLC Agilent Technologies 1200 Series (USA) sa UV-Vis detektorom. Kao mobilna faza korišćen je sistem rastvarača: A – (H<sub>2</sub>O + 5% HCOOH) i B – (80% HCN + 5% HCOOH + H<sub>2</sub>O). Razdvajanje komponenti je izvedeno primenom sledećeg linearnog gradijenta: 0-28 min, 0% B; 28-35 min, 25% B; 35-40 min, 50% B; 40-45 min, 80% B, i na kraju poslednjih 10 min ponovo 0% B. Protok mobilne faze je iznosio 0,8 ml/min. Injektovano je 5 µL uzorka, automatski, korišćenjem autosampler-a. Kolona je termostirana na temperaturi od 30°C.

Antocijani u uzorcima vina su identifikovani poređenjem njihovih retencionih vremena i spektara sa retencionim vremenima i spektrima standarda. Kvantifikacija antocijana izvršena je metodom spoljašnjeg standarda. Za svaki pojedinačni standard je pripremljen osnovni rastvor standarda masene koncentracije 1 mg/ml, rastvaranjem u metanolu. Od ovog rastvora je pripremljena serija razblaženih rastvora standarda odgovarajućih masenih koncentracija. Konstruisana je kalibraciona kriva, za svaki standard, na osnovu dobijenih površina pikova u zavisnosti od masene koncentracije standarda. Iz dobijene jednačine kalibracione prave ( $R^2 > 0,99$ ) izračunate su koncentracije antocijana u uzorcima vina.

## Rezultati istraživanja i diskusija

U ispitivanim crvenim vinima Prokupac identifikovani su i kvantifikovani glukozidi pet antocijana: malvidina, cijanidina, delphinidina, petunidina i peonidina, a takođe i njihovi acetil i kumaroil derivati.

Na slici 1 je dat hromatogram crvenog vina Prokupac. Identifikovano je 13 jedinjenja: (1) delphinidin-3-glukozid; (2) cijanidin-3-glukozid; (3) petunidin-3-glukozid; (4) peonidin-3-glukozid; (5) malvidin-3-glukozid; (6) delphinidin-3-acetil-glukozid; (7) vitisin A; (8) cijanidin-3-acetil-glukozid; (9) tepunidin-3-acetil-glukozid; (10) delphinidin-3-kumaroil-glukozid; (11) malvidin-3-acetil-glukozid; (12) malvidin-3-kumaroil-glukozid i (13) malvidin-3-vinilfenol- glukozid.



Slika 1. HPLC hromatogram crvenog vina prokupac na 520 nm.  
Figure 1. HPLC chromatograph of red wine prokupac at 520nm.

Rezultati određivanja antocijana u četiri uzorka vina Prokupac prikazani su u Tabeli 1.

Tabela 1. Sadržaj antocijana (mg/L) u ispitivanim uzorcima vina Prokupac  
 Table 1. Anthocyanin content (mg / L) in analyzed Prokupac wine samples

	1	2	3	4
Dp-3-glukozid	25,42±0,62	15,88±0,35	5,89±0,10	12,16±0,20
Cy-3-glukozid	2,22±0,08	1,06±0,03	0,50±0,03	0,51±0,02
Pt-3-glukozid	30,59±0,22	17,52±0,20	7,16±0,22	14,84±0,17
Pn-3-glukozid	17,50±0,17	6,13±0,15	4,24±0,09	5,28±0,11
Mv-3-glukozid	234,42±1,23	175,25±0,90	121,07±0,98	189,58±1,05
Dp-3-acetil-glukozid	2,99±0,07	3,38±0,10	0,79±0,04	2,14±0,09
Vitisin A	3,13±0,11	2,27±0,08	1,91±0,09	1,87±0,08
Cy-3-acetil-glukozid	1,75±0,09	0,95±0,05	nd	1,33±0,07
Pt-3-acetil-glukozid	5,52±0,11	3,81±0,10	1,87±0,06	1,84±0,06
Dp-3-kumaroil-glukozid	5,12±0,14	4,92±0,15	2,85±0,09	3,74±0,09
Mv-3-acetil-glukozid	28,13±0,66	37,98±0,72	19,57±0,34	34,78±0,52
Mv-3-kumaroil-glukozid	25,48±0,45	16,86±0,30	13,84±0,22	16,36±0,28
Mv-3-vinilfenol-glukozid	nd	1,01±0,05	nd	1,17±0,04
<b>Ukupno</b>	<b>388,27</b>	<b>287,02</b>	<b>179,69</b>	<b>285,60</b>

<sup>1</sup>srednja vrednost ± SD (n=3); <sup>2</sup>nije određeno.

Podaci iz tabele 1 ukazuju da je najzastupljeniji antocijan malvidin-3-glukozid, koji je prisutan sa 60,38% do 67,14% u odnosu na ukupan sadržaj antocijana, odnosno njegov sadržaj se kreće u intervalu od 121,07 do 234,42 mg/L. *Živković i sar. (2016)* su odredili sadržaj malvidin-3-glukozid u vinima Prokupac u intervalu od 59,8 do 101,7 mg/L. *Mitić i sar. (2012)* su odredili da je u grožđu Prokupac najzastupljeniji antocijanin malvidin-3-glukozid. Takođe, *Menković i sar. (2014)* su u vinu Prokupac odredili da je malvidin-3-glukozid najzastupljeniji antocijanin i da je prisutan sa 49,1% u odnosu na ukupni sadržaj antocijana. Od svih glukozida najmanje je zastupljen cijanidin-3-glukozid (0.51-2.22; mg/L; 0,2-0,6%). *Menković i sar. (2014)* u vinu Prokupac nisu identifikovali cijanidin-3-glukozid. Najzastupljeniji acetil-glukozid je takođe malvidin-3-acetil-glukozid. Takođe, među antocijanima su najzastupljeniji glukozidi, slede acetil-glukozidi i na kraju kumaroil-glukozidi.

Na osnovu određenih sadržaja pojedinačnih antocijana u ispitivanim uzorcima vina Prokupac, izračunati su neki odnosi sadržaja različitih antocijana u obliku srednje vrednosti i predstavljeni u Tabeli 2. Radi poređenja, dati su literaturni podaci ovih odnosa za vina Vranac i Merlot iz Makedonije (*Dimitrovska i sar., 2013*), a u cilju određivanja koji odnosi mogu poslužiti za razlikovanje vina u zavisnosti od vrste grožđa. Iz Tabele 2 se može videti da se odnos ukupnog sadržaja glukozida antocijana i acetil-glukozida kao i odnos sadržaja delfinidin-3-glukozida i peonidin-3-glukozida u vinu Prokupac znatno razlikuju od vina Vranac i Merlot.

*Tabela 2. Odnosi antocijana određenih u vinu Prokupac, Vranac i Merlot*  
*Table 2. Relations of anthocyanin compounds detected in Prokupac, Vranac and Merlot*

Odnos antocijana	Prokupac	Vranac <sup>1</sup>	Merlot <sup>1</sup>
$\Sigma\text{glu.}/\Sigma\text{acetil-glu.}$	6,33	3,91	2,37
Pt3glu./De3glu	1,18	1,37	1,09
De3glu./Pn3glu.	1,93	0,76	1,07
Mv3glu./Mv3acetil-glu.	6,14	4,86	6,40
Mvacetil-glu/Mvkumaroil-glu.	1,80	1,24	1,80

### Zaključak

Rezultati ispitivanja su potvrdili pogodnost primene antocijaninskog profila za diferencijaciju i identifikaciju vina proizvedenih od pojedinačnih sorti grožđa.

### Literatura

- Menković N., Živković J., Šavikin K., Gođevac D., Zdunić G. (2014). Phenolic composition and free radical scavenging activity of wine produced from the Serbian autochthonous grape variety Prokupac – A model approach. Journal the Serbian Chemical Society. 79, 11–24.
- Cheng G., Fa J.Q., Xi Z.M., Zhang Z.W. (2015). Research on the quality of the wine grapes in corridor area of China. Food Science and Technology. 35: 38-44.
- Zhu L., Zhang Y., Deng J., Li H., Lu J. (2012). Phenolic concentrations and antioxidant properties of wines made from North American grapes grown in China. Molecules. 17, 3304-3323.
- Živković J., Šavikin K., Zdunić G., Gođevac D., Marković N., Pržić Z., Menković N. (2016). Influence of bunch morphology on quality of wines produced from clones of grape variety Prokupac. Journal the Serbian Chemical Society. 81: 883–895
- Mitić M., Souquet J.M, Obradović M., Mitić S. (2012). Phytochemical profiles and antioxidant activities of Serbian table and wine grapes. Food Sci. Biotechnol. 21, 1619-1626.
- Dimitrovska M., Tomovska E., Bocevska M. (2013), Characterisation of Vranec, Cabernet Sauvignon and Merlot wines based on their chromatic and anthocyanin profiles. Journal the Serbian Chemical Society. 78, 1309-1322.

## ANTHOCYANINS AS BIOCHEMICAL MARKERS IN WINE PROKUPAC

*Milan Mitić<sup>1</sup>, Sonja Janković<sup>1</sup>, Jelena Mašković<sup>2</sup>, Aleksandra Marković<sup>1</sup>, Violeta Ivanović<sup>1</sup>, Pavle Mašković<sup>2</sup>, Ivana Matović-Purić<sup>3</sup>, Snežana Mitić<sup>1</sup>*

### Abstract

Anthocyanin compounds are very important quality parameters of wine because of their impact on color, taste and health properties. The aim of present study was to evaluate the anthocyanin profile of red wine produced from the Serbian autochthonous grape variety Prokupac. The anthocyanin content, determined using HPLC method, was ranged from 179.69 to 388.27 mg/L. The major anthocyanin was malvidin-3-glucoside, followed by malvidin-3-acetylglucoside. The content of delphinidin-3-glucoside, peonidin-3-glucoside and anthocyanin acetates were established as possible markers for the differentiation of Prokupac wines from other wines.

**Key words:** anthocyanins, HPLC method, Prokupac wines

---

<sup>1</sup>Univerzitet u Nišu, Prirodno matematički fakultet, Višegradaska 33, 18000 Niš, Srbija; (milanmitic83@yahoo.com);

<sup>2</sup>Univerzitet u Kragujevcu, Agronomski fakultet u Čačku, Cara Dušana 34, Čačak, Srbija

<sup>3</sup>Medicinska škola, Episkopa Nikifora Maksimovića 8, Čačak, Srbija



## UTICAJ NAČINA EKSTRAKCIJE NA ODREĐIVANJE KOLIČINE KAPSAICINA U ZAČINSKOJ PAPRIKI

*Goran Vučić<sup>1</sup>, Ladislav Vasilišin<sup>1</sup>, Zoran Kukrić<sup>1</sup>*

**Izvod:** Začini su aromatične biljne supstance koje se dodaju hrani radi poboljšanja ukusa i mirisa. Ispoljavaju u malim količinama specifičan miris i ukus i djeluju kao stimulansi procesa vezanih za uzimanje i asimilaciju hrane. Aktivne komponente začina se uglavnom trebaju ekstrahovati iz matriksa ukoliko se određuju kvalitativno i kvantitativno.

Cilj ovog istraživanja je bio da se utvrdi da li način ekstrakcije utiče na rezultate određivanja kapsaicina iz začinske paprike. Dobijeni rezultati ukazuju da način ekstrakcije ne utiče statistički značajno na količinu kapsaicina koja se određuje spektrofotometrijski.

**Ključne reči:** ekstrakcija, kapsaicin, paprika

### Uvod

Paprika pripada rodu *Capsicum* i porodici Solanaceae. Botaničko ime *Capsicum* je dobila od grčkih riječi kapso, kaptein (ljutina, gutati) i kapsakes (mahuna) (Sganzerla I sar. 2014).

Paprika se može koristiti u svježem ili prerađenom stanju. Prerađuju se plodovi u tehnološkoj ili fiziološkoj zrelosti (Niketić-Aleksić, 1982). Začinska paprika se koristi za proizvodnju mljevene začinske paprike i oleorizina. Mljevena začinska paprika je začina crvene boje, dobre moći bojenja, prijatnog mirisa. Takođe, mljevena začinska paprika, poboljšava i miris i ukus hrani.

Začinska paprika ima veliku hranljivu i biološku vrijednost, sa izvanrednim senzornim svojstvima (ukus, miris, boja), koji je čine nezamjenljivom u svakodnevnoj ishrani (Niketić-Aleksić, 1982).

Ekstrakti paprike, osim u prehrambenoj industriji, koriste se i u farmaceutskoj i kozmetičkoj industriji (Sganzerla I sar. 2014).

Paprika zbog svog bogatog hemijskog sastava ima visoku hranljivu i biološku vrijednost (Tepić, 2009). Visoka nutritivna i biološka vrijednost se ogleda u bogatom sadržaju ugljenih hidrata, bjelančevina, biljnih vlakana, ulja, organskih kiselina i mineralnih materija. Visoka biološka vrijednost se ogleda u sadržaju vitamina, kapsaicina, pigmenata i eteričnih ulja (Ruy, 2017).

Bojene materije su naročito značajna supstanca, i u svježoj paprici, ali i u proizvodima od paprike. Boju paprike čine karotinoidi, od kojih je najzastupljeniji kapsantin. Sadržaj karotionoida uslovljava intenzitet boje, koja se kreće od žute do

---

<sup>1</sup>Univerzitet u Banja Luci, Tehnološki fakultet u Banjoj Luci, Vojvode Stepe Stepanovića 73, Banja Luka, Republika Srpska, BiH (goran.vucic@tf.unibo.org);

tamno crvene. Sadržaj karotinoida kreće se od 1,5 do 37 mg/100g svježeg ploda u stadijumu botaničke zrelosti, dok žuti plodovi imaju i ispod 1mg/ 100g (Niketić-Aleksić, 1982).

Hemijska supstanca kapsaicin (8-metil-N-vanilil-6-nonenamide) je aktivni sastojak crvene paprike (*Capsicum*). Kapsaicin izaziva iritaciju sluznice usne šupljine sisavaca, uključujući i ljude, te stvara iluziju sagorijevanja u ustima. Kapsaicin i nekoliko sličnih jedinjenja se nazivaju kapsaicinoidima a nastaju kao sekundarni metabolit određenih biljaka gena *Capsicum*-a. Ptice generalno nisu osjetljive na kapsacinoide (Orobiyi i sar., 2015)

Čisti kapsaicin je lipofilan, bez mirisa i boje. Kapsaicin je prirodni alkaloid, supstanca zbog koje paprika ima katarakterističan ljuti ukus. Razne vrste paprika i feferona sadrže različite količine kapsaicina, a najviše kapsaicina sadrži Habanero, malena paprika koja raste na poluostrvu Yukatanu u Meksiku. Ona sadrži nekoliko stotina puta više kapsaicina nego kod nas standardna mađarska paprika.

Ekstrakcija je metoda koja se koristi u hemijskoj analizi, zasniva se na razdvajanju dvije supstance koje se ne miješaju (Sá Mendes i sar. 2019). Uspjeh metode zavisi od rastvorljivosti supstanci u različitim rastvaračima (Rocha-Herrera, 1997). Najprije se uspostavi maksimalna rastvorljivost između dvije faze, a zatim se dodaje rastvarač koji se ne miješa, da bi se dobio dvofazni sistem. Prilikom miješanja, faze se razdvoje. Ekstrakcijom se ne dobija čista supstanca, nego dvije nove smješe tj. rastvor iz koga se supstanca izdvaja (rafinat) i rastvor obogaćen supstancom koja se izdvaja (ekstrakt).

Ekstrakcija se može vršiti sa različitim rastvaračima, koriste se organski i neorganski rastvarači (Juangsamoot, i sar., 2012). Organski rastvarači imaju dobru moć rastvaranja aktivne supstance (Chinn i sar., 2017). Od organskih rastvarača, mogu se koristiti metanol, heksan, aceton, benzen (Nwokem i sar., 2010).

Ultraljubičasta i vidljiva apsorpcijska spektrofotometrija primjenjuje se za kvantitativnu ali i za kvalitativnu analizu (Supalkova Veronika i sar., 2007). To je najčešće primjenjivana metoda u hemijskim i kliničkim laboratorijima svijeta od bilo kojeg drugog pojedinačnog postupka (Roxana-Mădălina Stoica i sar., 2016). Zasniva se na zavisnosti energije zračenja i hemijskog sastava supstance. Za određivanje u UV, VIS i IR dijelu spektra koriste se spektrofotometri. Metoda za uzimanje uzoraka kapsacionida je brza, efikasna i pouzdana (Popelka i sar., 2017). Metod pokazuje veliku količinu kapsaicina i dihidrokapsaicina u različitim koncentracijama i nivoima (Ruy i saradnici, 2016).

Pored UV VIS spektrofotometrije, za određivanje kapsaicina u začinskoj paprici, može se koristiti i HPLC (tačna hromatografija pod visokim pritiskom) (Schmidt i sar., 2017) i gasna hromatografija (Sridhara Babu i sar., 2014). One nisu praktične za analizu većeg broja uzoraka. Kolorimetrijska metoda se preporučuje pri brznoj analizi više uzoraka. Tu su pigmenti u kapsaicinu uspješno izdvojeni iz ekstrakta ljute paprika sekvencijalnim izlučivanjem čvrsto-tečno i tečno-tečno, u

epruvete praćene kolorimentrijskom analizom kapsaicinoida selektivnom hromogenom reakcijom sa Gibsovim reagensom (2,6 dihlorokinon-4-hloroimid) (Sganzerla i saradnici, 2014).

### **Materijal i metode rada**

Prilikom određivanja kapsaicina iz zaćinske paprike, korišćeno je pet uzoraka koji su kupljeni na trţištu od razlićitih proizvođaća. Ćetiri uzorka su u praškastom stanju, a peti je svjeţa paprika (fefrona).

Za obavljanje analiza uzoraka 1, 2, 3 i 4 (prikazanih u tabeli 1) putem ekstrakcije, uzorci su odvagani na analitićkoj vagi u kolićinama oko 0,1g. Nakon toga, uzorci su kvantitativno prenijeti u Erlenmayer tikvice od 50 mL, i preliveni su sa po 20 mL rastvaraća. Erlenmayer tikvice su zatvorene brušenim ćepom, umotane u foliju, ostavljene su na tamnom mjestu 48h. Nakon završene ekstrakcije, suspenzije su profiltrirane. Filtrat je prenesen u odmjernu tikvicu od 250mL i dopunjen je rastvaraćem do oznake. Sve je dobro izmiješano, da se smjesa homogenizuje, zatim preneseno u tamnu bocu. Snimanje spektra je vršeno na spektrofotometru Lambda 25 Perkin Elmer, na talasnoj dućžini 380-800 nm.

Za određivanje putem ultrazvućne ekstrakcije, priprema uzoraka je obavljena na isti naćin. Ekstrakcija se obavljala pod dejstvom ultrazvuka, koji podstiće perforaciju i razaranje ćelijskog zida. Ova metoda kraće traje (20 min) i brţe se dobijaju ųeljeni rezultati. Dalji postupak je isti kao kod obiće ekstrakcije.

Za određivanje svjeţe feferone, potrebno je prije svega dobro oprati, isjeckati ųto je više moguće na ųto manje komade. Nakon toga, na analitićkoj vagi sa ćetiri decimale, odvagano je oko 1,0g usitnjene feferone na satnom staklu. Feferona je kvantitativno prenesena u posudicu za sušenje, koja je ostavljena u sušionik 48h na sušenje. Nakon toga, izvršeno je vaganje, kako bismo utvrdili gubitak u masi tokom sušenja. Dalji postupak je isti kao kod ekstrakcije.

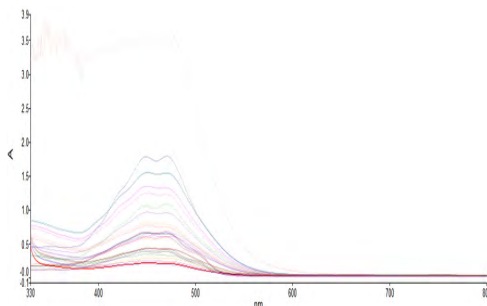
Tabela 1. Prikaz metoda korištenih za određivanje kapsaicina u začinskoj paprici iz različitih uzoraka

*Tabela 1. Prikaz metoda korištenih za određivanje kapsaicina u začinskoj paprici iz različitih uzoraka*

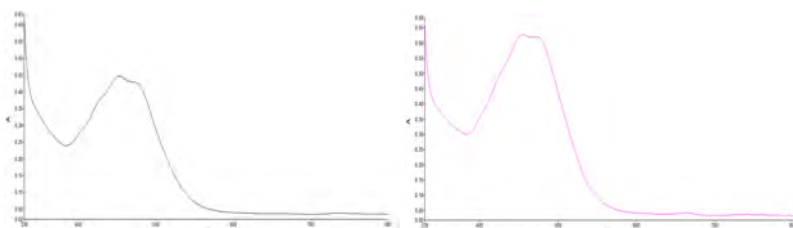
Uzorak	Rastvarač	Metoda	Vrijeme trajanja
I Crvena ljuta tucana začinska paprika	Metanol, heksan, aceton	Ekstrakcija, ultrazvučna ekstrakcija, UV VIS spektrofotometrija	Ekstrakcija – 48h UZV ekstrakcija – 20min
II Ljuta paprika	Metanol, heksan, aceton	Ekstrakcija, ultrazvučna ekstrakcija, UV VIS spektrofotometrija	Ekstrakcija – 48h UZV ekstrakcija – 20min
III Slatka mljevena paprika	Metanol, heksan, aceton	Ekstrakcija, ultrazvučna ekstrakcija, UV VIS spektrofotometrija	Ekstrakcija – 48h UZV ekstrakcija – 20min
IV Dimljena paprika slatka	Metanol, heksan, aceton	Ekstrakcija, ultrazvučna ekstrakcija, UV VIS spektrofotometrija	Ekstrakcija – 48h UZV ekstrakcija – 20min
V Svježa feferona	-	Sušenje, UV VIS spektrofotometrija	Sušenje – 48h

### Rezultati istraživanja i diskusija

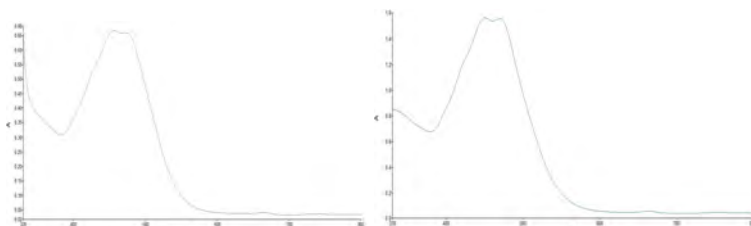
Prilikom određivanja kapsaicina u začinskoj paprici, korišćeno je pet uzoraka, četiri praškasta i jedan u svježem stanju. Korišćena su tri različita rastvarača: heksan, metanol i aceton. Na slici 8, gdje su prikazani spektri apsorpcije svih korištenih uzoraka, mogu se vidjeti sličnosti i razlike koje se javljaju prilikom snimanja spektara kapsaicina, u vidljivom dijelu, iz korištenih uzoraka. Možemo zaključiti da su spektri vrlo sličnog oblika, sa različitim vrijednostima maksimuma.



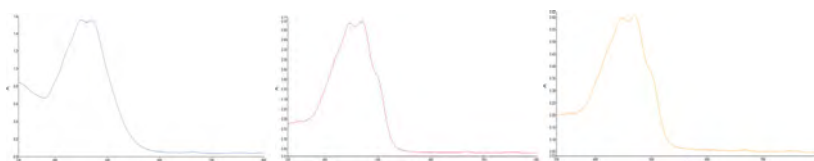
Graf 1. Spektri ekstrakta crvene paprike i začinskih paprika  
Graph 1. Spectra of red pepper extract and spice pepper



Graf 2. Spektar apsorpcije sušene feferone, rastvarač methanol, acetone  
Graph 2. Absorption spectrum of dried pepperoni, solvent methanol, acetone



Graf 3. Spektar apsorpcije uzorka 3, ultrazvučna ekstrakcija, rastvarač acetone i methanol  
Graph 3. Sample absorption spectrum 3, ultrasonic extraction, solvent acetone and methanol



Graf 4. Spektar apsorpcije uzorka 3, a) ultrazvučna ekstrakcija, rastvarač metanol, b) ekstrakcija 48 sati, rastvarač heksan, c) ultrazvučna ekstrakcija rastvarač heksan  
Graph 4. Sample absorption spectrum 3, a) ultrasonic extraction, solvent methanol, b) extraction for 48 hours, solvent hexane, c) ultrasonic extraction solvent hexane

Sa predstavljenih grafikona 1, 2, 3 i 4 se vide spektri različitih ekstrakata začinske paprike i svježe crvene paprike. Može se uočiti da su spektri dobijeni na UV i ViS spektrofotometru veoma slični bez obzira na način kojim je ekstrakcija provedena. Maksimumi spektara koji se koriste za kvantitativnu analizu su u rasponu od 5-8 nm.

## Zaključak

Kao prvi zaključak može se navesti činjenica da su sva tri korišćena rastvarača (metanol, heksan, aceton) pogodna za ekstrakciju kapsaicina iz začinske paprika.

Uočene su neznatne razlike u spektrima kapsaicina u vidljivom dijelu spektra.

Maksimumi apsorpcije spektara kapsaicina su se kretali od 0,45 do 1,58 apsorpcionih jedinica i nalazili su se talasnoj dužini od 440-460 nm.

Iz dobijenih maksimuma apsorpcije se određuju talasne dužine za kvantitativnu analizu kapsaicina iz začinske paprika.

## Literatura

- Niketić-Aleksić G. (1982). Tehnologija voća i povrća, Tehnološki fakultet, Beograd
- Ruy W.K., Kim H.W., Kim G.D., Rhee H.I. (2017). Rapid determination of capsaicinoids by colorimetric method. *Journal of food and drug analysis*. Volumen 25: 798-803
- Sganzerla M., Couthinho J.P., Tavares de Melo A.M., Godoy H.T. (2014). Fast method for capsaicinoids analysis from *Capsicum chinense* fruits. *Food Research International*. Volume 64:718-725
- Tepić A. (2009). Karakteristike oleorizina mlevene začinske paprike dobijenog klasičnom i ekstrakcijom superkritičnim ugljen dioksidom. Doktorska disertacija. Tehnološki fakultet. Novi Sad
- Juangsamoot, J., Ruangviriyachai, C., Techawongstien, S., Chanthai, S. (2012). Determination of capsaicin and dihydrocapsaicin in some hot chilli varieties by RP-HPLC-PDA after magnetic stirring extraction and clean up with C18 cartridge. *International Food Research Journal* 19 (3): 1217-1226 (2012)
- Nwokem C.O., Agbaji E.B., Kagbu J.A., Ekanem E.J., (2010). Determination of Capsaicin Content and Pungency Level of Five Different Peppers Grown in Nigeria. *New York Science Journal* 2010;3(9)
- Supalkova Veronika, Stavelikova Helena, Krizkova Sona, Vojtech A., Horna Ales, Havel L., Ryant P., Babula P., Kizek R. (2007). Study of Capsaicin Content in Various Parts of Pepper Fruit by Liquid Chromatography with Electrochemical Detection. *Acta Chim. Slov.* 2007, 54, 55–59
- Orobiyi, H. Ahissou, F. Gbaguidi, F. Sanoussi, A. Hounghè, A. Dansi, A. Sanni. (2015). Capsaicin and Ascorbic Acid Content in the High Yielding Chili Pepper (*Capsicum annum* L.) Landraces of Northern Benin. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*. ISSN: 2319-7706. Volume 4 Number 9 (2015) pp. 394-403
- Roxana-Mădălina Stoica, Mișu Moscovici, Caterina Tomulescu, Narcisa Băbeanu. (2016). Extraction and analytical methods of capsaicinoids - a review. *Scientific Bulletin. Series F. Biotechnologies*, Vol. XX, 2016. ISSN 2285-1364, CD-ROM ISSN 2285-5521, ISSN Online 2285-1372, ISSN-L 2285-1364
- Nathânia de Sá Mendes, Mônica C.P. Santos, Millena C.B. Santos, Luiz C. Cameron, Mariana S.L. Ferreira, Édira C.B. A. Gonçalves. (2019). Characterization of

- pepper (*Capsicum baccatum*) - A potential functional ingredient. *LWT*. Volume 112, September 2019, 108209
- Popelka P., Jevinová P., Šmejkal K., Roba P. (2017). Determination of capsaicin content and pungency level of different fresh and dried chilli peppers. *Folia Veterinaria*, 61, 2: 11–16.
- Subodh Kumar Panda, MS Suresh. (2018). Estimation of Pungency of Green Chillies using UV Spectrophotometer. *International Journal of Advanced Research in Electrical, Electronics and Instrumentation Engineering*. Vol. 7, Issue 2, February 2018
- Sridhara Babu P., Guravaiah Hatti M., Srikanth I., K.. (2014). Qualitative analysis of capsaicin from chillies and chilli powder by H.P.L.C. method. *International Journal of Current Research in Chemistry and Pharmaceutical Sciences*. Volume 1 Issue: 6 2014 Pages:184-193
- Rocha-Herrera Alfonso Rafael. (1997). Influence of solvent extraction, maturity stage, and thermal treatment on the determination of capsaicin in capsicums (*Capsicum annum* spp.) and their products. Iowa State University Capstones, Theses and Dissertations. 12240.<https://lib.dr.iastate.edu/rtd/12240>
- Schmidt Anatol, Fiechter Gregor, Fritz Eva-Maria, Mayer Helmut K.. (2017). Quantitation of capsaicinoids in different chillies from Austria by a novel UHPLC method. *Journal of Food Composition and Analysis*. Volume 60, July 2017, Pages 32-37
- Chinn Mari S., Ratna R. Sharma-Shivappa , Jacqueline L. Cotter. (2011). Solvent extraction and quantification of capsaicinoids from *Capsicum chinense*. *Food and Bioproducts Processing*. Volume 89, Issue 4, October 2011, Pages 340-345

## EXTRACTION METHODS INFLUENCE ON DETERMINATION OF CAPSAICIN IN SPICES

*Goran Vučić<sup>1</sup>, Ladislav Vasilišin<sup>1</sup>, Zoran Kukrić<sup>1</sup>*

### Abstract

Spices are aromatic herbal substances that are added to food to enhance taste and aroma. They exhibit a specific odor and taste in small quantities and act as stimulants to the processes associated with food intake and assimilation. The active components of the spices should generally be extracted from the matrix if they are to be determined qualitatively and quantitatively.

The aim of this study was to determine whether the method of extraction affected the results of the determination of capsaicin from spicy peppers. The results obtained indicate that the amount of capsaicin determined spectrophotometrically is not statistically significantly affected by the extraction method. extent. Tables, graphs and pictures are not allowed in abstract, as well as referencing publications.

**Key words:** extraction, capsaicin, pepper

---

<sup>1</sup>Univerzitet u Banja Luci, Tehnološki fakultet u Banjoj Luci, Vojvode Stepe Stepanovića 73, Banja Luka, Republika Srpska, BiH (goran.vucic@tf.unibo.org)



## EFEKAT PRETRETMANA KLIJANJA EKSTRAKTOM LISTA *Urtica dioica* L. NA PRODUKTIVNOST ODABRANIH GAJENIH BILJAKA

*Biljana Bojović<sup>1</sup>, Milica Kanjevac, Jovana Momčilović, Dragana Jakovljević*

**Izvod:** U radu je ispitivana *priming* metoda za poboljšanje klijavosti semena i ranog razvića pšenice (*Triticum aestivum* L.), bosiljka (*Ocimum basilicum* L.), rotkvice (*Raphanus sativus* L.) i paradajza (*Solanum lycopersicum* L.). Semena su tretirana sa različitim koncentracijama vodenog ekstrakta koprive (*Urtica dioica* L.) (10%, 20% i 40%). Dobijeni rezultati ukazuju da je za vijabilnost i sposobnost tretiranih semena da produkuju kvalitetne biljke najpovoljniji tretman sa 20% ekstraktom koprive. Najbolje predispozicije za dobijanje kvalitetnog sadnog materijala ispoljile su vrste *R. sativus* i *T. aestivum*.

**Ključne reči:** *priming* metoda, ekstrakt koprive, vigor indeks

### Uvod

Brzo i sinhronizovano klijanje semena i dinamičan rast korena od presudnog su značaja za uspešnu produktivnost biljaka. S tim u vezi razvijene su različite metode i tehnike, koje imaju za cilj poboljšavanje kvaliteta semena. Pokazalo se da je jedna od najefikasnijih *priming* metoda, kojom se dinamika klijanja i performanse biljaka postižu moduliranjem metaboličke aktivnosti u semenu pre izrastanja radikule (Pallaoro i sar., 2016; Lutts i sar., 2016; Mamun i sar., 2018). Proces klijanja semena odvija se u četiri faze: imbibicija, aktivacija metaboličkih procesa, inteziviranje mitotičkih deoba u embrionu i izrastanje korena. U prvoj fazi povećava se sadržaj vode, pri čemu hidratisanost semena ostaje stabilna i u drugoj fazi. Zbog toga je proces klijanja reverzibilan do druge faze, pa se semena mogu ponovo osušiti i čuvati u održivom stanju, s tim da započnu klijanje u povoljnim uslovima (Wolny i sar., 2018).

Tretmani prajmiranja se primenjuju tokom reverzibilne faze. Oni mogu varirati u zavisnosti od vrste i osmotskog potencijala rastvora koji se koristi za prajmiranje. Pretretmani klijanja aktiviraju metaboličke procese započete tokom druge faze, koji se vremenski prekidaju pre nego što dodje do desikacije. Od jedinjenja koja se upotrebljavaju u *priming* metodi najčešće se koriste soli, organske kiseline, hormoni i regulatori rasteanja. Međutim, poslednjih godina su intenzivirana istraživanja u kojima se kao pretretman procesa klijanja semena koriste ekstrakti različitih biljnih vrsta, a jedna od njih je i kopriva.

Kopriva (*Urtica dioica* L.) je dobro poznata biljna vrsta koja se u poljoprivredi smatra korovom. Pojavljuje se na ruderalnim staništima, kao i na obradivim

---

<sup>1</sup>Univerzitet u Kragujevcu, Prirodno-matematički fakultet, Radoja Domanovića 12, 34000 Kragujevac ([biljana.bojovic@pmf.kg.ac.rs](mailto:biljana.bojovic@pmf.kg.ac.rs))

površinama koje su bogate azotom (Taylor, 2009). Dosadašnja istraživanja ukazala su na širok spektar dejstva ove biljke i njenih ekstrakata, posebno iz listova, u kojima je potvrđeno prisustvo brojnih biološki aktivnih jedinjenja, kao što su derivati kofeinske kiseline, karotenoidi, esencijalne masne kiseline, vitamini, minerali, fitosteroli, glikozidi i proteini (Pinelli i sar., 2008). Međutim, u ovim istraživanjima ispitivan je uglavnom antioksidativni, antimikrobni i citotoksični potencijal ekstrakta koprive (Kukric i sar., 2012). Vrlo je malo literaturnih podataka koji se odnose na alelopatski uticaj ekstrakta koprive na druge biljne vrste. Zbog toga je cilj ovog rada bio da se ispita efekat vodenog ekstrakta listova koprive (*Urtica dioica* L.) na parametre značajne za produktivnost pšenice, bosiljka, rotkvice i paradajza, koje se veoma često gaje u agroekosistemima.

### Materijal i metode rada

Semena pšenice (*Triticum aestivum* L.), bosiljka (*Ocimum basilicum* L.), rotkvice (*Raphanus sativus* L.) i paradajza (*Solanum lycopersicum* L.) dobijena su iz komercijalnih izvora (“Semena d.o.o., Beograd) i skladištena pod optimalnim uslovima. Na početku eksperimenta semena su površinski sterilisana 0.1% rastvorom NaClO u cilju ukljanjanja epifitske mikroflore i isprana destilovanom vodom do pH 7. Semena su zatim postavljena u Petri kutije i tretirana sa 5 ml vodenog ekstrakta lista koprive (*Urtica dioica* L.) koncentracija 10, 20 i 40%. Pripremljena semena inkubirana su u klima komori (fotoperiod 16/8 h, temperatura 22±1°C), tokom 7 dana.

Posle isteka ovog vremenskog perioda utvrđivan je:

- (i) *procenat klijavosti* (GP):  $GP = \frac{\text{broj proklijalih semena}}{\text{ukupan broj semena}} \times 100$  (Espanany i sar., 2016)
- (ii) *dužina korena i izdanka*
- (iii) *sveža masa izdanka*
- (iv) *vigor indeks* (VI):  $VI = \text{dužina izdanka} + \text{dužina korena} \times GP$  (Kharb i sar., 1994)

### Rezultati istraživanja i diskusija

Procenat klijavosti semena se značajno razlikovao u zavisnosti od biljne vrste i koncentracije vodenog ekstrakta koprive (Tab. 1). U tom smislu, sve upotrebene koncentracije ekstrakta su ispoljile inhibitorni efekat na proces klijanja semena, izuzev kod vrste *T. aestivum*, gde su sve tri koncentracije pojačale efekat klijanja u odnosu na kontrolu. Različite koncentracije ekstrakta koprive imale su takođe, inhibitorni efekat na izduživanje korena kod svih testiranih biljaka, izuzev kod vrste *R. sativus*, kod koje je dužina korena u svim koncentracijama bila višestruko povećana u odnosu na kontrolu. Za razliku od procenta klijanja i dužine korena, dužina izdanka je bila povećana u ekstraktu koprive, posebno kod vrsta *O. basilicum* i *R. sativus*.

Na osnovu dobijenih rezultata može se zaključiti da je najveći efekat na klijavost semena, dužinu korena i izdanka ispoljila 20% koncentracija ekstrakta lista koprive kod vrste *T. aestivum* (98%, 77,59 i 57,71 mm).

Tabela 1. Efekat različitih koncentracija ekstrakta *U. dioica* na procenat klijanja semena, dužinu korena i dužinu izdanka testiranih biljaka

Table 1. Effect of different concentrations of *U. dioica* on seed germination of test plants

Koncentracije ekstrakta Concentration of extract		10%	20%	40%	Kontrola Control
<b><i>O. basilicum</i></b>	% klijanja Germination %	85	83	73	88
	Duzina korena Root length (mm)	15,92	19,62	18,40	19,50
	Duzina izdanka Length of hypocotyl (mm)	5,31	5,76	6,72	4,33
<b><i>S. lycopersicum</i></b>	% klijanja Germination %	73	68	55	88
	Duzina korena Root length (mm)	33,84	28,82	30,54	34,33
	Duzina izdanka Length of hypocotyl (mm)	13,70	11,85	20,12	13,92
<b><i>T. aestivum</i></b>	% klijanja Germination %	96	98	96	95
	Duzina korena Root length (mm)	69,62	77,59	72,77	80,38
	Duzina izdanka Length of hypocotyl (mm)	51,64	57,71	53,74	60,64
<b><i>R. sativus</i></b>	% klijanja Germination %	80	85	81	88
	Duzina korena Root length (mm)	57,97	68,17	58,89	34,33
	Duzina izdanka Length of hypocotyl (mm)	18,83	20,84	22,51	13,92

Vrednosti sveže mase ispitivanih biljaka su veoma varirale u zavisnosti od koncentracija ekstrakta koprive (Tab. 2). Za svaki od korišćenih tretmana, kod *T. aestivum* i *O. basilicum*, dobijene su niže vrednosti u poređenju sa vrednostima dobijenim u kontroli za isti vremenski period uzorkovanja. Stimulatorni efekat na svežu masu *R. sativus* ispoljile su sve primenjene koncentracije ekstrakta koprive, gde su dobijene vrednosti bile izjednačene sa vrednostima izmerenim u kontroli ili su višestruko povećane. Sveža masa *S. lycopersicum* je, takođe, bila veća u 10% i 20% koncentraciji ekstrakta koprive u odnosu na kontrolu, dok je 40% ekstrakt

koprive ispoljio neznatno nižu vrednost u odnosu na istu. Dobijeni rezultati ukazuju da ekstrakti koprive mogu biti značajan izvor raznih elemenata i da se mogu koristiti kao sredstvo za stimulaciju pri gajenju biljaka. Posebno je značajno istaći da rastvor koprive sadrži veliku količinu azota u obliku amonijka, mikro i makroelemente neophodne za rast biljaka, kao i biljni hormon auksin (Rivera i sar., 2012).

Tabela 2. Uticaj različitih koncentracija ekstrakta *U. dioica* na svežu masu testiranih biljaka (g)

Table 2. Effect of different concentrations of *U. dioica* on fresh matter weight of test plants (g)

Koncentracija ekstrakta Concentration	Testirane biljne vrste Test plants			
	<i>T. aestivum</i>	<i>O. basilicum</i>	<i>R. sativus</i>	<i>S. lycopersicum</i>
10%	3,31	0,36	1,66	1,01
20%	4,07	0,43	4,03	1,08
40%	3,67	0,40	2,13	0,85
Kontrola Control	6,01	0,57	1,66	0,86

Tabela 3. Uticaj različitih koncentracija ekstrakta *U. dioica* na vigor indeks testiranih biljaka (g)

Table 3. Effect of different concentrations of *U. dioica* on vigour index I of test plants (g)

Koncentracija ekstrakta Concentration	Testirane biljne vrste Test plants			
	<i>T. aestivum</i>	<i>O. basilicum</i>	<i>R. sativus</i>	<i>S. lycopersicum</i>
10%	11640,96	1804,55	6144,00	3470,72
20%	13259,40	2106,54	7565,85	2765,56
40%	12144,96	1833,76	6593,40	2786,30
H <sub>2</sub> O	13396,90	2097,04	4246,00	4246,00

**Vigor indeks.** Evaluacija vigor testa za predviđanje kvaliteta semena je važnija od standardnog testa klijanja jer se vigor testom ne utvrđuje samo vijabilnost semena, već i sposobnost semena da produkuje kvalitetne biljke pod uslovima sličnim onima koji postoje u prirodi (Arumugam i sar., 2008; Bojovic i sar., 2018). Rezultati vigor testa su predstavljeni za sve tretmane u Tab. 3. Oni ukazuju da je tretman ekstraktom koprive ispoljio najveći stimulatorni efekat na produktivnost vrste *R. sativus*, dok kod ostalih biljnih vrsta koprivu možemo smatrati za nepoželjan korov, koji umanjuje rast i produktivnost biljaka.

## Zaključak

Semena biljnih vrsta koja su pre početka procesa klijanja tretirana različitim koncentracijama ekstrakta lista koprive ispoljila su velike razlike u procentu klijavosti i izduživanju korena i izdanka u zavisnosti od biljne vrste i primenjene koncentracije ekstrakta. Na osnovu vigor indeksa može se zaključiti da je najpovoljniji tretman bio onaj u kome su semena tretirana 20% ekstraktom koprive, pri čemu su najbolje predispozicije za dobijanje kvalitetnog sadnog materijala ispoljile su vrste *R. sativus* i *T. aestivum*.

## Literatura

- Arumugam M., Rajanna M. P., Gowda R. (2008). Seed dormancy and seedling vigor as influenced by planting time environment and date of harvest in rice (*Oryza sativa* L.). *Caspian Journal of Environmental Sciences*, 6, 1-9.
- Bojović B., Jakovljević D., Ćurčić S., Stanković M. (2018). Phytotoxic potential of common nettle (*Urtica dioica* L.) on germination and early growth of cereals and vegetables. *Allelopathy Journal*, 43 (2), 175-186.
- Di Virgilio N., Papazoglou E. G., Jankauskiene Z., Di Lonardo S., Praczyk M., Wielgusz K. (2015). The potential of stinging nettle (*Urtica dioica* L.) as a crop with multiple uses. *Industrial Crops and Products*. 68, 42-49.
- Garmendia A., Raigon M. D., Marques O., Ferril M. (2018). Effects of nettle slurry (*Urtica dioica* L.) used as foliar fertilizer on potato (*Solanum tuberosum* L.) yield and plant growth. *Peer J*, 6 (13), 4729.
- Espanany A., Fallah S., Tadayon A. (2016). Seed priming improves and germination and reduces oxidative stress in black cumin (*Nigella sativa*) in presence of cadmium. *Industrial Crops and Products*, 79, 195-204.
- Kharb R. P. S., Lather B. P. S., Deswal D. P. (1994). Prediction of field emergence through heritability and genetic advance of vigour parameters. *Seed Science and Technology*, 22, 461-466.
- Kraus R., Spiteller G. (1991). Gas chromatography/mass spectrometry of trimethylsilylated phenolic glucosides from roots of *Urtica dioica*. *Biological Mass Spectrometry*, 20, 53-60.
- Kukric Z., Topalic-Trivunovic L., Kukavica B., Matos S., Pavicic S., Boroja M., Savic A. (2012). Characterization of antioxidant and antimicrobial activities of nettle leaves (*Urtica dioica* L.). *Acta Periodica Technologica*, 257-272.
- Lutts S., Benincasa P., Wojtyla L., Kubala S., Pace R., Lechowska K., Quinet M., Garczarska M. (2016). Seed Priming: New Comprehensive Approaches for an Old Empirical Technique, Open access peer-reviewed chapter, DOI: 10.5772/64420.
- Mamun A. A., Naher U. A., Ali M.Y. (2018). Effect of seed priming on seed germination and seedling growth of modern rice (*Oryza sativa* L.) varieties. *The Agriculturists*, 16, 34-43.

- Pallaoro D. S., Camili E. C., Guimaraes S. C., Albuquerque M. C. (2016). Methods for priming maize seeds. *Journal of Seed Science*, 38 (2) <http://dx.doi.org/10.1590/2317-1545v38n2161132>.
- Pinelli P., Ieri F., Vignolini P., Bacci L., Baronti S., Romani A. (2008). Extraction and HPLC analysis of phenolic compounds in leaves, stalks and textile fibers of *Urtica dioica* L. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56, 9127-9132.
- Rivera M. C., Wright E. R., Salice S., Fabrizio M. C. (2012). Effect of plant preparations on lettuce yield. *Acta Horticulturae*, 933(20), 173-179.
- Taylor K. (2009). Biological Flora of the British Isles: *Urtica dioica* L. *Journal of Ecology*, 97, 1436–1458.

## THE EFFECT OF PRETREATMENT OF THE LEAF EXTRACT OF *Urtica dioica* L. ON THE PRODUCTIVITY OF SELECTED CULTIVATED PLANTS

*Biljana Bojović, Milica Kanjevac, Jovana Momčilović, Dragana Jakovljević*

### Abstract

In this paper the priming method for improving seed germination and early development of wheat (*Triticum aestivum* L.), basil (*Ocimum basilicum* L.), radish (*Raphanus sativus* L.) and tomato (*Solanum lycopersicum* L.) was investigated. The seeds were treated with different concentrations of aqueous nettle extract (*Urtica dioica* L.) (10%, 20% and 40%). The obtained results indicate that the viability and the ability of the treated seeds to produce good quality plants is the most favorable treatment with 20% nettle extract. The best predispositions for obtaining good planting material had *R. sativus* and *T. aestivum*.

**Key words:** priming method, nettle extract, vigor index

---

<sup>1</sup>University of Kragujevac, Faculty of Science, Radoja Domanovića 12, 34000 Kragujevac, Serbia ([biljana.bojovic@pmf.kg.ac.rs](mailto:biljana.bojovic@pmf.kg.ac.rs))

## PROTEKTIVNI EFEKAT SALICILNE KISELINE NA RAZVIĆE *Triticum aestivum* L. U USLOVIMA STRESA IZAZVANOG SOLIMA

*Biljana Bojović, Jovana Momčilović, Milica Kanjevac, Milan Stanković,  
Dragana Jakovljević*

**Izvod:** Cilj istraživanja obuhvata utvrđivanje uticaja različitih koncentracija salicilne kiseline na rasteenje i razviće pšenice (*Triticum aestivum* L.) u uslovima stresa izazvanog solima. Tretmani su obuhvatali različite koncentracije salicilne kiseline ( $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$  i  $10^{-4}$  M) i 0.1M NaCl. Na osnovu dobijenih rezultata može se zaključiti da stres izazvan solima pokazuje značajne negativne efekte na rasteenje i razviće pšenice, dok salicilna kiselina ostvaruje protektivna svojstva u navedenim uslovima. Međutim, efekat salicilne kiseline je dozno-specifičan. Najpovoljniji efekti su ostvareni pro koncentraciji salicilne kiseline od  $10^{-2}$  i  $10^{-3}$  M.

**Ključne reči:** salicilna kiselina, stres, soli, *Triticum aestivum*

### Uvod

Salinitet zemljišta, kao abiotički ekološki factor, ostvaruje destruktivne efekte na morfološke, fiziološke i biohemijske procese kod biljaka (Gengmao i sar., 2015; Hamada i sar., 2016; Jakovljević i sar., 2017). Povećane koncentracije soli mogu dovesti do značajnih metaboličkih oštećenja, poremećaja u enzimskoj aktivnosti, procesu fotosinteze i disanja, apsorpciji mineralnih materija, poremećaja u vodnom potencijalu, kao i do inhibicije rasteenja i razvića biljaka (Cassaniti i sar., 2013; Parihar i sar., 2015, Jakovljević i sar., 2017). Pored toga, salinitet odlaže pojavu klijanja, smanjuje brzinu i povećava disperziju, a sve to negativno utiče na konačan prinos useva (Ashraf i Foolad, 2005). Veći prinos u poljoprivrednoj proizvodnji zahteva kvalitetan sadni materijal sposoban za klijanje pri višim koncentracijama soli (Živković i sar., 2007). Prisustvo većih količina soli natrijuma u zemljištu predstavlja jedan od najbitnijih ograničavajućih faktora za rast i proizvodnju useva.

Pšenica (*Triticum aestivum* L.) je jedna od najstarijih i najvažnijih biljnih vrsta iz familije Poaceae. Zahvaljujući polimorfizmu rasprostranjena je gotovo u celom svetu i predstavlja glavni izvor hranljivih materija. Višestruki značaj ima u farmaceutskoj, prehrambenoj i mlinarskoj industriji (Peña, 2007). U ishrani svetske populacije je jedna od najzastupljenijih žitarica sa relativno niskim sadržajem proteina 8-10% (Shewri, 2007). Zrna i klijanci su dobri izvori fitojedinjenja koja imaju široku zdravstvenu korist (Liyana Pathirana i Shahidi, 2005).

Salicilna kiselina po hemijskom sastavu pripada grupi fenolnih jedinjenja. Ima važnu ulogu pri klijanju semena, rastanju i razviću biljaka, cvetanju, reguliše procese otvaranja i zatvaranja stoma (Taiz i Zeiger, 2010). Značajno je istaći da salicilna kiselina ima ulogu signalnog molekula pri odgovoru biljaka na biotički i abiotički stres. Značajne efekte ostvaruje i u adaptaciji biljaka na visoke temperature, povećane koncentracije soli u podlozi, kao i na sadržaj teških metala u podlozi (Anaya i sar., 2018).

### Materijal i metode rada

Semena *T. aestivum* dobijena su iz komercijalnih izvora. Za potrebe eksperimenta semena su najpre sterilisana 0,1% NaClO u cilju uklanjanja epifitske mikroflore, pa nakon toga isprana destilovanom vodom. Semena su tretirana 0,1M NaCl i rastvorima salicilne kiseline u koncentracijama  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$  i  $10^{-4}$  M, dok su semena isključavana u destilovanoj vodi služila kao kontrola. Nakon deset dana rastanja i razvića u pomenutim tretmanima, vršena su merenja dužine hipokotila i korena, kao i sveže i suve mase. Takođe je vršeno i preračunavanje indeksa tolerantnosti korena i izdanka (PRTI – *plant root tolerance index*; PHTI – *plant height tolerance index*) prema sledećim obrascima:

$$\text{RTI (\%)} = \frac{\text{dužina korena u tretmanu}}{\text{dužina korena u kontroli}} \times 100$$

$$\text{PHTI (\%)} = \frac{\text{dužina izdanka u tretmanu}}{\text{dužina izdanka u kontroli}} \times 100$$

### Rezultati istraživanja i diskusija

#### Efekat soli i salicilne kiseline na dužinu korena i izdanka *T. aestivum*

Efekat soli i različitih koncentracija salicilne kiseline na rast pšenice utvrđivan je merenjem dužine korena i dužine izdanka. Dobijeni rezultati su pokazali da se dužina korena značajno razlikovala u primenjenim tretmanima (Tabela 1). Najveća dužina (9,01 cm) zabeležena je u kontroli, dok je najmanja dužina (1,20 cm) zabeležena pri stresu izazvanom natrijum-hloridom. U uslovima stresa izazvanog solima najbolje dejstvo pokazuje  $10^{-3}$  M salicilne kiseline.

Dužina izdanaka pšenice (Tabela 1) takođe varira u zavisnosti od primenjenog tretmana u poređenju sa kontrolom. Dobijene vrednosti su u opsegu od 5,09 cm do 10,46 cm, pri čemu na negativno dejstvo koje soli ostvaruju na izduživanje izdanaka salicilna kiselina najefektivnije deluje pri koncentraciji  $10^{-2}$  M. Ranijim istraživanjima je potvrđeno da soli negativno utiču na izduživanje stabala i korena ekonomski značajnih biljnih vrsta (Jakovljević i sar., 2017).



Tabela 1. Efekat soli i različitih koncentracija salicilne kiseline na dužinu korena i izdanaka *T. aestivum*

Table 2. Effect of salt and different concentrations of salicylic acid on the root and shoot length of *T. aestivum*

Tretman <i>Treatment</i>	Dužina korena (mm) <i>Root length (mm)</i>	Dužina izdanka (mm) <i>Shoot length (mm)</i>
0,1M NaCl	1,2 ± 0,13	5,09 ± 0,42
0,1M NaCl + SA 10 <sup>-2</sup> M	1,56 ± 0,09	9,51 ± 0,33
0,1M NaCl + SA 10 <sup>-3</sup> M	2,67 ± 0,24	8 ± 0,32
0,1M NaCl + SA 10 <sup>-4</sup> M	2,04 ± 0,19	6,91 ± 0,27
kontrola <i>control</i>	9,01 ± 0,09	10,46 ± 0,08

### Efekat soli i salicilne kiseline na dužinu korena i izdanka *T. aestivum*

Vrednosti dobijene merenjem sveže mase i suve mase *T. aestivum* u ispitivanim tretmanima su značajno varirale u zavisnosti od primenjenog tretmana (Tabela 2).

Tabela 2. Efekat soli i različitih koncentracija salicilne kiseline na svežu i suhu masu *T. aestivum* (PRTI – *plant root tolerance index*; PHTI – *plant height tolerance indeks*)

Table 2. Effect of salt and different concentrations of salicylic acid on the fresh and dry weight of *T. aestivum* (PRTI – *plant root tolerance index*; PHTI – *plant height tolerance indeks*)

Tretman <i>Treatment</i>	Свежа маса (g) <i>Fresh weight</i>	Сува маса (g) <i>Dry weight</i>
0,1M NaCl	0,064 ± 0,01	0,011 ± 0,00
0,1M NaCl + SA 10 <sup>-2</sup>	0,072 ± 0,00	0,014 ± 0,00
0,1M NaCl + SA 10 <sup>-3</sup>	0,079 ± 0,00	0,017 ± 0,00
0,1M NaCl + SA 10 <sup>-4</sup>	0,090 ± 0,01	0,016 ± 0,00
kontrola <i>control</i>	0,111 ± 0,01	0,018 ± 0,00

Za svaki od korišćenih tretmana dobijene su niže vrednosti sveže i suve mase u poređenju sa vrednostima dobijenim u kontroli za isti vremenski period uzorkovanja. Stimulativni efekat na svežu i suhu masu *T. aestivum* ispoljile su sve

primenjene koncentracije salicilne kiseline u poređenju sa vrednostima dobijenim za 0,1 M NaCl. Dodatno, protektivni efekti su uslovljeni koncentracijom salicilne kiseline, pri čemu je najveća vrednost sveže mase zabeležena pri  $10^{-4}$  M, a suve pri  $10^{-3}$  M salicilne kiseline. Dobijeni rezultati ukazuju da salicilna kiselina sprečava negativno dejstvo soli na produktivnost *T. aestivum* u uslovima stresa. Pozitivni efekti salicilne kiseline na produktivnost krastavca potvrđeni su od strane Yildirim i sar. (2008).

### Efekat soli i salicilne kiseline na indeks tolerantnosti *T. aestivum*

Na osnovu podataka dobijenih merenjem dužine korena i izdanka *T. aestivum* pri stresu izazvanom solima, kao i u kombinaciji soli i različitih koncentracija salicilne kiseline, određeni su indeksi tolerancija korenova i izdanaka (Tab. 3). Indeks tolerancije varirao je u zavisnosti od primenjenog tretmana i morfološkog parametra. Analiziranjem indeksa tolerantnosti korena (RTI) može se uočiti da postoji značajan pad u vrednostima u poređenju sa kontrolom. Najbolji efekat zaštite korenovog sistema pri stresu izazvanog solima pokazuje salicilna kiselina pri koncentraciji od  $10^{-3}$  M (RTI = 29,63%). Podaci dobijeni izračunavanjem indeksa tolerantnosti izdanka (PHTI) takođe ukazuju na negativne efekte prisustva soli prilikom rastenja i razvića *T. aestivum*. Najbolji zeštitni efekat na rast izdanka *T. aestivum* pri stresnim uslovima ispoljava  $10^{-2}$  M salicilne kiseline (PHTI = 90,92%).

Tabela 3. Efekat soli i različitih koncentracija salicilne kiseline na indeks tolerantnosti korena i izdanka *T. aestivum*

Table 3. Effect of salt and different concentrations of salicylic acid on the root and stem tolerance index of *T. aestivum*

Tretman <i>Treatment</i>	RTI (%)	PHTI (%)
0,1M NaCl	13,82	48,66
0,1M NaCl + SA $10^{-2}$	17,31	90,92
0,1M NaCl + SA $10^{-3}$	29,63	74,48
0,1M NaCl + SA $10^{-4}$	22,64	66,06
kontrola <i>control</i>	100	100

### Zaključak

Prisustvo soli u najranijim stupnjevima rastenja i razvića *T. aestivum* negativno utiče na morfološke i fiziološke karakteristike klijanaca. Salicilna kiselina ostvaruje značajne protektivne efekte pri rastenju i razviću korena i izdanka, i ostvaruje

pozitivne efekte u pogledu produktivnost pšenice u uslovima stresa izazvanog solima, pri čemu su najpovoljnije koncentracije  $10^{-2}$  M i  $10^{-3}$  M.

### Literatura

- Anaya F., Fghire R., Wahbi S., Loutfi K (2018). Influence of salicylic acid on seed germination of *Vicia faba* L. under salt stress. Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences, 17, 1-8.
- Ashraf, M., Foolad, M.R. (2005): Pre-sowing seed treatment - a shotgun approach to improve germination, plant growth and crop yield under saline and non-saline conditions. Advances in Agronomy, 88, 225-271.
- Cassaniti C., Romano D., Hop M.E.C.M., Flowers T.J. (2013). Growing floricultural crops with brackish water. Environ. Exp. Bot., 92, 165-175.
- Gengmao Z., Yu H., Xing S., Shihui L., Quanmei S., Changhai W. (2015). Salinity stress increases secondary metabolites and enzyme activity in safflower. Industrial Crops and Products, 64, 175- 181.
- Hamada Abdelgawad G. Z., Hegab M. M., Pandey R., Asard H., Abuelsoud W. (2016). High salinity induces different oxidative stress and antioxidant responses in maize seedlings organs. Frontiers in Plant Science, 7, 276.
- Jakovljević, D. Z., Topuzović, M. D., Stanković, M. S., Bojović, B. M. (2017). Changes in antioxidant enzyme activity in response to salinity-induced oxidative stress during early growth of sweet basil. Horticulture, Environment, and Biotechnology, 58(3), 240-246.
- Liyana Pathirana C. M., Shahidi F. (2005). Antioxidant activity of commercial soft and hard wheat. (*Triticum aestivum* L.) as affected by gastric pH conditions. Journal of agricultural and food chemistry, 53(7), 2433-2440.
- Parihar P., Singh S., Singh R., Singh V.P., Prasad S.M. (2015). Effect of salinity stress on plants and its tolerance strategies: a review. Environ. Sci. Pollut. R., 22 (6), 4056-4075.
- Peña R. J.(2007). Current and future trends of wheat quality needs. In: Buck H.T, Nisi J.E, Solomon N (eds.). Wheat production in stressed environments. Springer, 411-425.
- Shewry P. R. (2007). Improving the protein content and composition of cereal grain. Journal of Cereal Science, 46(3), 239-250.
- Taiz L., Zeiger E. (2010). Plant Physiology, Fifth Edition. Sinauer Associates. Sunderland, MA
- Živković, S., Dević, M., Filipović, B., Giba, Z., Grubišić, D. (2007): Efekat natrijum-hlorida na klijanje semena kod nekih vrsta roda *Centaurium* Hill. (Gentianaceae). Archives of Biological Sciences, 59:227-231.
- Yildirim, E., Turan, M., Guvenc, I. (2008). Effect of foliar salicylic acid applications on growth, chlorophyll, and mineral content of cucumber grown under salt stress. Journal of plant nutrition, 31:593-612.

**PROTECTIVE EFFECT OF SALICYLIC ACID ON THE GROWTH AND DEVELOPMENT OF *Triticum aestivum* L. UNDER SALT-INDUCED STRESS**

*Biljana Bojović, Jovana Momčilović, Milica Kanjevac, Milan Stanković, Dragana Jakovljević*

**Abstract**

The aim of this study was to examine the effect of different concentration of salicylic acid on the growth and development of *T. aestivum* under salt-induced stress. The applied treatments included 0,1 M NaCl and  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$  i  $10^{-4}$  M salicylic acid. According to obtained results it may be concluded that salt-induced stress induce negative effects on growth and development of *T. aestivum*, whereas salicylic acid has protective effects under salt-stress conditions. However, the effects of salicylic acid are dose dependent. The best protective effects are under the concentrations of  $10^{-2}$  i  $10^{-3}$  M salicylic acid.

**Key words:** salicylic acid, stress, salt, *Triticum aestivum*

---

<sup>1</sup>Univerzitet u Kragujevcu, Prirodno-matematički fakultet, Radoja Domanovića 12, Kragujevac, Srbija ([biljana.bojovic@pmf.kg.ac.rs](mailto:biljana.bojovic@pmf.kg.ac.rs));

## UTICAJ SADRŽAJA FENOLNIH JEDINJENJA NA KVALITET RAZLIČITIH VRSTA PIVA

*Dragana Stanisavljević<sup>1</sup>, Svetlana Lakićević<sup>1</sup>, Aleksandra Cvetković<sup>1</sup>,  
Nemanja Ristić<sup>1</sup>, Predrag Ilić<sup>2</sup>*

**Izvod:** Pivo je penušavo osvežavajuće piće karakteristične arome i prijatno gorkog ukusa. Sadržaj ukupnih fenola, kao i sadržaj ukupnih flavonoida u odabranim uzorcima piva pokazuje značajne razlike u zavisnosti od vrste piva i kreće se u rasponu od 95,0 mg galne kis./l do 482,3 mg galne kis./l, odnosno 21,3 mg katehina/l do 85,1 mg katehina/l. Najmanji sadržaj fenolnih jedinjenja i antioksidativnu aktivnost imaju piva koja predstavljaju idealnu kombinaciju lakog svetlog piva i osvežavajućeg bezalkoholnog pića, dok pivo Budweiser ima najveći sadržaj ukupnih fenola, ukupnih flavonoida, kao i najveću antioksidativnu aktivnost. Prisustvo fenolnih komponenti je bitno i zbog senzornih karakteristika koje mogu da daju pivu.

**Gljučne reči:** pivo, ukupni fenoli, ukupni flavonoidi, antioksidativna aktivnost, senzorne karakteristike

### Uvod

Pivo je kompleksno piće. Sadrži preko 800 različitih komponenti, od kojih mnoge poseduju bioaktivna svojstva. Neke su posledica upotrebe različitih sirovina, koje u toku proizvodnje ostaju nepromenjene, dok su neke posledica hemijskih i biohemijskih transformacija nastalih u toku komljenja, kuvanja, fermentacije i odležavanja (Briggs i sar., 2004). Zajedno, sve ove komponente daju jedinstven karakter pivu. Međutim, razni tipovi piva imaju sličan, a opet različit hemijski sastav (Briggs i sar., 2004). Prema Pravilniku o kvalitetu piva 145/14, pivo se kategorizuje i stavlja u promet pod različitim nazivima, a jedno od njih je i „lako pivo“, ako sadrži najviše 3% vol. alkohola. Pivo kao potpuno prirodan i biološki uravnotežen proizvod, zbog svog niskog sadržaja alkohola, prisutnih nutrijenata predstavlja odličnu osnovu za dobijanje novih proizvoda sa dodatkom vrednošću (Leskošek–Čukalović i sar., 2007). Piva sa dodatkom bilja – datiraju još iz drevnog Egipta kada su se tradicionalno koristili anis i šafran, kojima se u srednjem veku pridružuju kim, hajdučka trava, pelen, lincura, ruzmarin, bunika itd. (Yeo i Liu, 2014). U želji da pridobije i ženski deo populacije, 2005. godine pivara Carlsberg je plasirala na tržište Karlu, mešavinu piva (min. 70%) i voćnih sokova sa dodatkom vitamina, folne kiseline, lecitina i matičnjaka i sadržajem alkohola od 1%

<sup>1</sup>Akademija strukovnih studija Južna Srbija, Odsek za poljoprivredno-prehrambene studije Prokuplje, Ćirila i Metodija 1, 18400 Prokuplje, Srbija (draganastanisavljevic72@gmail.com);

<sup>2</sup>Univerzitet u Nišu, Filozofski fakultet, Ćirila i Metodija 2, 18000 Niš, Srbija.

v/v. Cilj je bio dobiti prirodan proizvod koji doprinosi poboljšanju opšteg zdravstvenog stanja i koji je preventiva u borbi protiv osteoporoze. Trendovi velikih pivarskih korporacija se vrlo sporo menjaju, te većina proizvodi tradicionalno najpopularnija lager piva (Howard, 2014). Pored njih, blagi rast u proizvodnji beleže i manje standardni proizvodi kao što su: laka (dijet) piva, bezalkoholna piva, piva sa različitim aromama, bezglutenska piva i radleri (Thacker, 2016). Poznato je da pivo sadrži prirodne antioksidante (polifenole) koji pozitivno deluju na zdravlje (Singh i sar., 2007) i doprinose njegovom ukusu i boji. Njihovo prisustvo uslovljeno je u najvećoj meri upotrebljenim sirovinama i vrstom piva, a većina njih potiče od slada i hmelja (Briggs i sar., 2004). Kao biološki uravnoteženo piće pivo predstavlja bogat izvor nutritivno i farmakološki aktivnih sastojaka poput vitamina, minerala i antioksidanasa, pa se sa pravom često naziva "tečnim hlebom".

### Materijal i metode rada

Za analizu su korišćena 4 različita piva (Budweiser, Twist breskva, Twist zova, Twist limun) kupljena u lokalnim marketima u Srbiji. Proučavanja su obuhvatila ispitivanje sadržaja fenolnih komponenti, antioksidativne aktivnosti, kao i senzornu analizu piva. Analiza je obavljena u laboratoriji Odseka za poljoprivredno-prehrambene studije Akademije strukovnih studija Južna Srbija uz korišćenje odgovarajuće aparature i reagenasa. Uzorci su takođe i organoleptički testirani na osnovu čega je utvrđen njihov krajnji kvalitet. Ocenjivanje je vršeno po DLG šemi senzornog vrednovanja i vrednosti su upisivane u ocenjivački list za pivo.

**Određivanje sadržaja ukupnih fenola:** Ukupni sadržaj fenolnih jedinjenja određivan je metodom po Folin-Ciocalteu (Singleton i Rossi, 1965). Analiziranim uzorcima piva od 0,1ml, dodata je destilovana voda (7,9 ml), Folin Ciocalteu reagens (0,5 ml) i vodeni rastvor  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  (1,5 ml,  $\omega=20\%$ ). Nakon inkubacije od 30 minuta na tamnom mestu merena je apsorbancija reakcione smeše na 765 nm u odnosu na slepu probu, na spektrofotometru (GENESYS 10S UV-VIS). Koristeći jednačinu standardne prave ( $R^2=0,9960$ ) izračunat je sadržaj ukupnih fenolnih jedinjenja i izražen kao mg galne kiseline/l piva.

**Određivanje ukupnih flavonoida:** Određen je spektrofotometrijskom metodom sa aluminijum hloridom, koja se zasniva na stvaranju kompleksa flavonoidi-aluminijum (Zhishen i sar., 1999). U uzorak piva od 1,0 ml, u nultom trenutku dodat je rastvor  $\text{NaNO}_2$  (0,3 ml, 0,5% rastvora). Nakon 5 minuta dodat je rastvor  $\text{AlCl}_3$  (0,3 ml, 10% rastvor). U šestom minutu dodat je rastvor  $\text{NaOH}$  (2 ml, 1 mol/dm<sup>3</sup>) i 2,4 ml destilovane vode. Merena je apsorbancija reakcione smeše u odnosu na destilovanu vodu na 510 nm. Kao standard korišćen je katehin, a ukupan saržaj flavonoida je izražen kao mg katehina/l piva i izračunat pomoću jednačine standardne prave ( $R^2=0,9990$ ).

Antioksidativna aktivnost piva određena je DPPH testom (Brand-Williams i sar., 1995), koristeći seriju razblaženja piva (1, 2, 5, 8, 10 i 25,0 ml/ml). Vrednost

EC<sub>50</sub> izračunata je na osnovu eksperimentalnih podataka korišćenjem sigmoidne nelinearne metode pomoću programa Sigma Plot 2000 Trial).

**Senzorna analiza uzoraka piva:** Test je sproveden na 20 subjekta, potrošača (laika), od kojih 10 muškog i 10 ženskog pola, starosnog profila od 20 do 60 godina. Temperatura svih poslužениh uzoraka je bila unutar određenih granica. Uzorci se probani jedan po jedan, sa leva na desno. Osećaj mirisa i ukusa između svakog uzorka neutraliziran je krekerima. Uzorci su prezentovani u staklenim čašama sa šiframa, i ocenjeni sistemom bodovanja od 1 do 5 (1-najniža ocena, 5-najviša ocena). Testirani su miris, ukus, punoća ukusa, gorčina, recentnost.

**Statistička analiza** Svi testovi su urađeni u triplikatu. Dobijeni eksperimentalni podaci obrađeni su odgovarajućim metodama koristeći paket Origin 8.0, Microsoft Excell 2007 i Sigma Plot Trial 2000.

### Rezultati istraživanja i diskusija

Karakteristike analiziranih komercijalnih piva date su tabelom 1, a rezultati spektrofotometrijskog određivanja sadržaja ukupnih fenola i flavonoida različitih vrsta piva, prikazani su u tabeli 2.

Tabela 1. Karakteristike analiziranih komercijalnih piva  
*Table 1.Characteristics of the analyzed commercial beers*

Uzorak <i>Sample</i>	Brend <i>Brand</i>	Tip piva <i>Type of beer</i>	Sadržaj alkohola <i>Alcohol content</i> (%, v/v)	Zemlja porekla <i>Country of origin</i>
1	Budweiser	Svetlo	5%	Češka Republika
2	Twist breskva	Svetlo	2%	Srbija
3	Twist zova	Svetlo	2%	Srbija
4	Twist limun	Svetlo	2%	Srbija

Tabela 2. Sadržaj ukupnih fenola, flavonoida u uzorcima piva  
*Table 2. Total phenolic and flavonoid content in beer samples*

Vrsta piva <i>Type of beer</i>	Ukupni fenoli, mg galne kiseline/l <i>Total phenols, mg gallic acid/L</i>	Ukupni flavonoidi, mg katehin/l <i>Total flavonoids, mg catechin/L</i>
Budweiser	482,3±38,68	85,1±1,90
Twist breskva	95,0±25,24	30,2±2,14
Twist zova	107,3±16,04	21,3±0,58
Twist limun	358,3±28,59	49,7±0,33

<sup>a</sup>Vrednosti prikazane u tabeli date su u obliku srednja vrednost ± standardna devijacija (n=3)

<sup>a</sup>*The values shown in the table are given as mean ± standard deviation (n=3)*

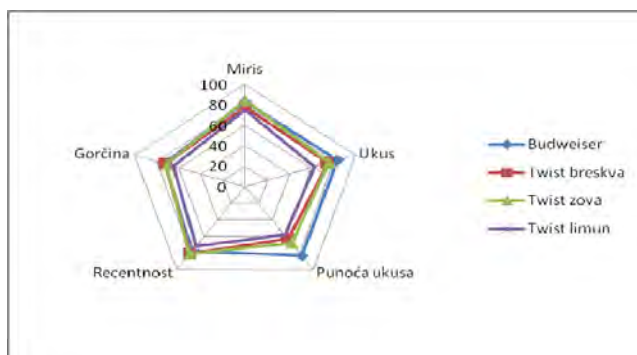
Sadržaj ukupnih fenola varira u zavisnosti od vrste piva i kreće se od 95,0 mg galne kis./l kod Twist breskva do 482,3 mg galne kis./l kod piva Budweiser (Tabela 2). Slično sadržaju ukupnih fenola, sadržaj ukupnih flavonoida u odabranim uzorcima piva pokazuje značajne razlike u zavisnosti od vrste piva i kreće se u rasponu od 21,3 mg katehina/l za Twist zova do 85,1 mg katehina/l kod Budweiser piva. Antioksidativna aktivnost ispitivanih uzoraka piva je opadala u nizu: Budweiser (0,276±0,02 ml/ml) > Twist limun (0,603±0,06 ml/ml) > Twist zova (1,054±0,09 ml/ml) > Twist breskva (1,680±0,36 ml/ml). Postoji relativno visoka korelacija između antioksidativne aktivnosti i ukupnih fenolnih jedinjenja. Rezultati ukazuju da sirovine za proizvodnju piva i sam proces proizvodnje mogu imati značajan uticaj na antioksidativnu aktivnost piva (Krofta i sar., 2008). Prisustvo fenolnih komponenti je, zbog svojih specifičnih osobina, interesantno kako sa tehnološkog, tako i fiziološkog aspekta. Jedni su od ključnih faktora odgovornih za kvalitet pene, fizičku i hemijsku stabilnost i rok trajanja. Zbog toga je ispitivanje kvaliteta vršeno uz pomoć metode koja meri stabilnost pene piva.

Tabela 3. Visina i vreme trajanja pene uzoraka  
*Table 3. The height and duration of the sampled foam*

Uzorak <i>Sample</i>	Visina pene (cm) <i>Foam height (cm)</i>	Vreme trajanja pene (min.) <i>Foam duration time (min.)</i>
Budweiser	8,0	5,2
Twist breskva	5,0	4,0
Twist zova	5,4	3,2
Twist limun	5,1	2,0



Evaluacija senzornih svojstava komercijalnih piva sprovedena od strane dvadeset ocenjivača data je grafički u vidu dole navedenog radar dijagrama.



Slika 1. Ukupna ocena senzornih karakteristika piva  
 Figure 1. The total score of sensory characteristics of beer

Što se tiče mirisa piva, najbolje je ocenjen miris Twist zova i Budweiser piva, potom miris Twist breskva, i na kraju, najlošije je ocenjen miris Twist limun piva. Najbolje je ocenjen ukus i punoća ukusa Budweiser piva, zatim ukus i punoća ukusa Twist zova, onda Twist breskva, a najlošije je ocenjen ukus i punoća ukusa Twist limun. Piva bogata antioksidansima pokazuju bolji kvalitet, ukus i aromu, stabilnost pene i duži rok trajanja u odnosu na piva sa manjim sadržajem antioksidanasa (Guido i sar., 2007), što je uglavnom u skladu sa dobijenim rezultatima. Neznatno je recentnost Twist zova i Twist breskva piva bolje ocenjena od recentnosti Budweiser piva, a najlošije je ocenjena recentnost Twist limun piva. Kao piva sa najprijetnijom gorčinom, ocenjena su Budweiser pivo, potom Twist breskva i Twist zova pivo, a poslednje mesto po pitanju ovog parametra pripalo je Twist limun pivu. Ovakvi rezultati su veoma interesantni i mogu biti od koristi proizvođačima piva koji se, poslednjih godina, trude da osvoje upravo žensku populaciju koja je tradicionalno manje zastupljena na tržištu piva. Ženske osobe po pravilu daju prednost manje gorkim pivima i onima sa kompleksnijom aromom (Muggah i McSweeney, 2017). Naravno, brojni su faktori koji se mogu pronaći kao razlog za ovakve rezultate, od demografskih do različitih unutrašnjih i spoljašnjih, objektivnih i subjektivnih (Gabrielyan i sar., 2014).

## Zaključak

Sadržaj ukupnih fenola i flavonoida varira u zavisnosti od tipa piva i kreće se od 95,0 mg galne kiseline /l kod Twist breskva piva do 482,3 mg galne kiseline /l kod Budweiser piva, odnosno od 21,3 mg katehina/l kod Twist zova piva do 85,1 mg katehina/l kod Budweiser piva. Uzorak Budweiser piva imao je najveći sadržaj polifenolnih materija i najveću antioksidativnost. Rezultati senzorne analize pokazali su da je po pitanju ukusa, mirisa i punoće ukusa najbolje ocenjeno

Budweiser pivo, dok je recentnost Twist zova i Twist breskva piva bila neznatno ispred recentnosti ostalih piva. Po pitanju parametra gorčine Budweiser pivo je ocenjeno kao pivo sa najprijatnijom gorčinom.

### Literatura

- Briggs D., Boulton C., Brookes P. and Stevens R. (2004). 'Chemical and physical properties of beer'. 1 st Edition [Elsevier](#) Cambridge, United Kingdom: 662-712.
- Brand-Williams W., Cuvelier M.E., Berset C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food Science and Technology*. 28 (1): 25-30.
- Gabrielyan G., McCluskey J. J., Marsh T. L. and Ross, C. F. (2014). Willingness to pay for sensory attributes in beer. *Agricultural and Resource Economics Review*. 43(1): 125-39.
- Guido L.F., Curto A.F., Boivin P., Benismail N., Goncalves C.R., Barros A.A. (2007). Correlation of malt quality parameters and beer flavor stability: multivariate analysis. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 55(3): 728-733.
- Howard P. H. (2014). Too big to Ale? Globalization and consolidation in the beer industry. *The Geography of beer*. Springer Dordrecht, The Netherlands: 155-165.
- Krofta K., Mikyska A., Haskova D. (2008). Antioxidant characteristics of hops and hop products. *Journal of the Institute of Brewing*. 114(2): 160-166.
- Leskošek-Čukalović I., Jelačić S., Nedović V., Ristić M. and Dordević S. (2007). Functional drinks and phytopharmaceuticals based on beer and medicinal herbs. In: *Proceedings of 31st European Brewing Convention Congress*. Venice, Italy, 113: 1012-1024.
- Muggah E.M., McSweeney M.B. (2017). Females' attitude and preference for beer: a conjoint analysis study. *International Journal of Food Science and Technology*. 52(3): 808-816.
- Pravilnik o kvalitetu piva, Službeni glasnik Republike Srbije, broj 145/14, član 4.
- Singh N., Sharma R. and Balapure A. K. (2007). pH regulated scavenging activity of beer antioxidants through modified DPPH assay. *Toxicology and industrial health*. 23(2): 75-81.
- Singleton V.L., Rossi J.A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*. 16 (3): 144-158.
- Thacker K. (2016). 'Beverage Trend Forecast: Beer Trends for 2017.
- Yeo H. Q. and Liu S. Q. (2014). An overview of selected specialty beers: Developments, challenges and prospects. *International journal of food science & technology*. 49(7): 1607-1618.
- Zhishen J., Mengheng T., Jianming, W. (1999). The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chemistry*. 64 (4): 555-559.

## INFLUENCE OF THE CONTENT OF PHENOLIC COMPOUNDS ON THE QUALITY OF DIFFERENT KINDS OF BEER

*Dragana Stanisavljević<sup>1</sup>, Svetlana Lakićević<sup>1</sup>, Aleksandra Cvetković<sup>1</sup>,  
Nemanja Ristić<sup>1</sup>, Predrag Ilić<sup>2</sup>*

### Abstract

Beer is a sparkling refreshing drink with a characteristic aroma and a pleasant bitter taste. The total phenolic content as well as the total flavonoid content in selected beer samples shows significant differences depending on the type of beer and ranges from 95.0 mg GAE/L to 482.3 mg GAE/L, respectively and 21.3 mg catechin/L for up to 85.1 mg catechin/L. Beers have the lowest content of phenolic compounds and antioxidant activity, which is the ideal combination of soft light beer and refreshing nonalcoholic drink, while beer Budweiser has the highest content of total phenols, total flavonoids, as well as the highest antioxidant activity. The presence of phenolic components is also important because of the sensory characteristics they can give to beer.

**Key words:** beer, total phenols, total flavonoids, antioxidant activity, sensory characteristics

---

<sup>1</sup>Academy of Vocational Studies Southern Serbia – Department of Agricultural and Food Technology, 1 Ćirila i Metodija St, 18400 Prokuplje, Serbia (draganastanisavljevic72@gmail.com);

<sup>2</sup>University of Nis, Faculty of Philosophy, 2 Ćirila i Metodija St, 18000 Niš, Serbia.



## PRELIMINARY ASSESSMENT OF FATTY ACID PROFILE IN ROSEHIP SEEDS: APPLICATION OF ULTRASOUND-ASSISTED EXTRACTION

*Dušan Vasić<sup>1</sup>, Dragana Paunović, Bojana Špirović Trifunović, Jelena Miladinović, Lazar Vujošević, Ilinka Pećinar, Jelena Popović-Đorđević<sup>1</sup>*

**Abstract:** Rosehip seeds represent waste material which is obtained during the production of jams, marmalades, juices, teas, etc. Two methods were used for the extraction of fatty acids from rosehip seeds: ultrasound-assisted extraction combined with organic solvent extraction (UAE/OSCE) and organic solvent conventional extraction (OSCE). Different solvent-to-sample ratio was used. The identification and quantitation of fatty acids was done by gas chromatography with a flame ionization detector (GC/FID). Applied methods yielded different types of fatty acids, with stearic acid and linoleic acid, as the most abundant ones.

**Key words:** rosehip seed, fatty acids, ultrasound-assisted extraction, GC-FID

### Introduction

Dog rose (*Rosa canina* L.) is widespread in almost all of Europe, western and northern Asia and Africa (Nowak, 2005). In Serbia it can be found on Fruška Gora, Kopaonik, Avala, Suva Planina, Stara Planina, etc. (Mratinić and Kojić, 1998). The pseudo-fruit of the dog rose is known as rosehip, which can be used as a component of functional food, as well as in cosmetics and pharmaceuticals, because it is rich in bioactive compounds, especially antioxidants and essential elements (Ercisli et al., 2007; Ilyasoğlu, 2014; Paunović et al., 2019). Rosehip fruits contain 30-35% of seeds, and the content of oil in seeds may vary from 3-7 % depending on applied extraction method (Zlatanov, 1999; Dabrowska et al., 2019).

The ultrasonic-assisted (or ultrasound-assisted) extraction technique (UAE) was used as a supplementary technique for extracting oils from the seeds. The advantages of this extraction technique over other methods are: increased efficiency, reduction of the extraction time period and often better quality of the extract (Cravotto et al., 2008). The ultrasonic-assisted extraction does not require high temperatures; on the contrary, this technique can be carried out at low temperature which contributes to the preservation of the extracts bioactive compounds (Yuting et al., 2013). To obtain maximum results this method requires optimization of UAE parameters (ultrasonic power, extraction time and temperature, as well as the ratio of dissolvent volume to seed weight) (Yuting et al., 2013).

---

<sup>1</sup>University of Belgrade-Faculty of Agriculture, Belgrade, Serbia ([jelenadij@agrif.bg.ac.rs](mailto:jelenadij@agrif.bg.ac.rs) ; [vasic449@gmail.com](mailto:vasic449@gmail.com))

The aim of this work was the extraction of fatty acids from rosehip seeds using different methods, and their identification by gas chromatography (GC) with flame ionization detector (GC-FID) after derivatization with  $\text{BF}_3/\text{MeOH}$  reagent.

## Material and methods

Rosehip (*Rosa canina* L.) originated from the vicinity of Čačak city (Republic of Serbia) were purchased at the local market in the autumn of 2018.

Prior to analyzing fatty acid (FA) content, rosehip samples were prepared by the following procedure: the seeds were first separated from the mesocarp of the fruit. Further, seeds were air-dried and then ground using a blender. Two methods for the extraction of fatty acids from the rosehip seeds have been used: ultrasound-assisted extraction combined with organic solvent extraction (UAE/OSCE) and organic solvent conventional extraction (OSCE). Samples of ground seeds were weighed on an analytical balance into glass vials and appropriate volumes of solvent (*n*-heptane) were added. Solvent-to-sample ratio (S/S) was 3:1, 4:1 and 5:1 for UAE/OSCE (samples 1-3) and 3:1 for OSCE (sample 4). Ultrasound was applied for 1.5 hours. After that period, samples were subjected to OSCE for additional 68 hours. OSCE was performed within 70 hours (with occasional shaking). All extractions were performed at room temperature (~23 °C).

After solvent evaporation 1 ml of hexane was added in lipid fraction for its dissolution and better efficiency of derivatization with 14 % Boron trifluoride methanol reagent. To complete derivatization reaction, mixture was heated at 100 °C for one hour. Fatty acid methyl esters (FAMES) were extracted in hexane phase after addition of water, and then analyzed with GC-FID (Barać et al., 2018).

Fatty acid content calculated as mg/g lipid and expressed as a relative amount of total fatty acids expressed in percent (%) was identified by comparing the retention times with the peaks of the analytical standard acid mix containing 37 acids (Supelco, Bellefonte, SAD).

## Results and discussion

The results obtained for fatty acid (FA) composition of rosehip seeds lipid fraction by the application of two methods are presented in Table 1. Three samples (1-3) were subjected to ultrasound-assisted extraction combined with organic solvent extraction (UAE/OSCE) while one sample (4) was extracted by conventional organic solvent method (OSCE). The most abundant FA in studied rosehip seed oil samples was stearic acid (48.11%), followed by linoleic acid (35.38%), palmitoleic acid (33.78%) and eicosadienoic acid (30.57%). Among detected fatty acids only four were identified as saturated (stearic, arachidic, heneicosanoic and behenic acid). The other fatty acids were detected and identified as monounsaturated and polyunsaturated fatty acids (Table 1).

Table 1. Content of fatty acids in samples obtained by different extraction methods  
 Tabela 1. Sadržaj masnih kiselina u uzorcima dobijen različitim metodama ekstrakcije

Extraction method <i>Metod ekstrakcije</i>		UAE/OSCE			OSCE
Sample <i>Uzorak</i>		1	2	3	4
	Fatty acid <i>Masna kiselina</i>	Content of FA (%) <i>Sadržaj MK (%)</i>			
C14:1	miristoleic	/*	/	9.60	/
C16:1	palmitoleic	18.25	9.59	31.59	33.78
C17:1	<i>cis</i> -10-heptadecanoic	/	/	7.29	/
C18	stearic	/	/	2.30	48.11
C18:1n9c	oleic	9.3	/	11.53	18.12
C18:2n6c	linoleic	13.88	35.38	/	/
C18:3n3	$\alpha$ -linoleic	/	/	7.12	/
C20	arachidic	7.58	28.21	/	
C20:2	eicosadienoic acid	/	/	30.57	/
C20:3n6	<i>cis</i> -8,11,14-eicosatrienoic	23.12	/	/	/
C20:3n3	<i>cis</i> -11,14,17-eicosatrienoic	14.69	/	/	/
C20:4n6	arachidonic	13.17	/	/	/
C21	heneicosanoic	/	21.43	/	/
C22	behenic	/	5.39	/	/
$\Sigma$ SFA		7.58	55.03	2.30	48.11
$\Sigma$ UFA		92.42	44.97	97.70	51.89
$\Sigma$ MUFA		18.25	9.59	60.01	51.89
$\Sigma$ PUFA		74.17	35.38	37.69	0

\* / - not detected;  $\Sigma$ SFA - sum of saturated fatty acids;  $\Sigma$ UFA - sum of unsaturated fatty acids;  $\Sigma$ MUFA - sum of monounsaturated fatty acids;  $\Sigma$ PUFA - sum of polyunsaturated fatty acids

\* / - nije detektovano;  $\Sigma$ SFA - ukupno zasićenih masnih kiselina;  $\Sigma$ UFA - ukupno nezasićenih masnih kiselina;  $\Sigma$ MUFA - ukupno mononezasićenih masnih kiselina;  $\Sigma$ PUFA - ukupno polinezasićenih masnih kiselina

Samples 1 and 4 had the same solvent-to-sample ratio (S/S- 3/1), but it is evident that the method of extraction affected on the number of detected fatty acids. The most abundant FA in sample 1 was *cis*-8,11,14-eicosatrienoic, while the dominant FA in sample 4 was stearic acid. Unlike other long-chain saturated fatty

acids, stearic acid has no effect on cholesterol lipoprotein concentration (Yu et al., 1995). Palmitoleic acid is an omega-7 UFA and it is a common constituent of human adipose tissue glycerides, and it has been shown to have an antithrombotic effect meaning it can prevent stroke (Stedman, 1995; Parveez et al., 2012; Orsavova et al., 2016). Palmitoleic acid was detected in all samples in this experiment. Oleic acid, detected in samples 1, 3 and 4, is an omega-9 fatty acid and it is one of the most widespread fatty acids in nature (Stedman, 1995). Linoleic acid is one of two essential fatty acids for humans and have a very important role in metabolism (MacDonald, 2000). In our study this FA detected in two samples (1 and 2).

Similar research was conducted by Nowak (2005), Machmudah et al. (2007) and Kazaz et al. (2009), but with use of different extraction methods. In research of Nowak (2005) it was found that the predominant acid in rosehip seeds was oleic, while saturated acids palmitic, stearic and *cis*-11,14-eicosadienoic were present in the traces. Machmudah et al. (2007) found  $\gamma$ -linoleic and stearic acid in rosehip seeds. Kazaz et al. (2009) also analyzed rosehip seed and as the dominant acids they obtained oleic and  $\gamma$ -linoleic acid, while stearic acid was found in a small amount. Obtained results of Zlatanov (1999) indicated that the highest concentration of oleic acid in rosehip seeds was in agreement with the samples of other authors (Nowak, 2005; Ilyasoğlu, 2017). Javanmard et al. (2018) and Ilyasoğlu (2017) found equal amounts of oleic and  $\gamma$ -linoleic acid.  $\gamma$ -Linoleic acid is an isomer of  $\alpha$ -linoleic acid and belongs to the group of omega-6 fatty acids. In our study  $\alpha$ -linoleic was detected only in sample 3. Differences in the composition and amount of fatty acids in rosehip seed oil can be the result of different climatic, soil, environmental and genetic factors.

## Conclusion

According to the obtained results, applied extraction methods, as well as the sample-to-solvent ratio had influence on the composition of fatty acids and their relative amounts. Among saturated and unsaturated FA, stearic acid and linoleic acid, respectively, were the most abundant ones. The results obtained in this experiment open the possibility for further studies in this topic.

## Acknowledgment

This work was supported by the Ministry of Education, Science and Technological Development of the Republic of Serbia (Research grants Nos. 46001 and 46009).



## References

- Barać M., Kresojević M., Špirović Trifunović B., Pešić M., Vučić T., Kostić A., Despotović S. (2018). Fatty acid profiles and mineral content of Serbian traditional white brined cheeses. *Traditional white brined cheeses, Mljekarstvo*. 68: 37-45.
- [Cravotto G., Boffa L., Mantegna S., Perego P., Avogadro M., Cintas P.](#) (2008). Improved extraction of vegetable oils under high-intensity ultrasound and/or microwaves. *Ultrasonics Sonochemistry*. 15(5): 898-902.
- Dabrowska M., Maciejczyk E., Kalemba D. (2019). Rose hip seed oil: methods of extraction and chemical composition. *European Journal of Lipid Science and Technology*. 121(8): 1800440.
- Ercisli S. (2007). Chemical composition of fruits in some rose (*Rosa* spp.) species. *Food Chemistry*. 104(4): 1379-1384.
- Ilyasoğlu H. (2014). Characterization of Rosehip (*Rosa canina* L.) Seed and seed oil. *International Journal of Food Properties*. 17(7):1591-1598.
- Javanmard M., Ali Asadi-Gharneh H., Nikneshan P. (2018). Characterization of biochemical traits of dog rose (*Rosa canina* L.) ecotypes in the central part of Iran. *Natural Product Research*. 32(14):1738-1743.
- Kazaz S., Baydar H., Erbas S. (2009). Variations in chemical compositions of *Rosa damascena* Mill. and *Rosa canina* L. fruits. *Czech Journal of Food Science*. 27: 178-184.
- MacDonald H.B. (2000). Conjugated linoleic acid and disease prevention: a review of current knowledge. *Journal of the American College of Nutrition*. 19: 111-118.
- Machmudah S., Kawahito Y., Sasaki M., Goto, M. (2007). Supercritical CO<sub>2</sub> extraction of rosehip seed oil: Fatty acids composition and process optimization. *Journal of Supercritical Fluids*. 41: 421-428.
- Mratinić E., Kojić M. (1998). *Samonikle vrste voćaka Srbije*. Institut za istraživanja u poljoprivredi, Beograd.
- Nowak R. (2005). Chemical composition of hips essential oils of some *Rosa* L. species. *Zeitschrift fur Naturforschung*. 60: 369-378.
- Orsavova J., Misurcova L., Ambrozova J.V., Vicha R., Mlcek J. (2015). Fatty acids composition of vegetable oils and its contribution to dietary energy intake and dependence of cardiovascular mortality on dietary intake of fatty acids. *International Journal of Molecular Sciences*. 16: 12871-12890.
- Paunović D., Kalušević A., Petrović T., Urošević T., Djinović D., Nedović V., Popović-Djordjević J. (2019). Assessment of chemical and antioxidant properties of fresh and dried rosehip (*Rosa canina* L.). *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*. 47: 108-113.
- Parveez G.K.A., Rasid O.A., Hashim A.T., Ishak Z., Rosli S.K., Sambanthamurthi R. (2012). Palm oil: Production, processing, characterization, and uses. pp. 87-135. Hardback.

- Stedman T.L. (1995). Stedman's Medical Dictionary. Williams & Wilkins, Baltimore, Maryland.
- Yu S., Derr J., Etherton T.D., Kris-Etherton P.M. (1995). Plasma cholesterol-predictive equations demonstrate that stearic acid is neutral and monounsaturated fatty acids are hypocholesterolemic. *The American Journal of Clinical Nutrition*. 61: 1129-1139.
- Yuting T., Zhenbo X., Baodong Z., Martin Y.L. (2013). Optimization of ultrasonic-assisted extraction of pomegranate (*Punica granatum* L.) seed oil. *Ultrasonics Sonochemistry*. 20: 202-208.
- Zlatanov M.D. (1999). Lipid composition of Bulgarian chokeberry, black currant and rose hip seed oils. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 79(12): 1620-1624.

## PRELIMINARNO ISPITIVANJE SASTAVA MASNIH KISELINA U SEMENKAMA ŠIPURKA: PRIMENA ULTRAZVUČNE EKSTRAKCIJE

*Dušan Vasić<sup>1</sup>, Dragana Paunović, Bojana Špirović Trifunović, Jelena Miladinović, Lazar Vujošević, Ilinka Pećinar, Jelena Popović-Đorđević<sup>1</sup>*

**Izvod:** Semenke šipurka predstavljaju otpadni materijal, bogat uljem, koji nastaje tokom proizvodnje džemova, marmelada, sokova, čajeva itd. Za ekstrakciju masnih kiselina iz semenki šipurka korišćene su dve metode: ultrazvučna ekstrakcija u kombinaciji sa ekstrakcijom organskim rastvaračem (UZE/KEOR) i konvencionalna ekstrakcija organskim rastvaračem (KEOR). Korišćeni su različiti odnosi zapremine rastvarača i mase uzoraka. Identifikacija i kvantifikacija masnih kiselina izvršena je metodom gasne hromatografije sa plameno-jonizujućim detektorom (GC/FID). Primenjenim ekstrakcionim metodama dobijene su različite masne kiseline, od kojih su stearinska i linolna bile najzastupljenije.

**Ključne reči:** semenke šipurka, masne kiseline, ultrazvučna ekstrakcija, GC-FID

---

<sup>1</sup>Univerzitet u Beogradu-Poljoprivredni fakultet, Nemanjina 6, Beograd, Srbija  
([jelenadj@agrif.bg.ac.rs](mailto:jelenadj@agrif.bg.ac.rs); [vasic449@gmail.com](mailto:vasic449@gmail.com));

## **IN VITRO ANTIGENOTOKSIČNA AKTIVNOST ETANOLSKIH EKSTRAKATA KORENA BILJKE *Salvia verticillata* L. DOBIJENIH RAZLIČITIM METODAMA EKSTRAKCIJE**

*Nikola Srećković<sup>1</sup>, Vladimir Mihailović<sup>1</sup>, Jelena S. Katanić Stanković<sup>2</sup>, Sanja Matić<sup>2</sup>, Snežana Stanić<sup>3</sup>*

**Izvod:** U cilju evaluacije DNK protektivnog potencijala etanolskih ekstrakata korena biljke *S. verticillata* dobijenih različitim metodama ekstrakcije od oštećenja koja su indukovana hidroksil i peroksil radikalima primenjena su dva *in vitro* testa. Za ekstrakciju korena biljke sa etanolom kao rastvaračem primenjene su tri različite metode: etnofarmakološka, ekstrakcija maceracijom i ultrazvučna ekstrakcija. Ekstrakti su pokazali efikasno smanjenje DNK oštećenja zavisno od koncentracije, gde sa porastom koncentracije ekstrakata opada zaštitni efekat. Uočene su neznatne razlike u DNK protektivnom potencijalu ekstrakata u zavisnosti od postupka ekstrakcije biljnog materijala.

**Ključne reči:** antigenotoksična aktivnost, *Salvia verticillata* L., hidroksil radikal, peroksil radikal

### **Uvod**

Biljke roda *Salvia*, porodice Lamiaceae, poznate su po svojim lekovitim svojstvima i širokom spektru *in vitro* i *in vivo* bioloških aktivnosti. U zavisnosti od biljnog materijala (deo biljke, lokalitet, sezona, itd) i načina ekstrakcije, postoje široke varijacije u biološkim aktivnostima biljaka ovog roda. U tradicionalnoj medicini ove biljke se koriste za tretmane različitih oboljenja. Same biljke, preparati ili bioaktivna jedinjenja izolovana iz ovih biljaka se koriste kod groznice, reumatskih bolesti, kod problema sa prekomernim znojenjem, poremećaja seksualne funkcije, hroničnog bronhitisa i različitih mentalnih bolesti (Kamatou i sar., 2005; Fu i sar., 2013).

Dosadašnja istraživanja su se uglavnom fokusirala na najrasprostranjenije biljne vrste iz roda *Salvia*. *S. verticillata* L., u narodu poznata pod nazivom "pršljenasta" ili "vretenasta žalfija", je jedna od vrsta iz roda *Salvia* koja ima obećavajući potencijal u farmakološke, kozmetičke i prehrabrene svrhe. U narodu je poznata i pod nazivom "sjeruša" zbog nekadašnje upotrebe u aromatizaciji sireva i produženja njegovog roka upotrebe. Nadzemni deo biljke se primenjuje u tradicionalnoj medicine u obliku čaja za iskašljavanje, dezinfekciju oralne šupljine i kao obloga za zarastanje rana (Jarić i sar., 2015).

<sup>1</sup>Univerzitet u Kragujevcu, Prirodno matematički fakultet, Institut za hemiju, Radoja Domanovića 12, 34000 Kragujevac, Srbija;

<sup>2</sup>Univerzitet u Kragujevcu, Institut za informacione tehnologije Kragujevac, Jovana Cvijića bb, 34000 Kragujevac, Srbija (sanjamatic@kg.ac.rs);

<sup>3</sup>Univerzitet u Kragujevcu, Prirodno matematički fakultet, Institut za biologiju i ekologiju, Radoja Domanovića 12, 34000 Kragujevac, Srbija.

Nekoliko dosadašnjih studija proučavalo je fitohemijski sastav ekstrakata nadzemnog dela biljke *S. verticillata* i identifikovalo kafeinsku kiselinu i njene derivate sa kvantitativno najprisutnijom i biološki najaktivnijom ruzmarinskom kiselinom (Tepe i sar., 2007; Öztürk i sar., 2011; Šulniūtė i sar., 2017; Katanić Stanković i sar., 2020). Do danas nije sprovedena nijedna studija o fitohemijskom sastavu i biološkim aktivnostima korena ove biljke. Međutim u narodu postoji verovanje da je etanolni ekstrakt korena sjeruše delotvoran u suzbijanju cista, menstrualnih poremećaja i drugih izraslina.

Imajući u vidu da ne postoje literaturni podaci o *in vitro* i/ili *in vivo* antigenotoksičnoj aktivnosti ove biljne vrste, cilj ove studije je bio da se utvrdi potencijalna *in vitro* DNK protektivna aktivnost ekstrakata korena biljke *S. verticillata* dobijenih različitim metodama ekstrakcije.

## Materijal i metode rada

### Biljni materijal

Biljka *S. verticillata* je sakupljana na teritoriji centralne Srbije (u selu Maršić u blizini Kragujevca), u toku oktobra 2017. godine. Vrsta je identifikovana i sistematisana u Institutu za biologiju i ekologiju Prirodno-matematičkog fakulteta, Univerziteta u Kragujevcu.

### Ekstrakcija biljnog materijala

Koren biljke *S. verticillata* je sušen na vazduhu u provetrenoj i zamračennoj prostoriji na sobnoj temperaturi. Primenjene su tri različite metode ekstrakcije sa etanolom kao rastvaračem.

Prva metoda je etnofarmakološka metoda ekstrakcije kod koje se 50 g osušenog i usitnjenog korena prelije sa 250 mL etanola, na sobnoj temperaturi uz povremeno mešanje u periodu od 20 dana.

Kod metode ekstrakcije maceracijom 100 g osušenog i usitnjenog korena se prelije sa 250 mL etanola. Nakon 24 h na sobnoj temperaturi i u mraku ekstrakt je proceden, a ostaci se preliju ponovo sa istom količinom etanola. Nakon 24 h ceo postupak se ponavlja. Po isteku novih 24 h ekstrakt se procedi i svi filtrati se spoje.

Kod metode ultrazvučne ekstrakcije 50 g osušenog i usitnjenog korena se prelije sa 250 mL etanola i postavlja se na ultrazvučno kupatilo na frekvenciji od 35 kHz 30 min. Ekstrakti dobijeni primenom navedenih metoda koncentrovani su pomoću rotacionog vakuum uparivača.

### ***In vitro* DNK zaštitna aktivnost ekstrakata biljke *S. verticillata* prema oštećenju indukovanom hidroksil radikalima**

DNK zaštitna aktivnost ekstrakata biljke *S. verticillata* u različitim koncentracijama (25, 50, 100, 200 i 400 µg/mL) prema DNK oštećenju izazvano hidroksil radikalima utvrđena je prema metodi Lin i sar. (2008). Eksperimenti su

izvedeni primenom DNK izolovane iz sperme lososa (CarlRoth, GmbH, Karlsruhe, Nemačka) kao negativne kontrole i ruzmarinske kiseline (100  $\mu\text{M}$ ) kao standarda.

Ekstrakti su rastvoreni u metanolu (1 mg/mL), i različite koncentracije (25, 50, 100, 200 i 400  $\mu\text{g/mL}$ ) odvojeno su uzete u eppendorf tube. Nakon isparavanja uzoraka do suva, dodato je 45 mL fosfatnog pufera (0.2 mol/L, pH 7.4), a zatim je u svaku tubu dodato 10  $\mu\text{L}$  rastvora DNK (10 mg/mL u NaCl), 0,9 mL 180 mmol/L  $\text{FeSO}_4$  i 3,6 mL 600 mmol/L vodonik peroksida. Nakon inkubacije na sobnoj temperaturi 15 min, doda se po 10  $\mu\text{L}$  1 mmol/L EDTA da se zaustavi reakcija. Po 10  $\mu\text{L}$  alikvota reakcione smeše nanese se na 1% agarozni gel koji sadrži etidijum bromid (10 mg/mL). Nakon elektroforeze u 1xTEA puferu pH 8.0 na sobnoj temperaturi, gelovi su vizuelizovani (UV transiluminator, Vilber Lourmat na 365 nm), fotografisani i intenzitet DNK traka kvantifikovan je korišćenjem ImageJ softvera (verzija 1.48 za Windows).

### ***In vitro* DNK zaštitna aktivnost ekstrakata biljke *S. verticillata* prema oštećenju indukovanom peroksil radikalima**

Antigenotoksični efekat ekstrakata biljke *S. verticillata* (25, 50, 100, 200 i 400  $\mu\text{g/mL}$ ) prema oštećenju DNK koje je indukovano peroksil radikalima poreklom od 2,2'-azobis (2-amidinopropan) dihidrohlorida (AAPH, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) ispitan je prema metodi Zhang i sar. (2017) sa modifikacijama. DNK izolovana iz sperme lososa (10 mg/mL u NaCl) je pomešana sa različitim koncentracijama ekstrakata (25, 50, 100, 200 i 400  $\mu\text{g/mL}$ ) i 10  $\mu\text{L}$  200 mM AAPH u PBS (pH 7,4), i smeša je inkubirana 30 min na 37°C. Po 10  $\mu\text{L}$  reakcione smeše nanese se na 1% agarozni gel sa etidijum bromidom (10 mg/mL). Nakon elektroforeze (1xTEA puferu pH 8.0 na sobnoj temperaturi) gelovi su fotografisani i intenzitet traka je kvantifikovan primenom ImageJ softvera (verzija 1.48 za Windows).

### **Statističke analize**

Rezultati su izraženi kao srednja vrednost  $\pm$  SEM, statistička analiza podataka je urađena primenom ANOVA testa korišćenjem SPSS statističkog softverskog paketa, verzija 13.0 za Windows. Nivo značajnosti je postavljen na  $p < 0,05$ .

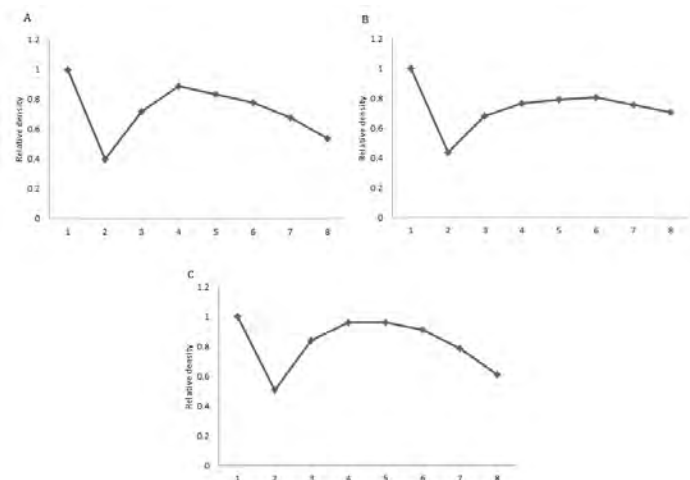
### **Rezultati istraživanja i diskusija**

Procesi oksidacije odvijaju se kako u prehrambenim, farmaceutskim i kozmetičkim proizvodima koji sadrže lipide, tako i u biološkim sistemima. Slobodni radikali u organizmu slabe kontrolne mehanizme, što za posledicu ima niz negativnih promena u ćelijama, na lancu DNK, antioksidativnim enzimima, vitaminima, lipidima, šećerima, proteinima, što dalje dovodi do različitih fizioloških i patofizioloških procesa. Primena sintetičkih antioksidanata, pored toga što uspešno rešava problem oksidacije lipida u prehrambenim i kozmetičkim

proizvodima, može imati i kancerogeni efekat (Chen i sar., 1992). Iz navedenog razloga postoji sve veća težnja za proizvodnjom i primenom prirodnih antioksidanata koji ne pokazuju pomenutu aktivnosti, a imaju i širok spektar antioksidativnog dejstva u *in vitro* i *in vivo* uslovima (Esterbauer, 1995; Cuvelier i sar., 1996).

Efikasnost zaštite etanolskih ekstrakata korena biljke *S. verticillata* dobijenih različitim metodama ekstrakcije na oksidativno oštećenje DNK indukovano  $Fe^{2+}$  i  $H_2O_2$  prikazana je na Grafikonu 1. Ekstrakti su pokazali efikasno smanjenje DNK oštećenja zavisno od koncentracije. Sa porastom koncentracije ekstrakata opada zaštitni efekat. Ekstrakti imaju veći DNK zaštitni efekat od oštećenja indukovana hidroksil radikalima u odnosu na standard, ruzmarinsku kiselinu.

Izraženije DNK protektivno delovanje ekstrakta dobijenih metodom ultrazvučne ekstrakcije (Graf. 1, C) i etnofarmakološkom metodom ekstrakcije (Graf. 1, A) najverovatnije je posledica efikasnije ekstrakcije fenolnih komponenti i drugih prirodnih antioksidanata u odnosu na ekstrakciju maceracijom (Graf. 1, B).



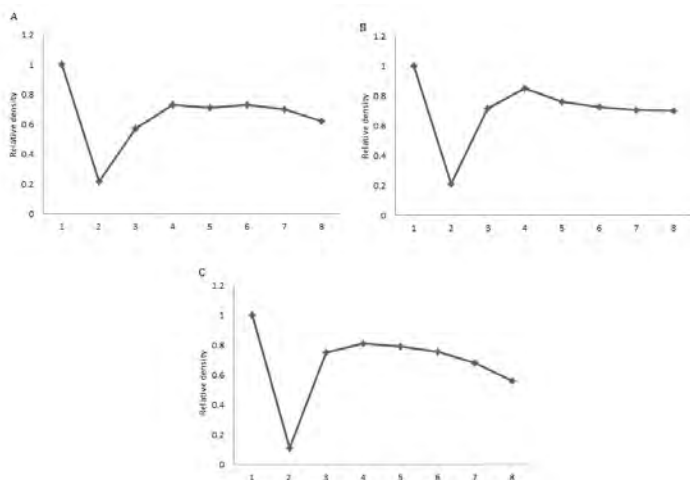
Graf. 1. Antigenotoksični efekat etanolskih ekstrakata korena biljke *S. verticillata* dobijenih A) etnofarmakološkom metodom ekstrakcije, B) metodom ekstrakcije maceracijom i C) metodom ultrazvučne ekstrakcije prema oštećenjima izazvanih hidroksil radikalima. 1: Negativna kontrola; 2: pozitivna kontrola; 3: standard ruzmarinska kiselina (100  $\mu$ M); 4–8: ekstrakti u koncentracijama 25, 50, 100, 200 i 400  $\mu$ g/mL.

Graph. 1. Antigenotoxic effect of ethanolic extracts of *S. verticillata* roots obtained by A) ethnopharmacological extraction method, B) maceration extraction method and C) ultrasonic extraction method against hydroxyl radical induced DNA damage. 1: Negative control; 2: positive control; 3: standard, rosmarinic acid (100  $\mu$ M); 4-8: extracts at concentrations of 25, 50, 100, 200 and 400  $\mu$ g/mL.

Da bi se dodatno procenila sposobnost zaštite DNK od oštećenja, izvršeno je ispitivanje DNK protektivnog efekta od oksidativnog oštećenja indukovanog peroksil radikalima poreklom od AAPH (Grafikon 2).

Kao i kod prethodne metode, DNK zaštita od oštećenja peroksil radikalima zavisi od doze, smanjuje se sa porastom koncentracije. Rezultati su pokazali da ekstrakti poseduju veći protektivni potencijal u odnosu na primenjeni standard.

Za razliku od prethodne metode DNK protektivni potencijal ekstrakata dobijenih metodom maceracije (Graf. 2, B) i etnofarmakološkom metodom ekstrakcije (Graf. 2, A) je neznatno izraženiji u odnosu na metodu ultrazvučne ekstrakcije (Graf. 2, C).



Graf. 2. Antigenotoksični efekat etanolskih ekstrakata korena biljke *S. verticillata* dobijenih A) etnofarmakološkom metodom ekstrakcije, B) metodom ekstrakcije maceracijom i C) metodom ultrazvučne ekstrakcije prema oštećenjima izazvanih peroksil radikalima. 1: Negativna kontrola; 2: pozitivna kontrola; 3: standard ruzmarinska kiselina (100 mM); 4–8: ekstrakti u koncentracijama 25, 50, 100, 200 i 400 µg/mL.

Graph. 2. Antigenotoxic effect of ethanolic extracts of *S. verticillata* roots obtained by A) ethnopharmacological extraction method, B) maceration extraction method and C) ultrasonic extraction method against peroxy radical induced DNA damage. 1: Negative control; 2: positive control; 3: standard, rosmarinic acid (100 µM); 4-8: extracts at concentrations of 25, 50, 100, 200 and 400 µg/mL.

## Zaključak

Rezultati istraživanja *in vitro* antigenotoksične aktivnosti etanolskih ekstrakata korena biljke *S. verticillata* dobijenih različitim metodama ekstrakcije pokazali su da ekstrakti poseduju znatan DNK protektivni potencijal sa neznatnim razlikama u pogledu procesa ekstrakcije. Dobijeni rezultati daju osnovu i smer daljim istraživanjima, koja će se fokusirati na ispitivanju polifenolnog sastava, antioksidativne i antimikrobne aktivnosti ekstrakata, kao i njihove eventualne mogućnosti primene u farmaceutskoj i prehrambenoj industriji.

## Literatura

- Chen Q., Shi H., Ho C.T. (1992). Effects of rosemary extracts and major constituents on lipid oxidation and soybeen lipoxygenase activity. *Journal of the American Oil Chemists' Society* 69: 999-1002.
- Cuvelier M.E., Richard H., Berset C. (1996). Antioxidative activity and phenolic composition of pilot-plant and commercial extracts of sage and rosemary. *Journal of the American Oil Chemists' Society* 73: 645-652.
- Esterbauer H. (1995). The Chemistry of oxidation of lipoproteins in oxidative stress, lipoproteins and cardiovascular dysfunction. Rice-Evans C., Bruckdorfer K.R. (eds.), 55, London: Portland Press.
- Fu Z., Wang H., Hu X., Sun Z., Han C. (2013). The pharmacological properties of *Salvia* essential oils. *Journal of Applied Pharmaceutical Science* 3(7): 122-127.
- Jarić S., Mačukanović-Jocić M., Đurđević L., Mitrović M., Kostić O., Karadžić B., Pavlović P. (2015). An ethnobotanical survey of traditionally used plants on Suva planina mountain (south-eastern Serbia). *Journal of Ethnopharmacology* 175: 93-108.
- Kamatou G.P., Viljoen A.M., Gono-Bwalya A.B., van Zyl R.L., van Vuuren S.F., Lourens A.C., Başer K.H., Demirci B., Lindsey K.L., van Staden J., Steenkamp P. (2005). The *in vitro* pharmacological activities and a chemical investigation of three South African *Salvia* species. *Journal of Ethnopharmacology* 102(3): 382-390.
- Katanić Stanković J.S., Srećković N., Mišić D., Gašić U., Imbimbo P., Monti D.M., Mihailović V. (2020). Bioactivity, biocompatibility and phytochemical assessment of lilac sage, *Salvia verticillata* L. (Lamiaceae) - A plant rich in rosmarinic acid. *Industrial Crops and Products* 143: 111932.
- Lin Y.W., Wang Y.T., Chang H.M., Wu J.S.B. (2008). DNA protection and antitumor effect of water extract from residue of jelly fig (*Ficus awkeotsang* Makino) achenes. *Journal of Food and Drug Analysis* 16: 63-69.
- Öztürk N., Tunçel M., Uysal U.D., Oncu-Kaya E.M., Koyuncu O. (2011). Determination of rosmarinic acid by high-performance liquid chromatography and its application to certain *Salvia* species and rosemary. *Food Analytical Methods* 4: 300-306
- Šulniūtė V., Pukalskas A., Pukalskas A., Venskutonis R. (2017). Phytochemical composition of fractions isolated from ten *Salvia* species by supercritical



- carbon dioxide and pressurized liquid extraction methods. *Food Chemistry* 224: 37-47.
- Tepe B., Eminagaoglu O., Akpulat H.A., Aydin E. (2007). Antioxidant potentials and rosmarinic acid levels of the methanolic extracts of *Salvia verticillata* (L.) *subsp. verticillata* and *S. verticillata* (L.) *subsp. amasiaca* (Freyn & Bornm.) Bornm. *Food Chemistry* 100 (3): 985-989.
- Zhang L.L., Zhang L.F., Xu J.G., Hu Q.P. (2017). Comparison study on antioxidant, DNA damage protective and antibacterial activities of eugenol and isoeugenol against several foodborne pathogens. *Food and Nutrition Research* 61 (1): 1353356.

## **IN VITRO ANTIGENOTOXIC ACTIVITY OF ETHANOLIC EXTRACTS OF THE *Salvia verticillata* L. ROOT OBTAINED BY DIFFERENT EXTRACTION METHODS**

*Nikola Srećković<sup>1</sup>, Vladimir Mihailović<sup>1</sup>, Jelena S. Katanić Stanković<sup>2</sup>, Sanja Matić<sup>2</sup>, Snežana Stanić<sup>3</sup>*

### **Abstract**

In order to evaluate the DNA protective potential of ethanolic extracts of the root of *S. verticillata*, prepared by different extraction methods, from damage induced by the hydroxyl and peroxy radicals two *in vitro* tests were used. For the extraction of the roots with ethanol as a solvent, three different methods were applied: ethnopharmacological, maceration and ultrasonic extraction. The extracts showed an effective concentration-dependent reduction of DNA damage, with increasing concentration of the extracts the protective effect decreases. Depending on the extraction process of the plant material, slight differences in DNA protective potential of extracts were noticed.

**Key words:** antigenotoxic activity, *Salvia verticillata* L., hydroxyl radical, peroxy radical

---

<sup>1</sup>University of Kragujevac, Faculty of Science, Department of Chemistry, Radoja Domanovića 12, 34000 Kragujevac, Serbia

<sup>2</sup> University of Kragujevac , Institute for Information Technologies Kragujevac, Jovana Cvijića bb, 34000 Kragujevac, Serbia (sanjamatic@kg.ac.rs)

<sup>3</sup>University of Kragujevac, Faculty of Science, Department of Biology and Ecology, Radoja Domanovića 12, 34000 Kragujevac, Serbia



## EVALUACIJA ANTIMIKROBNE AKTIVNOSTI KANTARIONOVOG ULJA POREKLOM SA PLANINE GOČ (SRBIJA)

Mirjana Ž. Grujović<sup>1</sup>, Katarina G. Mladenović, Nevena N. Petrović,  
Marijana M. Kosanić, Ljiljana R. Čomić

**Izvod:** U radu su prikazani rezultati ispitivanja hemijskih svojstava, mikrobiološke ispravnosti i antimikrobne aktivnosti kantaronovog ulja, tradicionalnog proizvoda napravljenog od cvetova *Hipericum perforatum* L., sakupljenog sa planine Goč (Srbija). Antimikrobna aktivnost kantaronovog ulja ispitana je disk difuzionom i mikrodilucionom metodom. Rezultati su pokazali da ulje ne sadrži potencijalno patogene mikroorganizme i da pokazuje antimikrobno delovanje na većini testiranih mikroorganizama. Testirane bakterije i gljive su pokazale osetljivost do 25% (v/v) ulja. Rezultati ukazuju na mogućnost korišćenja ovog proizvoda.

**Ključne reči:** kantaronovo ulje, tradicionalni proizvod, antimikrobna aktivnost, mikrobiološka ispravnost

### Uvod

*Hipericum perforatum* L. (fam. Hipericaceae) je poznata lekovita biljka, sa staništem u Evropi i Aziji, ali se može naći kao invazivna vrsta u Severnoj Americi i Okeaniji. Koristi se u narodnoj medicini za lečenje opekotina, rana, hematoma, upala i bolova u mišićima (Istikoglou i sar., 2010). Uljani macerat cvetova *H. perforatum* (kantaronovo ulje) se dugo koristi kao tradicionalni lek u balkanskim zemljama, posebno u Bosni i Hercegovini i Srbiji, uglavnom za zaceljivanje ulcera, opekotina i rana na koži (Süntar i sar., 2010; Šarić-Kundalić i sar., 2010; Šavikin i sar., 2013) kao antiseptik, za bolesti jetre i stomaka, kao antiflogističko sredstvo u lečenju upale bronha i urogenitalnog trakta, lečenju bilijarnih poremećaja, iritaciji bešike, itd.

Prema HPLC analizi, standardizovani ekstrakt *H. perforatum* sadrži tačno 0,3% hipericina i dvostruko više pseudohipericina (0,6% ukupnog ekstrakta) (Brockmüller i sar., 1997). Tian i sar. (2014) su pokazali da *H. perforatum* sadrži hiperforin (za koga se trenutno smatra da je glavni psihoaktivni sastojak biljke) i adhiperforin. Cvetovi *H. perforatum* sadrže mnogo derivata, uključujući flavonole, biflavonole, derivate ksantona, uobičajene fenolne kiseline (kaddeična, hlorogena kiselina i ferulinska kiselina), tanine i katehinske derivate (Matei i sar. 2015).

---

<sup>1</sup>Univerzitet u Kragujevcu, Prirodno-matematički fakultet, Radoja Domanovića 12, Kragujevac, Srbija (mirjana.grujovic@pmf.kg.ac.rs)

Sadržaj bioaktivnih jedinjenja u kantaronovom ulju, posebno fenolnih derivata (timol i karvakrol), zavisi od nekih faktora, poput geografskog porekla, ekološkog i agronomskog stanja i načina branja biljaka (Süntar i sar., 2010). Poznato je da su mnoga jedinjenja pokazala osetljivost na svetlost, vlagu ili toplotu, pa je i skladištenje biljaka takođe veoma važno (Hyldgaard i sar., 2012). Saddiqe i sar. (2010) su pokazali da hipericin i hiperforin imaju potencijalna antibiotska svojstva, posebno aktivna protiv nekih gram-pozitivnih bakterija. Heydarian i sar. (2017) su pokazali da polisaharidi iz *H. perforatum* imaju dobar antimikrobni potencijal. Sarkisian i sar. (2012) konstatuju da sekundarni metaboliti iz *Hipericum* spp. poseduju antagonističku aktivnost prema *Staphilococcus* spp..

Cilj ovog rada bio je ispitivanje hemijskih svojstava kantaronovog ulja, nekomercijalnog proizvoda iz Srbije, sa planine Goč kao i procena mikrobiološke ispravnosti proizvoda. Takođe, prikazan je antimikrobni efekat ulja kako bi se procenila mogućnost upotrebe proizvoda u komercijalne svrhe.

### Materijal i metode rada

**Priprema kantaronovog ulja:** *H. perforatum* je sakupljan u centralnoj Srbiji, na planini Goč (nadmorska visina 1216 m) tokom 2017. godine, i to nakon izlaska a pre maksimalne insolacije (oko 10 sati ujutro). Za proizvodnju kantaronovog ulja korišćeni su samo cvetovi (250 g cvetova je dodato u 1000 ml ulja). Nakon 12-satnog sušenja na prirodnom vetru, cvetovi su macerirani u hladnom, nerafiniranom maslinovom ulju (Olitalia, Olitalia SRI, Forli, Italija). Posude u koje su sipane mešavina maslinovog ulja i cveća bile su prozirne da bi sunce lakše zagrejalo masu. Ovi uzorci su postavljeni na najsunčaniju tačku, što je tradicionalna prakse u tom regionu. Posle 40 dana posude su izvučene u mrak i nakon dvanaest sati filtrirane kroz gazu i dobijeno je kantaronovo ulje, prepoznatljive crvene boje. Korišćeno kantaronovo ulje se odlikovalo neutralnom pH vrednošću, dok je sadržaj spitivanih metala i metaloida bio niži od dozvoljenih vrednosti (Grujović i sar., 2019).

**Procena antimikrobne aktivnosti:** Korišćene su prekonocne kulture sledećih 11 bakterijskih vrsta: 6 izolata poreklom iz humanih uzoraka (*Escherichia coli*, *Salmonella tiphimurium*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus faecalis*, *Staphilococcus aureus*), 5 standardnih vrsta (*E. coli* ATCC 25923, *P. mirabilis* ATCC 12453, *P. aeruginosa* ATCC 27853, *E. faecalis* ATCC 29212, *S. aureus* ATCC 6538) i 3 vrste gljiva (*Candida albicans* ATCC 10259, *Geotrichum candidum* ATCC 34614 i *Trichophyton mentagrophytes* ATCC 9533).

**Metoda difuzije iz bunarića u agar:** Koncentrovano kantaronovo ulje, rastvoreno u Tween 20 (Fisher Scientific UK, Leicester, Velika Britanija), korišćeno je za testiranje antimikrobne aktivnosti. Za skrining antimikrobne aktivnosti korišćen je metoda difuzije iz bunarića u agar. Mueller-Hinton agar i Sabouraud dekstrozni agar (Torlak, Beograd, Srbija) su razliveni u petri ploče, gde je napravljen bunarić prečnika 8 mm. Nakon inokulacije bakterijom ili gljivom, 100 µl kantaronovog ulja je dodato u bunarić, dok je 100 µl čistog maslinovog ulja

korišćeno kao negativna kontrola. Pripremljeni uzorci su inkubirani na 37°C/24 h. Rezultati su interpretirani merenjem prečnika zone inhibicije (u mm).

*Mikrodiluciona metoda:* Osetljivost bakterija i gljiva na prisustvo kantaronovog ulja je evaluirana određivanjem minimalne inhibitorne koncentracije (MIK) i minimalne mikrobiocidne koncentracije (MMK) (Sarker i sar., 2007).

### Rezultati istraživanja i diskusija

Ispitivano ulje predstavlja macerat napravljen od cvetova autohtone biljke *H. perforatum*, izdvojenog u komercijalnom maslinovom ulju. Na osnovu ispitivanja senzornih karakteristika zaključeno je da se radi o crvenoj, uljanoj tečnosti umereno intenzivnog mirisa koja podseća na miris maslinovog ulja (Grujović i sar. 2019).

Na osnovu rezultata ispitivanja mikrobiološke ispravnosti kantaronovog ulja, može se zaključiti da je ulje bezbedno za upotrebu jer ne sadrži potencijalne patogene mikroorganizme prema standardima za uzorke hrane (Službeni glasnik RS, Br. 92/11).

Tabela 1. Antimikrobna aktivnost kantaronovog ulja (difuzija iz bunarića u agar)  
*Table 1. Antimicrobial activity of the Oleum Hyperici (agar-well diffusion method)*

Vrste <i>Specie</i>	Kantaronovo ulje <i>Oleum Hyperici</i>	
	ZI <sup>1</sup>	I <sup>2</sup>
<i>E. coli</i>	18	M
<i>E. coli</i> ATCC 25922	/	/
<i>P. aeruginosa</i>	24	M
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	20	M
<i>P. mirabilis</i>	/	/
<i>P. mirabilis</i> ATCC 12543	20	M
<i>S. typhimurium</i>	16	M
<i>E. faecalis</i>	16	M
<i>E. faecalis</i> ATCC 39212	16	M
<i>S. aureus</i>	20	M
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	22	M
<i>C. albicans</i> ATCC 10259	/	/
<i>G. candidum</i> ATCC 34614	12	M
<i>T. mentagrophytes</i> ATCC 9533	/	/

„ZI“ – zona inhibicije (prečnik izražen u mm); „I“ – izgled zone inhibicije (M – mutna zona); „/“ – nema inhibicije

Prema rezultatima dobijenim metodom difuzije iz bunarića u agar (Tabela 1), većina testiranih bakterija su pokazale osetljivost na kantaronovo ulje sa prečnikom zone inhibicije u rasponu od 16 - 24 mm, ali su zone su bile mutne, što

najverovatnije ukazuje na bakteriostatički efekat. Čisto maslinovo ulje nije pokazalo uticaj na rast bakterija i gljiva.

Prema rezultatima mikrodilucione metode, testirane bakterije i gljive su pokazale osetljivost samo na prvo (50%) i drugo (25%) razblaženje kantaronovog ulja, dok je MMC detektovana samo u nerazređenom (čistom) kantaronovom ulju. Jedno je *T. mentagrophytes* pokazala rezistenciju na čisto kantaionovo ulje (Tabela 2).

Tabela 2. Antimikrobna aktivnost kantaronovog ulja (mikrodiluciona metoda)  
 Table 2. Antimicrobial activity of the *Oleum Hyperici* (microdilution method)

Vrste <i>Specie</i>	Kantaronovo ulje <i>Oleum Hyperici</i>		Tetraciklin <i>Tetracycline</i>		Ketokonazol <i>Ketoconazole</i>	
	MIK	MMK	MIK	MMK	MIK	MMK
<i>E. coli</i>	50	č	2	6	/	/
<i>E. coli</i> ATCC 25922	50	č	4	6	/	/
<i>P. aeruginosa</i>	25	č	>128	>128	/	/
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	25	č	4	32	/	/
<i>P. mirabilis</i>	50	č	>128	>128	/	/
<i>P. mirabilis</i> ATCC 12543	50	č	n.t.	n.t.	/	/
<i>S. typhimurium</i>	50	č	2	2	/	/
<i>E. faecalis</i>	25	č	1	6	/	/
<i>E. faecalis</i> ATCC 39212	50	č	1,5	3	/	/
<i>S. aureus</i>	25	č	< 0,06	< 0,06	/	/
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	25	č	1,5	3	/	/
<i>C. albicans</i> ATCC 10259	č	č	/	/	0,039	/
<i>G. candidum</i> ATCC 34614	50	č	/	/	0,078	/
<i>T. mentagrophytes</i> ATCC 9533	25	10 <sup>-1</sup>	/	/	0,156	/

Minimalna inhibitorna koncentracija (MIK) i minimalna mikrobiocidna koncentracije (MMK) date u % razblaženja kantaronovog ulja (č-čisto kantaronovo ulje), u µg/ml za antibiotike i mg/ml za antimikotik; n.t.-nije testirano

Prema Kalaba i sar. (2015), *S. aureus*, *S. tiphimurium* i *P. aeruginosa* su najčešće patogene bakterije koje uzrokuju zdravstvene probleme. Testirano kantaronovo ulje je pokazalo uticaj na ove bakterije. Heydarian i sar. (2017) pokazali su da polisaharidi iz *H. perforatum* pokazuju antimikrobni potencijal u odnosu na *E. coli* i *S. aureus* što je potvrđeno u našem istraživanju.

### Zaključak

Kantaronovo ulje testirano u ovoj studiji predstavlja originalni, nekomercijalni proizvod, napravljen od cvetova *H. perforatum*, sakupljenih iz specifičnog područja planine Goč, i maslinovog ulja iz Italije. Na osnovu rezultata ove studije moglo bi se

zaključiti da je ovaj proizvod bezbedan za upotrebu kod ljudi i da pokazuje uticaj na bakterije i gljive. Rezultati predstavljeni u ovom radu pokazuju da kantarionovo ulje predstavlja bezbednu i efikasnu terapiju u narodnoj medicini.

### Napomena

Istraživanja u ovom radu deo su projekta III41010 koji finansira Ministarstvo prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije.

### Literatura

- Brockmöller J., Reum T., Bauer S., Kerb R., Hübner W.D., Roots I. (1997). Hypericin and pseudohypericin: pharmacokinetics and effects on photosensitivity in humans. *Pharmacopsychiatry* 30, 94–101.
- Grujović M., Mladenović K., Čomić Lj., Glišović A. (2019). *In vitro* evaluation of antimicrobial and antibiofilm activity of Oleum Hyperici: an original product from Goč Mountain (Serbia). *Kragujevac Journal of Science* 41, 97–106.
- Heydarian M., Jooyandeh H., Nasehi B., Noshad M. (2017). Characterization of *Hypericum perforatum* polysaccharides with antioxidant and antimicrobial activities: optimization based statistical modeling. *International Journal of Biological Macromolecules* 104, 287–293.
- Hyldgaard M., Mygind T., Meyer R.L. (2012). Essential oils in food preservation: mode of action, synergies, and interactions with food matrix components. *Frontiers in Microbiology* 3, 12.
- Kalaba V., Glušac J., Stijepić M., Kalaba D., Đurđević Milosević D. (2015). Antimicrobial activity of *Hypericum perforatum* essential oil. *Quality of life* 6, 45–52.
- Matei A.O., Gatea F., Radu G.L. (2015). Analysis of phenolic compounds in some medicinal herbs by LC-MS. *Journal of Chromatographic Science* 53, 1147–1154.
- Saddiqe Z., Naeem I., Maimoona A. (2010). A review of the antibacterial activity of *Hypericum perforatum* L. *Journal of Ethnopharmacology* 131, 511–521.
- Šarić-Kundalić B., Fritz E., Dobeš C., Saukel J. (2010). Traditional medicine in the Pristine village of Prokoškolake on Vranica Mountain, Bosnia and Herzegovina. *Scientia Pharmaceutica* 78, 275–290.
- Sarker S.D., Nahar L., Kumarasamy Y. (2007). Microtitre plate-based antibacterial assay incorporating resazurin as an indicator of cell growth, and its application in the *in vitro* antibacterial screening of phytochemicals. *Methods* 42, 321–324.
- Sarkisian S.A., Janssen M.J., Matta H., Henry G.E., Laplante K.L., Rowley D.C. (2012). Inhibition of bacterial growth and biofilm production by constituents from *Hypericum* spp. *Phytotherapy Research* 6, 1012–1016.
- Šavikin K., Zdunić G., Menković N., Živković J., Čujić N., Tereščenko M., Bigović D. (2013). Ethnobotanical study on traditional use of medicinal plants in South-Western Serbia, Zlatibor district. *Journal of Ethnopharmacology* 146, 803–810.

- Süntar I.P., Akkol E.K., Yilmazer D., Baykal T.K., Irmizibekmez H., Alper M., Yeşilada E. (2010). Investigation on the in vivo wound healing potential of *Hypericum perforatum* L. Journal of Ethnopharmacology 127, 468–477.
- Službeni glasnik RS, Br. 92/11 (<http://www.pks.rs/SADRZAJ/Files/Zakon%20o%20zdravstvenoj%20ispravnosti.pdf>)
- Tian J., Zhang F., Cheng J., Guo S., Liu P., Wang H. (2014). Antidepressant-like activity of adhyperforin, a novel constituent of *Hypericum perforatum* L. Scientific Reports 4, 5632.

## EVALUATION OF ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF OLEUM HYPERICI ORIGINATED FROM GOČ MOUNTAION (SERBIA)

Mirjana Ž. Grujović<sup>1</sup>, Katarina G. Mladenović, Nevena N. Petrović,  
Marijana M. Kosanić, Ljiljana R. Čomić

### Abstract

This paper presents the results of testing the chemical properties, microbiological safety and antimicrobial activity of Oleum Hyperici, a traditional product made from the flowers of *Hypericum perforatum* L., collected from the Goč mountain (Serbia). The antimicrobial activity of Oleum Hyperici is tested by agar-well and microdilution method. The results indicated that the oil did not contain potentially pathogens and it process antimicrobial activity on tested microorganisms. Tested bacteria and fungi showed a sensitivity of up to 25% (v/v) of Oleum Hyperici. The results indicate the possibility of using this product in traditionally medicine.

**Key words:** Oleum Hyperici, traditionally made product, antimicrobial activity, microbiological safety

---

<sup>1</sup>Univerzity of Kragujevac, Faculty of Science, Radoja Domanovića 12, Kragujevac, Srbija (mirjana.grujovic@pmf.kg.ac.rs)



## MODEL OF CONVECTIVE DRYING OF BLACK CHOKEBERRY (*ARONIA MELANOCARPA* L.)

Marko Petković<sup>1</sup>, Igor Đurović<sup>1</sup>, Nemanja Miletić<sup>1</sup>, Alexander D. Lukyanov<sup>2</sup>,  
Evgenia P. Klyuchka<sup>2</sup>, Jovana Radovanović<sup>1</sup>, Danila Y. Donskoy<sup>2</sup>

**Abstract:** Drying kinetics of fresh uncrushed chokeberries (*Aronia melanocarpa* L.) was analyzed by the convective method at temperatures of 50, 60 and 70 °C. The experimental results were fitted using eight models for the moisture ratio (*MR*), and four models for dehydration ratio (drying speed, *DR*). The modified Page and the Logarithmic equation were successfully used to describe the *MR*, as well as the Polynomial and modified Gauss equation, for the *DR*. According to the efficiency of the convective drying (cost price, energy efficiency, constants of drying models), the recommended method of convective drying is the drying at 70 °C (the shortest dehydration time and the fastest dehydration speed).

**Key words:** convective drying, black chokeberry, moisture ratio, drying ratio

### Introduction

Black chokeberry (*Aronia melanocarpa* L.), native to eastern North America, has become very popular in Eastern Europe and Russia (Valcheva-Kuzmanova and Belcheva, 2006), because of the high content of bioactive compounds (tannins, procyanidins, anthocyanins, phenolic acids, and quercetins) (Kim et al., 2012).

The new fruit products, such as fruit powders or snacks, are commercially available. In processing, the dehydration is probably the oldest and the most frequently used methods of fruit and vegetable preservation (Calín-Sánchez et al., 2015). The advantages of the dehydrating methods are the efficient preservation and long storage, prevention of microorganisms' development, cheaper and easier transport, the simple industry or laboratory equipment (Wojdyło et al., 2016). This method has many disadvantages: long dehydration time, high dehydration temperature, flavor and color degradation, tissue denaturation and material shrinkage (Figiel et al., 2010). The final quality of dehydrated chokeberries is defined by physical (texture, appearance, porosity, color) and (bio)chemical properties (vitamins, bioactive components, flavor) (Gawałek et al., 2017).

The aim of this study was to find the optimal model for the drying kinetics behavior of fresh chokeberries using a convective drying method at 50, 60, 70 °C.

---

<sup>1</sup>University of Kragujevac, Faculty of Agronomy Čačak, Cara Dušana 34, Čačak, Serbia ([marko.petkovic@kg.ac.rs](mailto:marko.petkovic@kg.ac.rs), [igor.djurovic@kg.ac.rs](mailto:igor.djurovic@kg.ac.rs), [n.m.miletic@kg.ac.rs](mailto:n.m.miletic@kg.ac.rs), [radovanovicjovana2@gmail.com](mailto:radovanovicjovana2@gmail.com));

<sup>2</sup>Don State Technical University, Ploshchad' Gagarina 1, Rostov-on-Don, Russian Federation ([alexlukjanov1998@gmail.com](mailto:alexlukjanov1998@gmail.com), [klyuchkae@mail.ru](mailto:klyuchkae@mail.ru), [dand22@bk.ru](mailto:dand22@bk.ru));

## Material and methods

### Material

Fruits of black chokeberry (*Aronia melanocarpa* L.) were collected in the village Kušići, located on Javor mountain (43°28'40.8"N, 20°03'35.7"E, Serbia), and immediately transported and dehydrated to the Faculty of Agronomy.

### Methods

Convective drying was conducted in the dehydrator (Colossus CSS 5330, PRC) at temperatures of 50, 60 and 70 °C at atmospheric pressure, to the constant weight. Uncrushed chokeberries were placed in a tray of 320-mm diameter in a thin layer with a mass load of 3 kg m<sup>-2</sup>, and at an air velocity of 0,25 m s<sup>-1</sup>. The convective drying kinetics was based on mass losses of chokeberry (Szychowski et al., 2018). The moisture ratio (*MR*) is defined according to Equation 1:

$$MR = \frac{M_t - M_e}{M_o - M_e} \quad (1)$$

*M<sub>t</sub>*, *M<sub>o</sub>* and *M<sub>e</sub>* represent the moisture content achieved after convective drying time *t*, the initial moisture content, and the equilibrium moisture content, respectively. The value of equilibrium moisture content (*Me*) usually is very low and can be deleted from Eq. (1) without a significant change in the value of *MR*.

The drying kinetics (drying ratio, *DR*) is a change in the total mass loss of fruits (*M<sub>i-1</sub> - M<sub>i</sub>*) in the interval of time between 2 measurements (*t<sub>i-1</sub> - t<sub>i</sub>*) on a particular tray during the convective drying (Equation 2, Petković et al., 2019).

$$DR = \frac{M_{i-1} - M_i}{t_{i-1} - t_i} \quad (2)$$

Origin8 software was used for the fitting basic convective drying models (Origin8, 2007). The best fitting of a specific model to the experimental data was evaluated using the coefficient of determination (*R*<sup>2</sup>) and the root means square error (*RMSE*). The model fit is better if the value of *R*<sup>2</sup> is closer to 1 and the *RMSE* value is closer to 0 (Petković et al., 2019).

## Results and discussion

The decrease in the *MR* during convective drying was described using eight drying models (Table 1). All models were found as outstanding models. However,

Tabela 1. Model odnosa vlage (MR) primenjen na eksperimentalne krive sušenja  
 Table 1. Model of the moisture ratio (MR) applied to the experimental drying curves

		Odnos vlage MR									
Model Model	Jednačina modela Model Equation	T (°C)	a	k	b	c	d	R <sup>2</sup>	RSME		
Newton	$y=e^{-k \cdot x}$	50		0,0825				0,9903	0,0302		
		60		0,1261				0,9847	0,0587		
		70		0,1472				0,9941	0,0464		
Henderson-Pabis	$y=A \cdot e^{-k \cdot x}$	50	1,0548	0,0871				0,9937	0,0240		
		60	1,0817	0,1577				0,9866	0,0537		
		70	1,0671	0,1748				0,9909	0,0421		
Modified Page	$y=a \cdot e^{-k \cdot x^b}$	50	0,9908	0,0481	1,2005			0,9988	0,0102		
		60	0,9874	0,0790	1,2003			0,9910	0,0441		
		70	1,0039	0,1209	1,0969			0,9967	0,0358		
Logarithmic	$y=a \cdot e^{-k \cdot x} + c$	50	1,1111	0,0711		-0,0849		0,9990	0,0093		
		60	1,1319	0,0997		-0,1194		0,9939	0,0467		
		70	1,0641	0,1337		-0,0484		0,9973	0,0371		
Two-term	$y=a \cdot e^{-b \cdot x} + c \cdot e^{-d \cdot x}$	50	3,9353		0,0432	-2,9373	0,0366	0,9994	0,0517		
		60	10,5836		0,0665	-9,5749	0,0621	0,9936	0,0452		
		70	1,1445		0,1265	-0,1306	0,0345	0,9972	0,0278		
Midilli-Kucuk	$y=a \cdot e^{-k \cdot x^b} + c \cdot x$	50	0,9934	0,0562	1,0685	0,0000		0,9938	0,0590		
		60	0,9874	0,0791	1,1999	0,0000		0,9903	0,0440		
		70	1,0038	0,1208	1,0973	0,0000		0,9965	0,0357		
Weibull	$y=a \cdot b \cdot e^{-k \cdot x^c}$	50	0,0000	0,0481	-0,9908	1,2007		0,9988	0,0102		
		60	0,0000	0,0794	-0,9879	1,1985		0,9903	0,0441		
		70	0,0000	0,1209	-1,0039	1,0968		0,9965	0,0358		
Parabolic	$y=c+a \cdot x+b \cdot x^2$	50	-0,0578		0,0009	0,9975		0,9951	0,0387		
		60	-0,0879		0,0020	0,9817		0,9938	0,0461		
		70	-0,0956		0,0024	0,9527		0,9894	0,0399		

MR – moisture ratio,  $MR = y$ ,  $t = x$

Tabela 2. Model brzine sušenja (DR) primenjen na eksperimentalne krive sušenja  
 Table 2. Model of the drying ratio (DR) applied to the experimental drying curves

		Brzina sušenja (g h <sup>-1</sup> ) DR (g h <sup>-1</sup> )											
Model Model	Jednačina modela Model Equation	T (°C)	a	k	b	c	a <sub>4</sub>	a <sub>5</sub>	a <sub>6</sub>			R <sup>2</sup>	
LangmuirEXT2	$y = (a + b \cdot x^c)^{-1}$	50	0,0178		0,0000250	3,5076						0,9861	
		60	0,0134		0,0000021	4,6648						0,9656	
		70	0,0096		0,0000130	4,0862						0,9836	
Polynomial	$y = a_0 + a_1 \cdot x + \dots + a_{n-1} \cdot x^{n-1}$	50	2,3992	66,5719	-27,7519	5,5439	-0,6267	0,0425	-0,0018			0,9829	
		60	-0,3231	109,5508	-43,7958	8,3388	-0,9081	0,0598	-0,0024			0,9932	
		70	0,0420	153,4858	-76,3756	18,3457	-2,5584	0,2191	-0,0117			0,9974	
Gauss Modified	$y = y_0 + \frac{a}{t_0} e^{\frac{z}{t_0}} + \frac{x - x_c}{w} \int_{-\infty}^z \frac{1}{\sqrt{2\pi}} e^{-\frac{y^2}{2}} dy,$ $z = \frac{x - x_c}{w} \frac{w}{t_0}$	50	-8,3258	1357,3138	0,5721	0,4700	17,8626					0,9853	
		60	-21,7382	1757,7061	0,6997	0,7026	12,0650					0,9856	
		70	-15,5599	1427,7618	0,6594	0,5253	9,1999					0,9957	
Harris	$y = (a + b \cdot x^c)^{-1}$	50	0,0217	0,0000003000	3,8401							0,9111	
		60	0,0186	0,0000000030	6,0725							0,7398	
		70	0,0130	0,00000000006	5,4667							0,8742	

DR – drying ratio, DR = y, t = x      RSME – not appropriate parameter for the “peak” functions

the modified Page, the Logarithmic, and the Weibull were found as the best models taking into account the highest values of  $R^2$  (means of  $\pm$  standard deviation,  $0,9955 \pm 0,0040$ ,  $0,9967 \pm 0,0026$ , and  $0,9952 \pm 0,0044$ , respectively) and the lowest values of  $RSME$  (means of  $\pm$  standard deviation,  $0,0300 \pm 0,0177$ ,  $0,0310 \pm 0,0194$ , and  $0,0300 \pm 0,0177$ , respectively). The similar models were used to predict the drying behavior of many fruit materials, such as quinces (Szychowski et al., 2018), and plums (Živković et al., 2011). The drying constant  $a$  varied slightly and had values closed to 1. This parameter in the Weibull model was 0, so the model could be converted into the modified Page model. The higher temperature of the samples promoted higher values of constants  $k$  (in the modified Page, the Logarithmic, and the Weibull) and consequently higher drying rate which guarantees the shortening of drying time.

The change in the  $DR$  during convective drying was described using four drying models (Table 2). The Polynomial and the modified Gauss model were found as the best models (means of  $\pm$  standard deviation,  $R^2 = 0,9912 \pm 0,0075$ ,  $R^2 = 0,9889 \pm 0,0059$ , respectively). An increase in a drying temperature was in a correlation to the increase of the drying constants  $a$ ,  $x_c$ , and  $w$ , and the decrease of the drying constants  $y_o$  and  $t_o$  of the GaussMod model. The results are according to the results as in research by Mitrović et al. (2012). The constants  $a_1$ ,  $a_3$ , and  $a_5$  were increased with the temperature growth, unlike the decrease of constants  $a_2$ ,  $a_4$ , and  $a_6$ .

## Conclusions

Drying kinetics of chokeberries dried by convective techniques at 50, 60, or 70 °C were assessed. The modified Page, and the Logarithmic equation were successfully used, as a models, to describe the moisture ratio ( $MR$ ) of chokeberry fruits ( $R^2 = 0,9955 \pm 0,0040$ ,  $9967 \pm 0,0026$  respectively;  $RSME = 0,0300 \pm 0,0177$ ,  $0,0310 \pm 0,0194$ , respectively), as well as the Polynomial and the modified Gauss equation, as far as drying ratio (drying speed,  $DR$ ) was concerned ( $R^2 = 0,9912 \pm 0,0075$ ,  $0,9889 \pm 0,0059$ , respectively). According to the efficiency of the process (cost price, energy efficiency, constants of drying models), the recommended convective drying method was convective drying at 70 °C (the shortest dehydration time and the fastest dehydration speed).

## References

- Calín-Sánchez Á., Kharaghani A., Lech K., Figiel A., Carbonell-Barrachina Á.A., Tsotsas E. (2015). Drying kinetics and microstructural and sensory properties of black chokeberry (*Aronia melanocarpa*) as affected by drying method. *Food and Bioprocess Technology* 8(1), 63-74.
- Figiel A., Szumny A., Gutiérrez-Ortíz A., Carbonell-Barrachina, A.A. (2010). Composition of oregano essential oil (*Origanum vulgare*) as affected by drying method. *Journal of Food Engineering* 98(2), 240-247.
- Gawałek J., Domian E., Ryniecki A., Bakier S. (2017). Effects of the spray drying conditions of chokeberry (*Aronia melanocarpa* L.) juice concentrate on the physicochemical properties of powders. *International Journal of Food Science and Technology* 52(9), 1933-1941.
- Kim H.G., Kim G.S., Park S., Lee J.H., Seo O.N., Lee S.J., Kim J.H., Shim J.H., El-Aty A.M.A., Jin J.S., Shin S. C. (2012). Flavonoid profiling in three citrus varieties native to the Republic of Korea using liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry: Contribution to overall antioxidant activity. *Biomedical Chromatography* 26(4), 464-470.
- Mitrović O.V. (2012). Кинетика сушења и квалитет сушених плодова најзначајнијих сората шљива у Србији (Drying kinetics and quality of dried fruits of major plum cultivars grown in Serbia). Ph.D. Thesis. University of Belgrade, Faculty of Agriculture, Belgrade.
- Origin8, Version 2007. OriginLab Corporation, Northampton, MA, USA.
- Petković M., Đurović I., Miletić N., Radovanović J. (2019). Effect of convective drying method of chokeberry (*Aronia melanocarpa* L.) on drying kinetics, bioactive components and sensory characteristics of bread with chokeberry powder. *Periodica Polytechnica Chemical Engineering* 1, 1-9.
- Szychowski P.J., Lech K., Sendra-Nadal E., Hernández F., Figiel A., Wojdyło A., Carbonell-Barrachina Á.A. (2018). Kinetics, Biocompounds, Antioxidant Activity, and Sensory Attributes of Quinces as Affected by Drying Method. *Food and Bioprocess Technology* 255(1), 157-164.
- Valcheva-Kuzmanova S.V., Belcheva A. (2006). Current knowledge of *Aronia melanocarpa* as a medicinal plant. *Folia Medica* 48(2), 11-17.
- Wojdyło A., Figiel A., Legua P., Lech K., Carbonell-Barrachina A. A., Hernández F. (2016). Chemical composition, antioxidant capacity, and sensory quality of dried jujube fruits as affected by cultivar and drying method. *Food Chemistry* 207(1), 170-179.
- Živković M., Rakić S., Maletić R., Povrenović D., Nikolić M., Kosanović N. (2011.) Effect of temperature on the physical changes and drying kinetics in plum (*Prunus Domestica* L.) Požegača variety. *Chemical Industry and Chemical Engineering Quarterly* 17(3), 283-289.

## MODEL KONVEKTIVNOG SUŠENJA CRNEARONIJE (*ARONIA MELANOCARPA L.*)

*Marko Petković<sup>1</sup>, Igor Đurović<sup>2</sup>, Nemanja Miletić<sup>3</sup>, Alexander D. Lukyanov<sup>4</sup>, Eugenia P. Kluchka<sup>5</sup>, Jovana Radovanović<sup>6</sup>, Danila Y. Donskoy<sup>7</sup>*

**Izvod:** Kinetika sušenja svežih celih plodova aronije (*Aronia melanocarpa*L.) analizirana je konvektivnom metodom na temperaturama od 50, 60 i 70 °C. Rezultati eksperimenta su postavljeni na osnovu osam modela za promenu odnosa vlage (MR) i četiri modela za promenu ukupnih masa plodova (brzina sušenja, DR). Modifikovana Page i Logaritamska jednačina uspešno su korišćene za opisivanje MR, kao i polinomne i modifikovane Gaussove jednačine, za DR. Prema efikasnosti konvektivnog sušenja (cena koštanja, energetska efikasnost, konstante modela sušenja), preporučeni metod konvektivnog sušenja je sušenje na 70 °C (najkraće vreme i najbrža brzina dehidracije).

**Ključne reči:** konvektivno sušenje, crna aronija, promena odnosa vlage, brzina sušenja

---

<sup>1</sup>Univerzitet u Kragujevcu, Agronomski fakultet Čačak, Cara Dušana 34, Čačak, Srbija ([marko.petkovic@kg.ac.rs](mailto:marko.petkovic@kg.ac.rs), [igor.djurovic@kg.ac.rs](mailto:igor.djurovic@kg.ac.rs), [n.m.miletic@kg.ac.rs](mailto:n.m.miletic@kg.ac.rs), [radovanovicjovana2@gmail.com](mailto:radovanovicjovana2@gmail.com));

<sup>2</sup>Državni tehnički univerzitet Don, Trg Gagarina 1, Rostov na Donu, Ruska Federacija ([alexlukjanov1998@gmail.com](mailto:alexlukjanov1998@gmail.com), [klyuchkae@mail.ru](mailto:klyuchkae@mail.ru), [dand22@bk.ru](mailto:dand22@bk.ru));





## HPLC ANALIZA VINA VINARIJE MILETIĆ: CABERNET SAUVIGNON, MERLOT I FRANKOVKA

*Sabina Šaćirović<sup>1</sup>, Nedeljko Manojlović<sup>3</sup>, Mališa Antić<sup>1</sup>, Zoran Marković<sup>2</sup>*

**Izvod:** U ovom radu ispitivan je sadržaj sledećih jedinjenja u vinima (Cabernet Sauvignon, Frankovka i Oplenac): galna kiselina katehina, kafeinske kiseline, miricetina, kemferola i epikatehina tečnom hromatografskom analizom. U većini uzoraka vina identifikovani su isti metaboliti. Na osnovu HPLC analize nađeno je da u svim ispitivanim uzorcima se u dominantnom prinosu nalaze: galna kiselina i katehin, dok ostala jedinjenja epikatehin, miricetin, kemferol i kafeinska kiselina su zastupljena u umereno iznosu.

**Ključne reči:** vino, HPLC, katehina, galna kiselina, Merlot, Frankovka

### Uvod

Grožđe sadrži fenolna jedinjenja koja su veoma značajne bioaktivne komponente sa antioksidativnim, antiinflamatornim, antikancerogenim, antimikrobnim i antiviralnim svojstvima (Ciolfi et al., 1983; Datunashvili et al., 1987; Noble and Bursick, 1984). Ona predstavljaju najvažnije parametre kvaliteta vina, jer doprinose njihovim organoleptičkim karakteristikama, naročito boji, adstringentnosti i gorčini (Aleixandre Benavent, 1987; Ogorodnik et al., 1984). Dele se na dve grupe. Prva grupa, koja se još naziva i fenolne kiseline, posebno uključuje hidrosicinaminske kiseline (npr. Kafeinska kiselina, kumarinska kiselina i ferulinska kiselina), a druga grupa uključuje antocijane, flavonol (kvarcetin) i flavanol (katehin) (Manrikyan and Ezhov, 1985; Yokotsuka et al., 1983). Pokazalo se da na vrstu i koncentraciju fenolnih sastojaka u vinu uglavnom utiču sorta grožđa i tehnološki postupci prilikom proizvodnje (Amati, 1986; Khristyuk et al., 1981; Yokotsuka et al., 1983). Epidemiološka istraživanja pokazuju da fenolna jedinjenja imaju pozitivan uticaj na zdravlje ljudi, jer smanjuju učestalost koronarnih bolesti, agregaciju trombocita, antioksidativni kapacitet i antikancerogenu zaštitu (Avakyants and Vladimirova, 1983; Flores et al., 1990; Hsu and Heatherbell, 1987; Manrikyan and Ezhov, 1985; Yokotsuka et al., 1983). Tečna hromatografija visokih performansi (HPLC) je uobičajena tehnika analitičkog razdvajanja koja kombinuje visoku rezoluciju i jednostavnu automatizaciju sa zahtevima za uzorkovanje (Duarte-Coelho et al., 1985; Israelian et al., 1978).

<sup>1</sup>Univerzitet u Beogradu, Poljoprivredni fakultet Zemun, Nemanjina 6, Beograd, Srbija (sabina.sacirovic91@gmail.com);

<sup>2</sup>State University of Novi Pazar, Department of Chemical and Technological Sciences, Novi Pazar

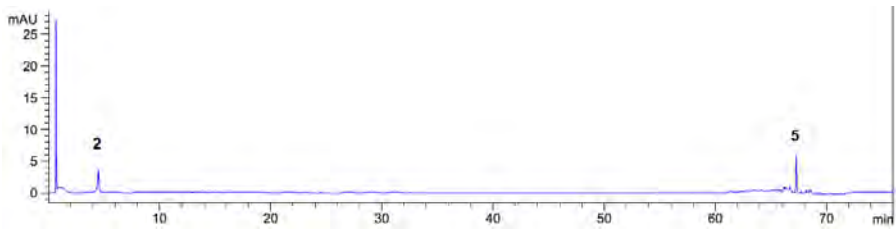
<sup>3</sup>Faculty of Medical Sciences University of Kragujevac, Kragujevac

## Materijal i metode rada

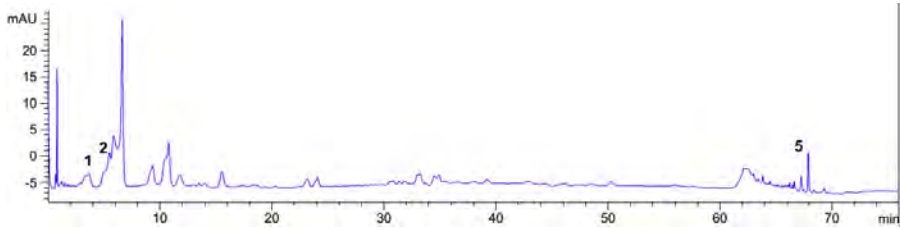
Visokoefikasna tečna hromatografska analiza (eng. *HPLC*) sa *UV* detekcijom je primenjena za razdvajanje, identifikaciju i kvantifikaciju pojedinih komponenata uzoraka. Analize su vršene na aparatu *Agilent 1200 Series* C18 kolone (rpc-C18; 25cm×4.6mm; 5 μm). Kao mobilna faza korišten je sledeći sistem rastvarača: A – 1,5% fosforna kiselina, B – 20% A i acetonitril, sve u gradijentu. Razdvajanje komponenti je izvedeno primenom sledećeg linearnog gradijenta: 0-55 min, 8% B; 55-58 min, 27% B; 59-64 min, 70% B; 64-69 min, 80% B, 69-70 min, i na kraju poslednjih 6 min ponovo 8% B. Brzina protoka; 0,8 ml/min, Detekcija razdvojenih pikova izvršila se primenom detektora sa serijom dioda (*Diode Array Detector, DAD*) na 280, 360 i 520 nm. Kolona je termostatirana na temperaturi od 30 °C. Identifikacija pojedinih konstituenata uzoraka je izvršena komparacijom retencionih vremena i *UV* spektara konstituenata sa standardima. Korišteni su standardi: katehin, kafeinska kiselina, miricetin, kemferol i epikatehina. Kvantitativno određivanje komponenata je izvršeno metodom spoljašnjeg standarda. Za svaki pojedinačni standard je pripremljen osnovni rastvor standarda serije masene koncentracije (tabela 1). Konstruisana je kalibraciona kriva, za svaki standard, na osnovu dobijenih površina u zavisnosti od masene koncentracije standarda. Iz dobijene jednačine linearne regresije zavisnosti izračunate su masene koncentracije komponenti u uzorcima. Rezultati su prezentovani u mg/L kao aritmetička sredina tri merenja ± standardna devijacija (tabela 3). *HPLC* nam daje i procentualnu zastupljenost pojedinačnih razdvojenih komponenata u hromatogramu. Procenat određene komponente izračunava se određivanjem površine pika kao procenta ukupne površine svih pikova (tabela 2).

## Rezultati istraživanja i diskusija

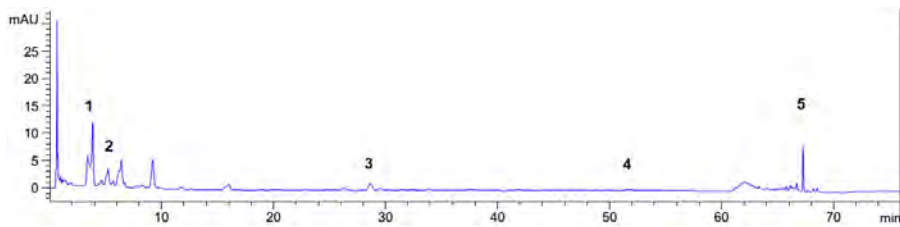
U uzorcima je određivana količina sledećih jedinjenja: katehin, kafeinska kiselina, miricetin, kemferol i epikatehina. U većini uzoraka identifikovani su isti metaboliti, osim u uzorku re15, i fr15 (gde nije identifikovan kemferol) i ch11 gde nije identifikovan (kemferol, miricetin i kafeinska kiselina). Najdominatniji pikovi u hromatogramu u svim uzorcima potiču od galne kiseline i katehina. Epikatehin, miricetin, kemferol i kafeinska kiselina daju umerene do slabe pikove. Najveća količina galne kiselina utvrđena je u uzorku re13 a najmanja u uzorku ch11. Najveća koncentracija katehina utvrđena je u uzorku re15 dok epikatehina, miricina i kemferola u uzorku op1. Najveća koncentracija kafeinske kiseline je bila je uzorku fr15, dok ostali identifikovani konstituenti u ovom uzorku kao i u uzorku ch11 bili znatno manje koncentracije nego u drugim ispitivanim uzorcima.



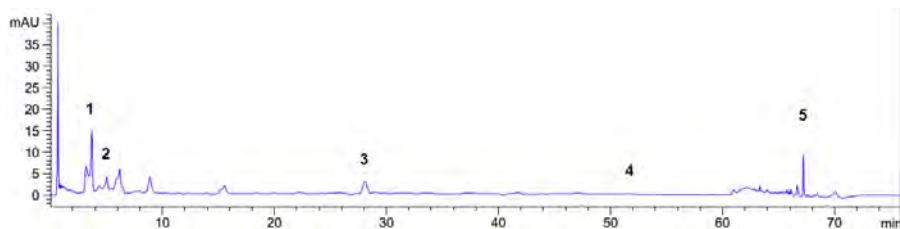
Graf. 1. HPLC chromatogram of CH11



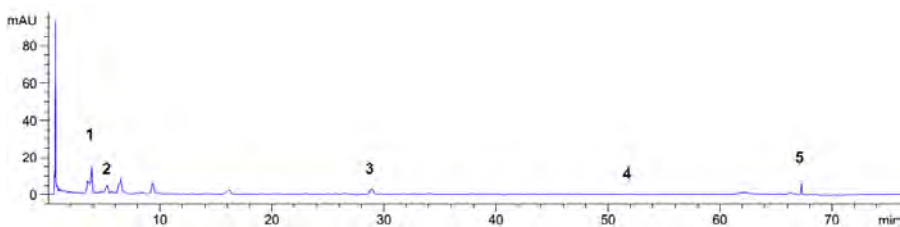
Graf. 2. HPLC chromatogram of FR15



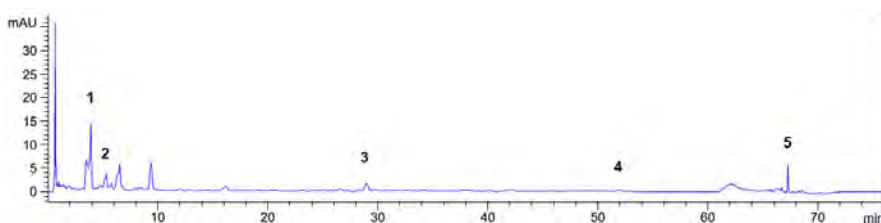
Graf. 3. HPLC chromatogram of OP1



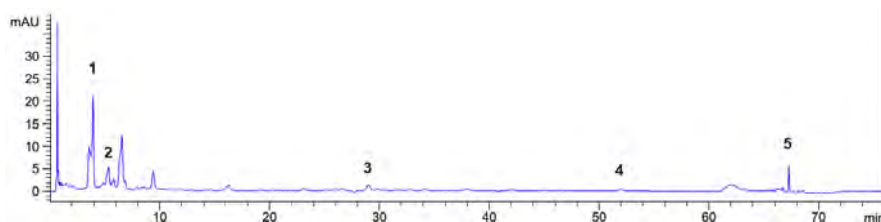
Graf. 4. HPLC chromatogram of OP13



Graf. 5. HPLC chromatogram of RE13



Graf. 6. HPLC chromatogram of RE14



Graf. 7. HPLC chromatogram of RE15

Tabela 1. Retenciono vreme, apsorpcioni maksimum, kalibraciona kriva, koeficijent korelacije i opseg linearnosti metabolita

Metabolit	Retenciono vreme ( $t_R \pm SD$ )*(min)	Apsorpcioni maksimum (nm)	Kalibraciona kriva	Koeficijent korelacije	Opseg linearnosti (korelacij - mg/L)
Galna kiselina	0,67±0,20	220, 271	$y = 2,024x - 13,86$	$R^2 = 0,998$	5-320
Katehin	3,91±0,20	276	$y = 3,384x + 27,02$	$R^2 = 0,991$	3,125-200
Kafeinska kis.	5,31±0,10	269, 360	$y = 12,91x + 20,92$	$R^2 = 0,997$	0.675-40
Miricetin	28,91±0,10	255, 375	$y = 9,595x + 0,764$	$R^2 = 0,996$	0.675-20
Kemferol	52,01±0,10	265, 365	$y = 16,85x + 3,138$	$R^2 = 0,997$	0.125-4
Epikatehin	67,27±0,10	280	$y = 2,108x + 2,289$	$R^2 = 0,996$	1.25-80

Tabela 2. Procentualni sastav metabolita u crvenim vinima Cabernet Sauvignon (kodovi uzorka: re 13, re 14 i re 15), Frankovka (kod uzorka: fr 15), Oplenac (kodovi uzorka: op 1) crvenih vina

Zastupljen. (%) u HPLC hrom.	re13	re14	re15	op1	op13	fr15
Galna kiselina	29,14	15,37	11,58	18,24	14,41	8,53
Katehin	13,56	19,88	21,90	19,10	19,56	3,29
Kafeinska kiselina	4,48	6,30	8,06	4,06	8,01	10,25
Miricetin	5,38	3,92	0,96	7,96	1,21	0,87
Kemferol	1,02	1,89	/	1,44	0,88	/
Epikatehin	3,33	4,72	3,58	6,35	7,13	1,15

Tabela 3. Koncentracija metabolita u crvenim vinima Cabernet Sauvignon (kodovi uzorka: CaSa13, CaSa14 i CaSa15), Frankovka (kod uzorka: Fra15) i Merlot (kodovi uzoraka: Mer13 i Mer15) crnih vina

Koncen. (mg/L)	re13	re14	re15	op1	op13	fr15
Galna kiselina	154,05±0,99	60,53±0,52	61,19±1,26	84,24±0,61	52,41±1,19	41,38±0,25
Katehin	32,81±0,52	35,11±0,84	53,03±1,04	40,45±0,11	28,78±0,72	9,70±0,21
Kafeinska kiselina	1,91±0,13	1,98±0,31	4,33±0,38	1,01±0,48	2,20±0,64	12,68±0,44
Miricetin	5,45±0,22	2,88±0,15	0,50±0,17	6,61±0,38	0,87±0,25	1,61±0,55
Kemferol	0,28±0,12	0,37±0,15	/	0,38±0,24	0,14±0,11	/
Epikatehin	16,28±0,98	15,37±0,28	14,56±0,49	24,86±0,17	19,81±1,03	8,78±0,24

## Zaključak

Iz dobijenih rezultata HPLC analize uzoraka vina: Cabernet Sauvignon, Frankovka i Oplenac, može se zaključiti da sva vina u najvećoj količini u sebi sadrže galne kiseline i katehina. Ostali ispitivani metaboliti: epikatehin, miricetin, kemferol i kafeinska kiselina su nađeni u umerenim ili malim količina.

## Literatura

- Amati, A. (1986). The use of fining agents in must fermentation. *Vini Ital.* 28(4), 19.
- Aleixandre Benavent, J. L. (1987). Effect of vinification conditions on glycerol and 2,3-butanediol contents in dry white wine from muscat grapes. *Rev. Agroquim. Technol. Aliment.* 27(2), 225.
- Avakyants, S., and Vladimirova, O. N. (1983). Structure of wine peptides. *Vinodel. Vinograd. SSSR* 5,41.
- Ciolfi, G., Gaetano, G., Matta, M., and Pizzoferrato, L. (1983). Glucose/fructose relation during fermentation of yeast strains of various species. *Riv. Vitic. Enol.* 36(6), 280.
- Datunashvili, E. N., Ezhov, V. N., and Ismailov, K.H.D. (1987). Development of production technology for white semisweet dessert wines. *Vinodel. Vinograd. SSSR* 4, 36.
- Duarte-Coelho, A. C., Dumoulin, E. D., and Guerin, J. T. (1985). High performance liquid chromatographic determination of sucrose, glucose, fructose in complex products of distilleries. *J. Liq. Chromatogr.* S(1), 59.
- Flores, J. H., Heatherbell, D. A., and McDaniel, M. R. (1990). Ultrafiltration of wine: Effect of ultrafiltration of white Riesling and Gewuerztraminer wine composition and stability. *Am. J. Enol. Vitic.* 41(3), 207.
- Hsu, J. C., and Heatherbell, D. A. (1987). Heat-unstable proteins in wine. I. Characterization and removal by bentonite fining and heat treatment. *Am. J. Enol. Vitic.* 38(1), 11.
- Israeli, C., Puech, J. L., and Roson, J. P. (1978). Possibilities for the use of high pressure liquid chromatography in the study of wine and eaux-de-vie control. *Bull. Liaison Groupe Polyphenols* 8, 374.
- Khristzyuk, V. T., Merzhanian, A. A., and Agabal'yants, E. D. (1981). Removal of high molecular weight compounds from wine by natural minerals and their mixtures. *Izv. Vvssh. Uchebn. Zaved. Pishch. Tekhnol.* 2, 34.
- Manrikyan, A. G., and Ezhov, V. N. (1985). Methodical aspects of studying high-molecular-weight compounds in wine. *Vinodel. Vinograd SSSR* 2, 47.
- Noble, A. C., and Bursick, G. F. (1984). The contribution of glycerol to perceived viscosity and sweetness in white wine. *Am. J. Enol. Vitic.* 35(2), 110.
- Ogorodnik, S. T., Karakozova, E. V., and Shol'ts, E. P. (1984). Evaluating the quality of white table wine. *Sadovod. Vinograd. Vinodel. Mold.* 2, 47.

Yokotsuka, K., Nozaki, K., and Kushida, T. (1983). Turbidity formation caused by interaction of must proteins with wine tannins. *J. Ferment. Technol.* 61(4), 413.

## **HPLC ANALYSIS OF MILETIC WINERY WINES: CABERNET SAUVIGNON, MERLOT AND FRANKOVKA**

*Sabina Šaćirović<sup>1</sup>, Nedeljko Manojlović<sup>3</sup>, Mališa Antić<sup>1</sup>, Zoran Marković<sup>2</sup>*

### **Abstract**

The content of the following compounds: gallic acid, catechins, caffeic acids, myricetin, chemferol, and epicatechin, in wines (Cabernet Sauvignon, Frankovka and Oplenac) was investigated in this work by liquid chromatographic analysis. The same metabolites were identified, in almost all of wine samples. Based on HPLC analysis, it was found gallic acid and catechin were the most represented in all samples, while the other compounds epicatechin, myricetin, chemferol and caffeic acid were found in moderate yield.

**Key words:** wine, HPLC, catechin, gallic acid, Merlot, Frankovka

---

<sup>1</sup>Univerzitet u Beogradu, Poljoprivredni fakultet Zemun, Nemanjina 6, Beograd, Srbija (sabina.sacirovic91@gmail.com);

<sup>2</sup>State University of Novi Pazar, Department of Chemical and Technological Sciences, Novi Pazar

<sup>3</sup>Faculty of Medical Sciences University of Kragujevac, Kragujevac





## PROTEKTIVNI EFEKAT EKSTRAKATA BILJKE *Pulmonaria officinalis* L. NA OKSIDATIVNO OŠTEĆENJE DNK U *IN VITRO* USLOVIMA

Nikola Srećković<sup>1</sup>, Vladimir Mihailović<sup>1</sup>, Sanja Matić<sup>2</sup>, Nevena Mihailović<sup>1</sup>, Jelena S. Katanić Stanković<sup>2</sup>, Milan S. Stanković<sup>3</sup>, Snežana Stanić<sup>3</sup>

**Izvod:** Cilj ovog rada je bio određivanje ukupne količine različitih grupa fenolnih jedinjenja u metanolskim ekstraktima nadzemnog dela i korena biljke *Pulmonaria officinalis* L., kao i procena njihove protektivne aktivnosti od oštećenja DNK izazvanog hidroksil i peroksil radikalima u *in vitro* uslovima. Sadržaj fenolnih jedinjenja u oba ekstrakta je bio visok, naročito sadržaj fenolnih kiselina, pri čemu je na osnovu HPLC analize potvrđeno prisustvo ruzmarinske kiseline kao dominantnog jedinjenja u oba ekstrakta. Ekstrakti su pokazali efikasno smanjenje DNK oštećenja indukovano hidrosil i peroksil radikalima, bez značajnije promene zaštitnog efekta sa porastom koncentracije ekstrakata.

**Ključne reči:** antigenotoksična aktivnost, *Pulmonaria officinalis* L., ruzmarinska kiselina, hidroksil radikal, peroksil radikal

### Uvod

*Pulmonaria officinalis* L. je zeljasta, višegodišnja, rizomska biljka iz roda medunica (*Pulmonaria*), koja pripada porodici Boraginaceae. U narodu je poznata pod nazivom plućnjak ili medunika. Biljka je od davnina poznata Evropskim narodima, a zbog njene upotrebe u lečenju respiratornih bolesti dobila je ime „plućnjak” (Gligić, 1953). Pored upotrebe kod iskašljavanja, bronhitisa, laringitisa i tuberkuloze, plućnjak se koristi i kod čira na želucu i dvanaestopalačnom crevu, kao i kod nekih bubrežnih oboljenja (Dumitru i Răducanu, 1992). Drugi etnomedicinski izvori ukazuju da infuzi ili dekokti *P. officinalis* imaju adstringentno, antikoagulaciono, antimikrobno i antiupalno delovanje, a primenjuju se i kao lek za urinarne probleme i ciste (Akram M. i Rashid A. 2017).

Postoji mali broj istraživanja hemijskog sastava biljaka ovog roda, međutim postoje podaci da biljke iz roda *Pulmonaria*, pored bogatog polifenolnog sadržaja, poseduju i manju količinu nezasićenih pirolizidinskih alkaloida, pa se ne preporučuje dugotrajna konzumacija (Lüthy i sar., 1984). Poznato je da *P. officinalis* sadrži 6-10% tanina i druga fenolna jedinjenja (Kuštrak, 2005), a potvrđeno je da ekstrakt nadzemnog dela sadrži rutin, hiperozid, kafeinsku, ruzmarinsku i hlorogensku kiselinu

---

<sup>1</sup>Univerzitet u Kragujevcu, Prirodno matematički fakultet, Institut za hemiju, Radoja Domanovića 12, 34000 Kragujevac, Srbija (nikola.sreckovic@pmf.kg.ac.rs);

<sup>2</sup>Univerzitet u Kragujevcu, Institut za informacione tehnologije, Jovana Cvijića bb, 34000 Kragujevac, Srbija

<sup>3</sup>Univerzitet u Kragujevcu, Prirodno matematički fakultet, Institut za biologiju i ekologiju, Radoja Domanovića 12, 34000 Kragujevac, Srbija

(Neagu i sar., 2018), kao i derivate salvionolične kiseline i slobodnu danšensu kiselinu (Krzyzanowska-Kowalczyk i sar., 2018).

Zbog nedostatka literaturnih podataka i naučne potvrde o biološkim aktivnostima i potencijalnoj primeni ove biljke, potrebno je sprovesti brojna ispitivanja. U tom smislu, cilj ovog rada je da se ispita fenolni sastav metanolskih ekstrakata nadzemnog dela i korena biljke *P. officinalis* i proceni njihova sposobnost zaštite DNK od oštećenja indukovanog hidroksilnim i peroksilnim radikalima, a sve to u cilju ispitivanja mogućnosti primene ove biljke kao dijetetskog suplementa koji može umanjiti neželjene efekte povećanog oksidativnog stresa.

## Materijal i metode rada

### Biljni materijal i priprema ekstrakata

Biljni materijal je sakupljen početkom aprila 2018. godine u fazi cvetanja u selu Veliko Krčmare, okolina Kragujevca. Nadzemni deo biljke i koren su odvojeni i osušeni na sobnoj temperaturi u tami. Osušen i usitnjen nadzemni deo biljke (60 g) i koren (90,78 g) je ekstrahovan metanolom postupkom maceracije, i dobijeni ekstrakti su profiltrirani i upareni vakuum uparivačem.

### Određivanje sadržaja fenolnih jedinjenja

Sadržaji različitih grupa fenolnih jedinjenja određeni su spektrofotometrijskim metodama ranije opisanim postupcima (Mihailović i sar., 2015). Količine ukupnih fenolnih jedinjenja i kondenzovanih tanina u ekstraktima izražene su u ekvivalentima galne kiseline (mg GK/g ekstrakta), sadržaj ukupnih flavonoida izražen je u ekvivalentima kvercetina (mg KV/g ekstrakta), dok je količina ukupnih fenolnih kiselina izražena u ekvivalentima kafeinske kiseline (mg KK/g ekstrakta).

### HPLC analiza

Preliminarna identifikacija i kvantifikacija fenolnih jedinjenja prisutnih u ekstraktima odrađena je korišćenjem Shimadzu prominence HPLC aparata (Kyoto, Japan) sa PDA detektorom i C18 kolone Luna (Phenomenex, Torrance, CA, USA) veličine 250×4.6 mm i veličine čestica 5 µm. Mobilnu fazu su činili voda (A) i acetonitril (B) uz dodatak 0,1% trifluorsirćetne kiseline. Gradijent eluiranja bio je sledeći: 0-1 min 5% B, 1-5 min 5-10% B, 5-25 min 10-80% B, 25-27 min 100% B i 27-30 min 5% B.

### DNK protektivna aktivnost ekstrakta biljke *P. officinalis* prema oštećenju indukovanom hidroksil i peroksil radikalima

DNK zaštitna aktivnost ekstrakata biljke *P. officinalis* (25, 50, 100, 200 i 400 µg/mL) prema DNK oštećenju izazvanom hidroksil radikalima utvrđena je prema

metodi Lin i sar. (2008). DNK izolovana iz sperme lososa (CarlRoth, GmbH, Karlsruhe, Nemačka) je korišćena kao negativna kontrola, dok su ruzmarinska kiselina (100 µM) i katehin (100 µM) korišćeni kao standardna jedinjenja.

Protektivna aktivnost ekstrakata biljke *P. officinalis* (25, 50, 100, 200 i 400 µg/mL) prema oštećenju DNK koje je indukovano peroksil radikalima poreklom od 2,2'-azobis (2-amidinopropan) dihidrohlorida (AAPH, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) ispitan je prema metodi Zhang i sar. (2017).

### Rezultati istraživanja i diskusija

Količina ukupnih fenola, flavonoida, fenolnih kiselina i tanina metanolskih ekstrakata nadzemnog dela i korena biljke *P. officinalis* predstavljena je u Tabeli 1. Metanolski ekstrakt korena biljke *P. officinalis* sadržao je neznatno veću količinu ukupnih fenolnih jedinjenja (90,37 GK/g) u odnosu na nadzemni deo (81,22 mg GK/g). Međutim, sadržaj flavonoida u ekstraktu nadzemnog dela je bio 8,70 mg KV/g, dok u ekstraktu korena flavonoidi nisu kvantifikovani primenjenom metodom. Oba ekstrakta poseduju značajnu količinu fenolnih kiselina, dok ekstrakt korena sadrži nešto veću količinu kondenzovanih tanina.

Tabela 1. Sadržaj ukupnih fenola, flavonoida, fenolnih kiselina i kondenzovanih tanina

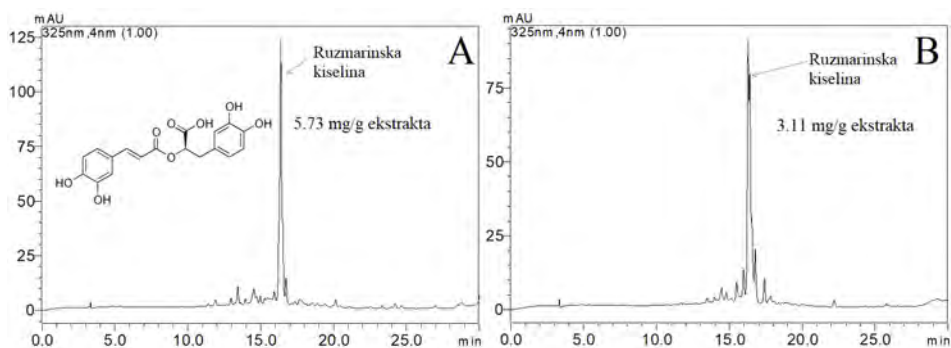
Table 1. The content of total phenols, flavonoids, phenolic acids and condensed tannins

<i>P. officinalis</i> ekstrakti <i>P. officinalis</i> extracts	Ukupna fenolna jedinjenja (mg GK/g ekstrakta) <i>Total phenolic content (mg GA/g extract)</i>	Ukupni flavonoidi (mg KV/g ekstrakta) <i>Total flavonoid (mg QU/g extract)</i>	Ukupne fenolne kiseline (mg KK/g ekstrakta) <i>Total phenolic acid (mg CA/g extract)</i>	Ukupni sadržaj kondenzovanih tanina (mg GK/g ekstrakta) <i>Condensed tannins (mg GA/g extract)</i>
nadzemni deo <i>aerial part</i>	81,22±2,45 <sup>a</sup>	8,70±0,73	57,47±0,57	44,25±1,21
koren <i>root</i>	90,37±2,94	- <sup>b</sup>	52,57±1,05	59,42±3,38

<sup>a</sup> srednja vrednost ± SD; <sup>b</sup> nije kvantifikovano

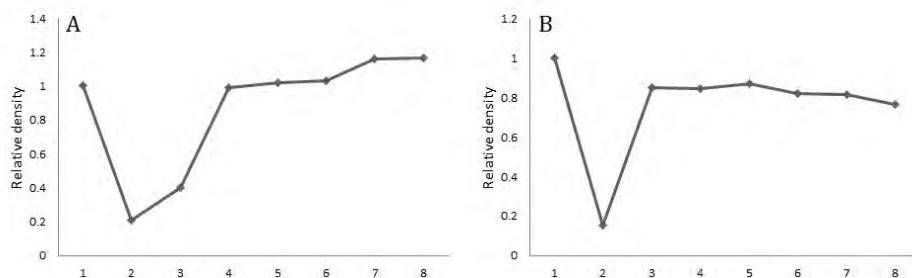
Na Slici 1 prikazani su HPLC-PDA hromatogrami ekstrakata nadzemnog dela i korena biljke *P. officinalis*, pri čemu je na osnovu poređenja retencionih vremena i UV spektara standarda i jedinjenja prisutnih u ekstraktima identifikovana ruzmarinska kiselina u oba ispitivana ekstrakta. HPLC analiza je pokazala da je ruzmarinska kiselina dominantno jedinjenje u oba ekstrakta i da je nadzemni deo biljke (5,73 mg/g ekstrakta) bogatiji u sadržaju ovog jedinjenja u odnosu na koren (3,11 mg/g ekstrakta), što je u skladu sa postojećim literaturnim podacima za ovu

biljku ili biljke ovog roda (Krzyzanowska-Kowalczyk i sar., 2018; Dresler i sar., 2017).



Slika 1. HPLC-PDA hromatogrami metanolnih ekstrakata nadzemnog dela (A) i korena (B) biljke *P. officinalis*

Figure 1. HPLC-PDA chromatograms of *P. officinalis* methanolic extracts of aerial part (A) and root (B)



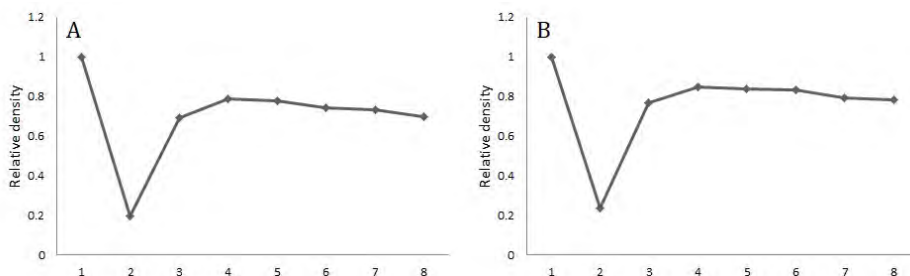
Graf. 1. Antigenotoksična aktivnost ekstrakata nadzemnog dela A) i korena B) biljke *P. officinalis* prema DNK oštećenjima izazvanih hidroksil radikalima. 1: negativna kontrola; 2: pozitivna kontrola; 3: standardi (ruzmarinska kiselina kod A i katehin kod B, 100 mM); 4–8: ekstrakti u koncentracijama 25, 50, 100, 200 i 400 µg/mL.

Graph. 1. Antigenotoxic activity of extracts of the aerial part A) and root B) of *P. officinalis* against DNA damage induced by hydroxyl radicals. 1: negative control; 2: positive control; 3: standards (rosmarinic acid at A and catechin at B, 100 µM); 4–8: extracts at concentrations of 25, 50, 100, 200 and 400 µg/mL.

Zaštitni efekat ekstrakata biljke *P. officinalis* od oštećenja DNK izazvanih hidroksil i peroksil radikalima ispitan je primenom DNK izolovane iz sperme lososa. Ekstrakt nadzemnog dela biljke (koncentracije 25-400 µg/mL) ispoljio je efikasno dozno-zavisno smanjenje hidroksil radikal-indukovanog DNK oštećenja

(Grafikon 1A), čak u većem stepenu od ruzmarinske kiseline (100 mM). Ekstrakt korena biljke je ispoljio nešto niži efekat zaštite DNK od oksidativnog dejstva hidroksil radikala u odnosu na ekstrakt nadzemnog dela, ali je u rangu sa aktivnošću katehina kao standarda (Graf. 1, B).

U slučaju DNK zaštite od oštećenja peroksil radikalima, nije primećena dozno-zavisna aktivnost ekstrakata (Grafikoni 2A i 2B), sve primenjene koncentracije ekstrakata su gotovo u identičnom stepenu srećile DNK oštećenje. Dobijeni rezultati ukazuju da ekstrakt korena svoj maksimalni efekat zaštite DNK od dejstva peroksil radikala ispoljava već pri koncentraciji od 25  $\mu\text{g}/\text{mL}$ . Oba ekstrakta poseduju veći DNK protektivni potencijal u odnosu na primenjene standarde.



Graf. 2. Antigenotoksična aktivnost ekstrakata nadzemnog dela A) i korena B) biljke *P. officinalis* prema DNK oštećenjima izazvanih peroksil radikalima. 1: negativna kontrola; 2: pozitivna kontrola; 3: standardi (ruzmarinska kiselina kod A i katehin kod B, 100 mM); 4–8: ekstrakti u koncentracijama 25, 50, 100, 200 i 400  $\mu\text{g}/\text{mL}$ .

*Graph. 2. Antigenotoxic activity of extracts of the aerial part A) and root B) of P. officinalis against DNA damage induced by peroxy radicals. 1: negative control; 2: positive control; 3: standards (rosmarinic acid at A and catechin at B, 100  $\mu\text{M}$ ); 4-8: extracts at concentrations of 25, 50, 100, 200 and 400  $\mu\text{g}/\text{mL}$ .*

## Zaključak

Na osnovu dobijenih rezultata utvrđeno je da su metanolski ekstrakti nadzemnog dela i korena biljke *P. officinalis* bogati u sadržaju fenolnih jedinjenja, pri čemu se kao dominantno jedinjenje izdvaja ruzmarinska kiselina. Dva primenjena *in vitro* testa su pokazala da ispitivani ekstrakti ispoljavaju izuzetan stepen DNK zaštite od reaktivnih radikalskih vrsta, hidroksil i peroksil radikala. Predstavljeni rezultati pružaju mogućnost potencijalne primene biljke *P. officinalis* kao dijetetskog suplementa u tretmanu bolesti i stanja izazvanih povećanim oksidativnim stresom.

## Literatura

- Akram M., Rashid A. (2017). Anti-coagulant activity of plants: Mini review. *Journal of Thrombosis and Thrombolysis* 44: 406–411.
- Dresler S., Szymczak G., Wójcik M. (2017). Comparison of some secondary metabolite content in the seventeen species of the Boraginaceae family. *Pharmaceutical Biology* 55: 691-695.
- Dumitru E., Răducanu D. (1992). *Terapie naturistă*. Ed. Stiintifică, Bucuresti.
- Gligić V. (1953). *Etimološki botanički rečnik*, Sarajevo: "Veselin Masleša"
- Krzyzanowska-Kowalczyk J., Pecio Ł., Mołdoch J., Ludwiczuk A., Kowalczyk, M. (2018). Novel penolic constituents of *Pulmonaria officinalis* L. LC-MS/MS comparison of spring and autumn metabolite profiles. *Molecules* 23(9): 2277.
- Kuštrak D. (2005). *Farmakognozija – fitofarmacija*. Golden marketing. Tehnička knjiga. Zagreb.
- Lin Y.W., Wang Y.T., Chang H.M., Wu J.S.B. (2008). DNA protection and antitumor effect of water extract from residue of jelly fig (*Ficus awkeotsang* Makino) achenes. *Journal of Food and Drug Analysis* 16: 63-69.
- Lüthy J., Brauchli J., Zweifel U., Schmid P., Schlatter C. (1984). Pyrrolizidine alkaloids in medicinal plants of Boraginaceae: *Borago officinalis* L. and *Pulmonaria officinalis* L. *Pharmaceutica Acta Helvetiae* 59: 242-246.
- Mihailović V., Mišić D., Matić S., Mihailović M., Stanić S., Vrvic M.M., Katanić J., Mladenović M., Stanković N., Boroja T., Stanković M.S. (2015). Comparative phytochemical analysis of *Gentiana cruciata* L. roots and aerial parts, and their biological activities. *Industrial Crops and Products* 73 (2015) 49–62.
- Neagu E., Radu G. L., Albu C., Paun G. (2018). Antioxidant activity, acetylcholinesterase and tyrosinase inhibitory potential of *Pulmonaria officinalis* and *Centarium umbellatum* extracts. *Saudi Journal of Biological Sciences* 25(3): 578-585.
- Scalbert A., Monties B., Janin G. (1989). Tannin in wood: comparison of different estimation methods. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 37: 1324-1329.
- Zhang L.L., Zhang L.F., Xu J.G., Hu Q.P. (2017). Comparison study on antioxidant, DNA damage protective and antibacterial activities of eugenol and isoeugenol against several foodborne pathogens. *Food and Nutrition Research* 61 (1): 1353356.

## PROTECTIVE EFFECT OF *Pulmonaria officinalis* L. AGAINST *IN VITRO* OXIDATIVE DNA DAMAGE

Nikola Srećković<sup>1</sup>, Vladimir Mihailović<sup>1</sup>, Sanja Matić<sup>2</sup>, Nevena Mihailović<sup>1</sup>, Jelena S. Katanić Stanković<sup>2</sup>, Milan S. Stanković<sup>3</sup>, Snežana Stanić<sup>3</sup>

### Abstract

The aim of this study was to investigate the total contents of different phenolic compounds of the aerial part and root methanol extracts of *Pulmonaria officinalis* L., as well as to evaluate their protective activity against DNA damage induced by hydroxyl and peroxy radicals using two *in vitro* tests. The extracts were rich in total phenolic compounds and the rosmarinic acid was confirmed as the dominant compound in both extracts by HPLC analysis. The extracts showed an effective reduction of DNA damage induced by hydroxyl and peroxy radicals, with no significant change in the protective effect by increasing the concentration of the extracts.

**Key words:** antigenotoxic activity, *Pulmonaria officinalis* L., rosmarinic acid, hydroxyl radical, peroxy radical

---

<sup>1</sup>University of Kragujevac, Faculty of Science, Department of Chemistry, Radoja Domanovića 12, 34000 Kragujevac, Serbia (nikola.sreckovic@pmf.kg.ac.rs)

<sup>2</sup>University of Kragujevac, Institute for Information Technologies, Jovana Cvijića bb, 34000 Kragujevac, Srbija

<sup>3</sup>University of Kragujevac, Faculty of Science, Department of Biology and Ecology, Radoja Domanovića 12, 34000 Kragujevac, Serbia





## KORELACIJA SADRŽAJA BIOAKTIVNIH KOMPONENATA I VRSTE EKSTRAKATA U LISTU CRVENOG KUPUSA

Jelena Mladenović<sup>1</sup>, Jelena Sarić<sup>1</sup>, Milena Đurić<sup>1</sup>, Ljiljana Bošković-Rakočević<sup>1</sup>,  
Nenad Pavlović<sup>2</sup>, Jasmina Zdravković<sup>2</sup>

**Izvod:** Biljke su generalno dobri izvori vitamina C. Njegova količina u hrani biljnog porekla zavisi najviše od vrste biljke, zemljišta, klime u kojoj su biljke rasle, dužine vremenskog perioda od branja do upotrebe i uslova skladištenja. Najviše askorbinske kiseline sadrži voće i povrće. Glavni izvori su: paprika, kupus, karfiol, citrus-plodovi, peršun, ren, krompir. Sadržaj askorbinske kiseline u povrću zavisi od stepena zrelosti (uglavnom raste u toku zrenja, mada ima slučajeva i opadanja sadržaja). Pri čuvanju plodova voća i povrća sadržaj askorbinske kiseline se smanjuje. Znatno deo vitamina S se razlaže pri kuvanju.

Potrebne količine vitamina C, koje dnevno treba unositi hranom zavise od uzrasta, i od stanja organizma. Preporučene dnevne potrebe za vitaminom C su 30-60 mg. Urađene su tri metode ekstrakcije istog biljnog materijala crvenog kupusa i praćen je sadržaj vitamina C kao važne bioaktivne komponente u kupusu.

**Ključne reči:** crveni kupus, ekstrakcija, prinos, vitamin C.

### Uvod

Kupus (*Brassica oleracea* var. *capitata*) je dvogodišnja, kultivisana, zeljasta biljka koja predstavlja važno povrće u ishrani. U velikim količinama se koristi u ishrani i to u svežem stanju kao salata i za pravljenje raznih jela, ili ukišljen. Svež kupus (salata) kao i kiseli kupus, svojim hranljivim sastojcima, mineralnim solima i vitaminima pomaže održavanju organizma u dobrom stanju. On predstavlja jeftinu i biološki značajnu hranu (Damjanović, 2007).

Kalorična vrednost belog kupusa je mala 100 g daje svega 126 J, odnosno 30 kalorija, a 100 g crvenog kupusa ima 154 J ili 36,9 kalorija. Biološke vrednosti (vitamini i mineralne materije), prijatan ukus i raznovrsnost upotrebe obezbeđuju određeno mesto kupusu u ishrani, naročito u zimskom periodu (Lampe, 1999). Iako kupus ne služi za podmirjenje energijskih potreba, on ima korisna svojstva, blagotvorno deluje na organe za varenje i popravlja ukus hrani (MacVicar, 2006).

Kupus sadrži oko 93% vode, oko 1,4% belančevina, ugljenih hidrata oko 4% , oko 0,2% masti i 1,5% celuloze. Ono po čemu se kupus naročito ceni u ishrani je visok sadržaj vitamina C, koji u svežem sirovom belom kupusu iznosi oko 50 mg a u crvenom oko 80 mg u 100 g, što znači da je 150 g kupusa dnevno dovoljno da bi se zadovoljile dnevne fiziološke potrebe za C vitaminom (Džamić, 1984).

<sup>1</sup>Univerzitet u Kragujevcu, Agronomski fakultet u Čačku, Cara Dušana 34, Čačak, Srbija (jelenamala@kg.ac.rs);

<sup>2</sup>Institut za povrtarstvo, Karađorđeva 71, 11 420 Smederevska Palanka, Srbija.

Skraćeni deo stabla, poznat pod nazivom “koren” sadrži znatno veću količinu askorbinske kiseline u odnosu na lišće glavice kupusa. Po sadržaju vitamina C, kupus je jednak limunu i pomorandži, jer i oni u proseku sadrže oko 50 mg ovog vitamina.

Vitamin S se kuvanjem gubi, pa se preporučuje da se jede što više svežeg i kiselog kupusa. Kupus ima i mnogo mlečna kiseline kojoj se i pripisuje njegovo lekovito dejstvo, ali je opet važno podvući - treba ga jesti u svežem obliku, jer u kuvanom se izgubi mnogo mlečna kiseline, a ostanu samo celulozna vlakna koja imaju suprotno dejstvo - izazivaju nadimanje, čak i grčeve u crevima. Važno je napomenuti da je količina vitamina C upola manja u kiselom kupusu u odnosu na svež kupus, zato što jedan deo vitamina C iz kiselog kupusa prelazi u raso. Potrebno je naći najoptimalniju metodu ekstrakcije kako bi sadržaj izolovanih bioaktivnih komponenata bio najveći. S obzirom da je vitamin C termolabilan vitamin, odlučili smo se za metode ekstrakcije koje se ne izvode na povišenoj temperaturi (Lajšić i Grujić-Injac, 1998).

## Materijal i metode rada

Kao materijal u ovom radu korišćen je list crvenog kupusa. Materijal za analizu sakupljan je u decembru mesecu 2018. godine, na lokalitetu Kragujevca, Šumadijski okrug. Ekstrakti su dobijeni od usitnjenog lista crvenog kupusa. Ekstrakcija maceracijom

Maceracija je jednokratna ekstrakcija usitnjenog biljnog uzorka koja se vrši pomoću odgovarajućeg rastvarača na sobnoj temperaturi. Prednost ove metode je upotreba hladnog rastvarača, čime se smanjuje razgradnja aktivnih materija (Aćamović-Đoković i Cvijović, 2009).

Ekstrakcija infuzom

Infuzi su vodeni ekstraktivni rastvori namenjeni za unutrašnju upotrebu, a dobijaju se prelivanjem biljke klučalom vodom. Po pravilu priprema se iz biljke nežnije strukture, ili iz biljke koje sadrže termolabilne, odnosno lako isparljive lekovite supstance, (Milić i sar., 2012). Iz deset delova biljnog materijala izrađuje se, ako nije drugačije propisano, 100 delova infuza, (Šiler-Marinković, 2009).

Ultrazvučna ekstrakcija

Ultrazvučna ekstrakcija je izvedena u ultrazvučnom vodenom kupatilu (EUP540A, Euinstruments, France). Uzorak (5 g) stavljen je u balon i preliven sa 200 mL 96%-tnog etanola. Smeša je ekstrahovana 30 minuta na frekvenciji od 40 kHz i snazi ultrazvuka 90% (216 W), (Piletić i Miletić, 1989).

Određivanje vitamina C

Kvantitativno određivanje ukupnog vitamina C zasniva se na reverzibilnoj sposobnosti oksidoreduccionog sistema askorbinska-dehidroaskorbinska kiselina. Za kvantitativno određivanje vitamina C korišćena je metoda po Tilmansu, koja se zasniva na oksidometrijskoj titraciji tokom koje se L-askorbinska kisleina oksiduje u dehidroaskorbinsku, uz istovremenu redukciju primenjenog reagensa. Titracija sa 2,6-dihlorfenolindofenolom tj. Tilmansovim reagensom (TP) se izvodi u kiseloj

sredini pri pH= 4-6. Oksidovani oblik rastvora Tilmansovog reagensa (koji ima ulogu indikatora) ima tamno plavu boju (pri pH=5,2), dok u prisustvu askorbinske kiseline Tilmansov reagens prelazi u svoj redukovani, leuko oblik. Na pH= 4,2 TP ima crvenu boju (kisela sredina) te kada je sva količina L- askorbinske kiseline oksidovana, prva sledeća kap TP boji ispitivani rastvor ružičasto jer je reakciona sredina još kisela.

Za ekstrakciju askorbinske kiseline iz ekstrakta koristi se 10% sirćetna kiselina, ili 5% metafosforna kiselina ili njihova smeša. Ove kiseline favorizuju taloženje proteina i istovremeno usporavaju reakciju drugih redukujućih supstanci sa Tilmansovim reagensom; takođe, održavaju sredinu kiselom.

**Određivanje sadržaja organskih kiselina**

Veliki broj organskih kiselina (limunska, jabučna, vinska, oksalna, mlečna i čilibarna) je prisutna u biljnim plodovima, animalnim tkivima i mikroorganizmima. Ove kiseline imaju važnu ulogu u procesima razmene materija. Organske kiseline se akumuliraju u procesima fermentacije i kao takve prelaze u gotove proizvode (vino, voćni sokovi, konzervisano povrće, hleb, kvas, prerađevine od mleka itd.) i tako značajno doprinose obrazovanju ukusa i arome gotovog proizvoda. Kiseline kao što su mlečna, sirćetna, čilibarna, vinska, limunska i druge mogu biti prisutne kao slobodne ali i u obliku soli kalcijuma, kalijuma, magnezijuma i natrijuma.

Iz bioloških materijala organske kiseline se izdvajaju ekstrakcijom sa vodom, alkoholom, etrom ili nekim drugim rastvaračem. Za brzo i efikasno razdvajanje i određivanje pojedinih organskih kiselina mogu se koristiti i različite hromatografske metode.

## Rezultati istraživanja i diskusija

Analiza je urađena u tri probe i izračunata je srednja vrednost.

Tabela 1. Sadržaj vlage i procenat suve materije

*Table 1. Table 1. Content of dry matter*

Masa pre sušenja (g) <i>Mass before drying (g)</i>	Masa posle sušenja (g) <i>Mass after drying (g)</i>	suve materije, % <i>dry matter, %</i>
5,000	0,525	10,50
5,000	0,550	11,00
5,000	0,512	10,24

Sadržaj suve materije dobijen na osnovu tri merenja je izračunat kao njihova srednja vrednost i iznosi 10,58%, a sadržaj vlage koji je dobijen oduzimanjem

sadržaja suve materije na 100 g uzorka, za svako merenje i izražen kao njihova srednja vrednost je 89,420%, Tabela 1.

Sadržaj ukupnih ekstrahovanih materija

Posle završenih ekstrakcija, izvršeno je uparavanje dobijenih biljnih ekstrakta do suva, a potom merenje dobijenih suvih ostataka. Izračunava se prinos ekstrakcije. Iz 5 g biljnog materijala crvenog kupusa.

Tabela 2. Procentni prinos ekstrakcija

Table 2. Yield extractions

Uzorak <i>Sample</i>	Maceracija <i>Maceration</i>	Ultrazvučna ekstrakcija <i>Ultrasonic extraction</i>	Infuz <i>Infuz</i>
biljna droga <i>herbal drug</i>	17,5	31,4	12,2

Na osnovu dobijenih rezultata možemo zaključiti da je najveći prinos dobijen ultrazvučnom ekstrakcijom, potom maceracijom, a najmanji prinos dobijen je infuzom, Tabela 2. Metoda ultrazvučne ekstrakcije se pokazala kao najoptimalnija metoda za ovu biljnu vrstu, jer kratko traje za raličku od maceracije i odvija se na nižoj temperaturi, što nije slučaj kod infuza, pa se pretpostavlja da je došlo do razgradnje vitamina i ostalih termolabilnih jedinjenja.

Tabela 3. Gustina ekstrakata

Table 3. Density extractions

Vrsta ekstrakcije <i>Type of extraction</i>	g/cm <sup>3</sup>
Maceracija <i>Maceration</i>	0,61
Ultrazvučna ekstrakcija <i>Ultrasonic extraction</i>	0,72
Infuz <i>infuz</i>	0,55

Na osnovu rezultata dobijenih merenjem gustine areometrom, vidi se da je najveća gustina dobijena kod ultrazvučne ekstrakcije (0,72 g/cm<sup>3</sup>), što je u uzajamnoj vezi sa prinosom ekstrakcije, Tabela 2 i 3.

Tabela 4. Sadržaj vitamina C  
 Table 4. Vitamin C content in extracts

Vrsta ekstrakcije <i>Type of extraction</i>	Vitamin C mg / 100 g <i>Vitamin C mg / 100 g</i>
Infuz <i>Infuz</i>	51,5
Maceracija <i>Maceration</i>	60,4
Ultrazvučna ekstrakcija <i>Ultrasonic extraction</i>	72,5

Pri određivanju sadržaja vitamina C zaključili smo da je najveći sadržaj ovog vitamina određen kod ultrazvučne (72,5 mg/100g), a najmanja kod infuza (51,5 mg/100g), Tabela 4.

Ultrazvučna ekstrakcija je trajala najkraće i na sobnoj temperaturi. Ovo su uslovi koji su najviše odgovarali ovom vitaminu za izolovanje. Sadržaj organskih kiselina

Tabela 5. Sadržaj organskih kiselina  
 Table 5. Content organic Acid

Uzorak <i>Sample</i>	g / 100g <i>g / 100g</i>
biljna droga <i>herbal drug</i>	0,900

U samom uzorku određen je sadržaj organskih kiselina, preračunat na limunsku kiselinu kao dominantnu, što se i dokazuje poređenjem sadržaja izolovanog vitamina C i sadržaja organskih kiselina.

### Zaključak

Pri određivanju vitamina C zaključeno je da je list crvenog kupusa bogat ovim vitaminom. Sadržaj organskih kiselina, preračunat na limunsku kiselinu kao dominantnu je (0,900 g / 100g). Limunska kiselina jeste dominantna kiselina u uzorku, jer je sadržaj ukupnih kiselina pre ekstrakcije bio (0,900 g / 100g), a sadržaj izolovanog vitamina C u ultrazvučnom ekstraktu je (72,5 mg/100g). Na osnovu dobijenih rezultata uočava se da je ultrazvučna ekstrakcija metoda izbora za ekstrakciju lista crvenog kupusa.

### Napomena

Istraživanja u ovom radu deo su projekta „Novi koncept oplemenjivanja sorti i hibrida povrća namenjenih održivim sistemima gajenja uz primenu biotehnoških mera“ T.R. 31059, koji finansira Ministarstvo Republike Srbije za nauku i tehnološki razvoj.

## Literatura

- Aćamović-Đoković G., Cvijović M. (2009). Praktikum iz Organske hemije, Agronomski fakultet, Čačak.
- Damjanović B. (2007). Ekstrakcija biaktivnih komponenti, Metalurško-tehnološki fakultet, Podgorica.
- Džamić M. (1984). Biohemija, Beograd.
- Lajšić S., Grujić-Injac B. (1998). Hemija prirodnih proizvoda, Tehnološki fakultet, Novi Sad.
- Lampe, J.W. (1999). Health effects of vegetables and fruit: assessing mechanisms of action in human experimental studies, *Am. J. Chin. Nutr.*, Vol. 70, 475-490.
- MacVicar J. (2006). Ljekovito i začinsko bilje, Naklada Uliks, Rijeka.
- Milić J., Primorac M., Savić S. (2012). Farmaceutska tehnologija I, Farmaceutski fakultet, Beograd.
- Piletić V. M., Miletić Lj. B. (1989). Organska hemija, Novi Sad, Tehnološki fakultet.
- Šiler-Marinković S. (2009). Vitamini, Beograd, Tehnološko-metalurški fakultet.

## CORRELATION OF THE CONTENTS OF BIOACTIVE COMPONENTS AND TYPES OF EXTRACTS IN RED CABBAGE

*Jelena Mladenović<sup>1</sup>, Jelena Sarić<sup>1</sup>, Milena Đurić<sup>1</sup>, Ljiljana Bošković-Rakočević<sup>1</sup>, Nenad Pavlović<sup>2</sup>, Jasmina Zdravković<sup>2</sup>*

### Abstract

The content of ascorbic acid in vegetables depends on the degree of ripeness (mainly increasing during ripening, although there are cases of declining content). When storing fruits and vegetables, the ascorbic acid content is reduced. A significant portion of Vitamin C decomposes when cooked. The required amounts of vitamin C to be taken daily with food depend on age, and on the condition of the body. The recommended daily requirement for vitamin C is 30-60 mg. Three methods were extracted for the same plant material of red cabbage and the content of vitamin C as an important bioactive component in cabbage was monitored.

**Key words:** red cabbage, extraction, yield, vitamin C

---

<sup>1</sup>University of Kragujevac, Faculty of Agronomy Čačak, Cara Dušana 34, Čačak, Serbia (jelenamala@kg.ac.rs)

<sup>2</sup>Institute Vegetable Crops, Karadorđeva 71, 11 420 Smederevska Palanka, Serbia

## ODREĐIVANJE SADRŽAJA VITAMINA C U RAZLIČITIM EKSTRAKTIMA BILJNE VRSTE *ALCHEMILLA VULGARIS* L.

Jelena Mladenović<sup>1</sup>, Jovana Simić<sup>1</sup>, Milena Đurić<sup>1</sup>,  
Ljiljana Bošković-Rakočević<sup>1</sup>, Nenad Pavlović<sup>2</sup>, Jasmina Zdravković<sup>2</sup>

**Izvod:** U lekovito bilje ubrajaju se one biljne vrste čiji jedan deo ili više delova sadrži biološke aktivne supstance koje se mogu koristiti u terapijske svrhe ili za hemijsko farmaceutske sinteze. U prehrambenoj industriji, lekovite i aromatične biljke koriste se kao začini i konzervansi. Biljni ekstrakti se dobijaju tako što se usitnjeni delovi biljke dovode u kontakt sa rastvaračem za ekstrakciju. Različite metode ekstrakcije daju i različite prinose i sastav ekstrahovanih komponenata. Temperatura i vreme ekstrakcije su važni faktori koji utiču na proces ekstrakcije. Iz tih terorijskih razloga, urađene su tri metode ekstrakcije istog biljnog materijala biljke virak i praćen je sadržaj vitamina C kao važne bioaktivne komponente u biljci.

**Ključne reči:** *Alchemilla vulgaris* L., ekstrakcija, prinos, vitamin C.

### Uvod

Najvažniju grupu biljnih preparata predstavljaju ekstrakti, koji se dobijaju primenom različitih metoda ekstrakcije, počev od jednostavnijih tehnologija do naprednih tehnika. Ekstrakcija predstavlja izdvajanje i koncentrisanje određenih sastojaka iz biljnih i životinjskih tkiva pomoću selektivnih rastvarača primenom standardnih procedura. U zavisnosti od konzistencije, ekstrati se dele na tečne, polučvrste i čvrste. Biljni ekstrakti se dobijaju tako što se usitnjeni, uglavnom suvi, delovi biljke dovode u kontakt sa rastvaračem za ekstrakciju u odgovarajućem uređaju, ekstraktoru.

Ekstrakcija je ravnomerno odvajanje jednog ili više sastojaka čvrste ili tečne smeše (početni materijal) sa drugim [rastvaračem](#) (ekstraktantom) koji nije mešan ili pomešan sa rastvaračem početne smeše, a ostali sastojci nisu rastvorljivi ili manje rastvorljivi u njemu. Intenzivnim mešanjem početne smeše i drugog rastvarača preko veće površine za odvajanje i što je duže moguće, i ponovljenim procesa sa manjim količinama drugog rastvarača, rastvara se i povećava količinu ključne komponente u rastvaraču. Ekstrakcija ne daje čistu komponentu, već dve nove smeše, tj. rastvor od koga je komponenta odvojena (rafinisana) i rastvor obogaćen ekstrakcijom (Lakušić, 1990).

Materijal iz koga se vrši ekstrakcija može biti: biljnog, životinjskog i mineralnog porekla. Na brzinu ekstrakcije utiču: veličina dodirne površine

<sup>1</sup>Univerzitet u Kragujevcu, Agronomski fakultet u Čačku, Cara Dušana 34, Čačak, Srbija (jelenamala@kg.ac.rs);

<sup>2</sup>Institut za povrtarstvo, Karađorđeva 71, 11 420 Smederevska Palanka, Srbija;

rastvarača i čestice materije, debljina graničnog sloja oko čestice i temperatura sistema. U organskim laboratorijama, najčešće se ekstrahuju organska jedinjenja iz vodenih rastvora pomoću nekog organskog rastvarača, koji se sa vodom ne meša ili se meša delimično, pa obrazuju dva sloja. Ova tehnika je poznata kao tečno-tečna ekstrakcija. Kada se pomoću tečnog rastvarača ekstrahuje supstanca iz čvrstih sastojaka onda tu metodu nazivamo čvrsto-tečna ekstrakcija. Rastvarači koji se najčešće primenjuju za ekstrakcije su: etar, petroletar, benzen, hloroform, metilen-hlorid, etil-acetat i dr.

[\*Alchemilla vulgaris\* L.](#) je biljka iz porodice [Rosaceae](#). To je višegodišnja zeljasta biljka, visoka do 50 cm. Cveta od juna do septembra. Prizemni listovi u rozeti iz koje izrasta stablo, manje-više pokriveno dlakama. Listovi okruglasto-bubrežasti, zvezdasto usečeni na 7-11 režnjeva, duž celog oboda nazubnjeni ili iseckani. Stabljika je uspravna, razvija se bočno na rozeti (MacVicar, 2006).

Listovi na stabljici su po obliku slični listovima rozete, ali su sitniji. Cvetovi sitni, žutozeleni, goli, bez kruničnih listića. Plod virka je orašica. Cvast je široka metlica (Lampe, 1999).

Virak se bere zelen, bez korena i nepodno ga je dobro osušiti. Nema miris, a ukus joj je blago rezak i gorak. Kod nas raste više od desetak vrsta. Kao hrana i lek koriste se listovi: mladi kao prolećna salata, stariji kada budu dobro razvijeni, kao dobar izvor vitamina C (sadrže ga i do 130 mg).

## Materijal i metode rada

Kao materijal u ovom radu korišćena je biljka virak (*Alchemilla vulgaris* L.). Biljni materijal potiče sa lokaliteta Čačka, Moravički okrug, nabavljen u novembru mesecu 2017. godine. Ekstrakti su dobijeni od suve biljke (Damjanović, 2007).

### Ekstrakcija maceracijom

Usitnjen i homogenizovan uzorak (5 g), preliven je rastvaračem (200 mL 96% etanola), potom je ostavljen u zatvorenom erlenmajeru zaštićenom od svetlosti. Maceracija se vrši pet dana, pri čemu se svakog dana obavlja mućkanje dva puta dnevno. Nakon pet dana, odvojen je biljni materijal od macerata ceđenjem kroz gazu, a posle i kroz filter papir, crna traka. Rastvarač se uklanja uparavanjem na vodenom kupatilu, a dobijeni ekstrakt se suši do konstantne mase na temperaturi od 50 °C (Piletić i Miletić, 1989).

### Ekstrakcija po Soxlet-u

Najpoznatija aparatura za kontinualnu ekstrakciju čvrstih materija je eksikator po Soksletu. Ekstrakcija po Soksletu odvija se tako što se polazni materijal stavlja u čauru (hiznu). Čaura sa uzorkom je potom ubačena u srednji deo ekstraktora koji je spojen sa hladnjakom i balonom. Balon je prethodno sušen 1 čas na 105 °C i izmeren na analitičkoj vagi. Pomoću malog levka sa gornje strane kondenzatora u



aparati je sipano toliko rastvarača da se ekstraktor napuni i prelije u balon. Zatim je dodato još malo rastvarača (96% etanola), pazeći da ukupna količina rastvarača ne zauzima više od  $\frac{3}{4}$  zapremine balona (Šiler-Marinković, 2009).

Aparatura je postavljena na rešo i postepeno je zagrevan rastvarač u balonu tako da se kondenzovane kapljice rastvarača koje padaju na hiltznu mogu brojati, a ne da cure u neprekidnom mlazu. Ekstrakcija je vršena na temperaturi ključanja rastvarača u trajanju od 6 časova. Nakon završene ekstrakcije, ekstrahovana supstanca se nalazi rastvorena u rastvaraču u balonu. Rastvarač se uklanja uparavanjem na vodenom kupatilu na 60 °C, a zatim se ekstrakt suši u sušnici na 50 °C do konstantne mase. Nakon toga, izračunat je sadržaj ukupnih ekstrahovanih materija iz biljnog materijala (Milić i sar., 2012).

### Ultrazvučna ekstrakcija

Ultrazvučna ekstrakcija je izvedena u ultrazvučnom vodenom kupatilu (EUP540A, Eustruments, France). Uzorak (5 g) stavljen je u balon i preliven sa 200 mL 96%-tnog etanola. Smeša je ekstrahovana 30 minuta na frekvenciji od 40 kHz i snazi ultrazvuka 90% (216 W), (Lajšić i Grujić-Injac, 1998).

Gustina je izmerena aerometrom. Merena je gustina ekstrakta dobijenog maceracijom, ultrazvučnom ekstrakcijom i ekstrakcijom po Soxlet-u.

### Određivanje vitamina C

Kvantitativno određivanje ukupnog vitamina C zasniva se na reverzibilnoj sposobnosti oksidoredukcione sistema askorbinska–dehidroaskorbinska kiselina (Džamić, 1984).

Za kvantitativno određivanje vitamina C korišćena je metoda po Tilmansu (Tillmans), koja se zasniva na oksidometrijskoj titraciji tokom koje se L-askorbinska kiselina oksiduje u dehidroaskorbinsku, uz istovremenu redukciju primenjenog reagensa (Aćamović-Đoković i Cvijović, 2009).

Titracija sa 2,6-dihlorfenolindofenolom tj. Tilmansovim reagensom (TR) se izvodi u kiseloj sredini pri pH 4–6. Oksidovani oblik rastvora Tilmansovog reagensa (koji ima i ulogu indikatora) ima tamno plavu boju (pri pH 5,2), dok u prisustvu askorbinske kiseline TR prelazi u svoj redukovani, leuko oblik. Na pH 4,2 TR ima crvenu boju (kisela sredina) te kada je sva količina L-askorbinske kiseline oksidovana, prva sledeća kap TR boji ispitivani rastvor ružičasto jer je reakciona sredina još kisela.

Za ekstrakciju askorbinske kiseline iz ekstrakta biljke koristi se 10% sirćetna kiselina ili 5% metafosforna kiselina ili njihova smeša. Ove kiseline favorizuje taloženje proteina i istovremeno usporavaju reakciju drugih redukujućih supstanci sa Tilmansovim reagensom; takođe, održavaju sredinu kiselom.

*Određivanje titra rastvora 2,6-dihlorfenolindofenola*

U tri erlenmajera se pipetom prenese po 2 mL rastvora askorbinske kiseline ( $C_6H_8O_6$ ,  $c = 1 \text{ mg/mL}$ ) i 5 mL rastvora smeše  $HPO_3$  i glacijalne  $CH_3COOH$ . Probe se odmah titruju TR-om do slabo ružičaste boje, postojane oko 5 sekundi. Za izračunavanje titra uzima se srednja vrednost zapremine rastvora TR utrošenog za titraciju. Titar se izražava u mg  $C_6H_8O_6$  po 1 mL TR. Uporedo sa rastvorom TR titruje se i slepa proba do ružičaste boje istog intenziteta.

*Slepa proba*

U tri erlenmajera se pipetom prenese po 7 mL rastvora smeše  $HPO_3$  i glacijalne  $CH_3COOH$  i još toliko destilovane vode koliki je bio utrošak TR za određivanje titra. TR se dodaje pažljivo u kapima jer je njegov utrošak mali ( $0,1 - 0,5 \text{ cm}^3$ ). Srednja vrednost utroška TR za slepu probu se oduzme od srednje vrednosti utroška TR kod određivanja titra.

*Izračunavanje titra*

Ako je za titraciju standardnog uzorka  $C_6H_8O_6$  (2 mg) utrošeno 16 mL TR, a za slepu probu 0,1 mL, onda se titar računa po sledećoj proporciji:

$$(16 - 0,1) : 1 = 2 : s$$

gde je s titar, u ovom slučaju  $h = 0,125 \text{ mg askorbinske kiseline} / 1 \text{ mL TR}$ .

*Priprema uzorka*

10 g uzorka pomeša se sa jednakom zapreminom smeše  $HPO_3$  i glacijalne  $CH_3COOH$ . Smeša se filtrira preko nabranog filter papira pri čemu se prvih 5 – 10 mL filtrata odbaci, a od ostatka uzme alikvotni deo (10 mL) za dalje određivanje.

*Postupak određivanja askorbinske kiseline u uzorku*

U tri erlenmajera se pipetom prenese 10 mL filtrata uzorka i zatim vrši titracija rastvorom TR do slabo ružičaste boje postojane oko 5 sekundi. Uporedo se vrši titracija slepe probe rastvorom TR do pojave ružičaste boje istog intenziteta.

*Slepa proba*

U tri erlenmajera se prenese onoliko destilovane vode, koliko ima soka u analiziranom uzorku i još toliko vode koliko je utrošeno TR za titraciju ispitivanog uzorka i potom doda 5 mL smeše  $HPO_3$  i glacijalne  $CH_3COOH$ . Slepa proba treba po boji, kiselosti i ukupnoj zapremini da bude identična analizi ispitivanog uzorka. Utrošak TR za slepu probu je vrlo mali pa titraciju treba pažljivo obavljati.

*Izračunavanje*

Sadržaj askorbinske kiseline (u mg/10g ekstrakta) =  $((V - V_{sp}) * s * 100) / V_{al}$   
 $V$  – srednja vrednost zapremina rastvora TR utrošenih za titraciju ogleadne probe (mL),  
 $V_{sp}$  – srednja vrednost zapremina rastvora TR utrošenih za titraciju slepe probe (mL),  
 $c$  – titar rastvora TR (mg C<sub>6</sub>H<sub>8</sub>O<sub>6</sub> / 1 mL TR rastvora)  
 $V_{al}$  – zapremina alikvotnog dela uzorka (mL).

**Rezultati istraživanja i diskusija**

Analiza je urađena u tri probe i izračunata je srednja vrednost.

Tabela 1. Sadržaj vlage i procenat suve materije

*Table 1. Table 1. Content of dry matter*

Masa pre sušenja (g) <i>Mass before drying (g)</i>	Masa posle sušenja (g) <i>Mass after drying (g)</i>	suve materije, % <i>dry matter, %</i>
5,000	3,750	75,000
5,000	3,420	68,400
5,000	3,500	70,000

Sadržaj suve materije dobijen na osnovu tri merenja je izračunat kao njihova srednja vrednost i iznosi 71,133%, a sadržaj vlage koji je dobijen oduzimanjem sadržaja suve materije na 100 g uzorka, za svako merenje i izražen kao njihova srednja vrednost je 28,867%, Tabela 1.

Sadržaj ukupnih ekstrahovanih materija

Posle završenih ekstrakcija, izvršeno je uparavanje dobijenih biljnih ekstrakta do suva, a potom merenje dobijenih suvih ostataka. Izračunava se prinos ekstrakcije. Iz 5 g biljnog materijala virka (*Alchemilla vulgaris* L.)

Tabela 2. Procenatni prinos ekstrakcija

*Table 2. Yield extractions*

Uzorak <i>Sample</i>	Maceracija <i>Maceration</i>	Soxhlet ekstrakcija <i>Soxlet extraction</i>	Ultrazvučna ekstrakcija <i>Ultrasonic extraction</i>
biljna droga <i>herbal drug</i>	9,45%	4,72%	32,54%

Na osnovu dobijenih rezultata možemo zaključiti da je najmanji prinos dobijen Soxlet-ovom ekstrakcijom, potom maceracijom, a najveći prinos dobijen je ultrazvučnom ekstrakcijom, Tabela 2. Metoda ultrazvučne ekstrakcije se pokazala kao najoptimalnija metoda za ovu biljnu vrstu, jer kratko traje za ralikom od maceracije i odvija se na nižoj temperaturi, što nije slučaj kod Soxlet-ove metode, koja se odvija na visokoj temperaturi, pa se pretpostavlja da je došlo do razgradnje vitamina i ostalih termolabilnih jedinjenja.

Tabela 3. Gustina ekstrakata  
Table 3. Density extractions

Vrsta ekstrakcije <i>Type of extraction</i>	g/cm <sup>3</sup>
Maceracija <i>Maceration</i>	0,88
Soxlet ekstrakcija <i>Soxlet extraction</i>	0,87
Ultrazvučna ekstrakcija <i>Ultrasonic extraction</i>	0,89

Na osnovu rezultata dobijenih merenjem gustine areometrom, vidi se da je najveća gustina dobijena kod ultrazvučne ekstrakcije (0,89 g/cm<sup>3</sup>), što je u uzajamnoj vezi sa prinosom ekstrakcije, Tabela 3.

Tabela 4. Sadržaj vitamina C  
Table 4. Vitamin C content in extracts

Vrsta ekstrakcije <i>Type of extraction</i>	Vitamin C mg / 100 g <i>Vitamin C mg / 100 g</i>
Maceracija <i>Maceration</i>	9,75
Soxhlet ekstrakcija <i>Soxlet extraction</i>	3,45
Ultrazvučna ekstrakcija <i>Ultrasonic extraction</i>	7,50

Pri određivanju sadržaja vitamina C zaključili smo da je najveći sadržaj ovog vitamina određen kod maceracije (9,75 mg/100g), zatim kod ultrazvučne (7,5 mg/100g), a najmanja kod Soxhlet-ovog ekstrakta (3,45 mg/100g), Tabela 4.

Pretpostavljamo, da se maceracija kao metoda ekstrakcije pokazala kao najoptimalnija, sa najvećim prinosom vitamina C, jer je izolovanje vršeno na sobnoj temperaturi, a znamo da je vitamin C termolabilan.

## Zaključak

Urađene su tri različite metode ekstrakcije. Određen je sadržaj ekstrahovanih materija u svakom ekstraktu, kao i sadržaj vitamina C. Na osnovu dobijenih rezultata smo došli do zaključaka, da je najmanji prinos ekstrakcije dobijen je Soxlet-ovom ekstrakcijom, nešto veći maceracijom, a najveći prinos dobijen je ultrazvučnom ekstrakcijom. Pri određivanju sadržaja vitamina C uočili smo da je najveći sadržaj ovog vitamina, određen u ekstraktu koji je dobijen maceracijom. Na osnovu čega se smo zaključili da je metoda ekstrakcije maceracijom najoptimalnija i sa najvećim prinosom vitamina C.

## Napomena

Istraživanja u ovom radu deo su projekta „Novi koncept oplemenjivanja sorti i hibrida povrća namenjenih održivim sistemima gajenja uz primenu biotehnoloških mera“ T.R. 31059, koji finansira Ministarstvo Republike Srbije za nauku i tehnološki razvoj.

## Literatura

- Aćamović-Đoković G., Cvijović M. (2009). Praktikum iz Organske hemije, Agronomski fakultet, Čačak.
- Damjanović B. (2007). Ekstrakcija biokativnih komponenti, Metalurško-tehnološki fakultet, Podgorica.
- Džamić M. (1984). Biohemija, Beograd.
- Lajšić S., Grujić-Injac B. (1998). Hemija prirodnih proizvoda, Tehnološki fakultet, Novi Sad.
- Lakušić R. (1990). Planinske biljke, Beograd.
- Lampe, J.W. (1999). Health effects of vegetables and fruit: assessing mechanisms of action in human experimental studies, *Am. J. Chin. Nutr.*, Vol. 70, 475-490.
- MacVicar J. (2006). Ljekovito i začinsko bilje, Naklada Uliks, Rijeka.
- Milić J., Primorac M., Savić S. (2012). Farmaceutska tehnologija I, Farmaceutski fakultet, Beograd.
- Piletić V. M., Miletić Lj. B. (1989). Organska hemija, Novi Sad, Tehnološki fakultet.
- Šiler-Marinković S. (2009). Vitamini, Beograd, Tehnološko-metalurški fakultet.

---

**DETERMINATION OF VITAMIN C CONTENT IN DIFFERENT PLANT  
EXTRACTS OF *ALCHEMILLA VULGARIS* L.**

*Jelena Mladenović<sup>1</sup>, Jovana Simić<sup>1</sup>, Milena Đurić<sup>1</sup>,  
Ljiljana Bošković-Rakočević<sup>1</sup>, Nenad Pavlović<sup>2</sup>, Jasmina Zdravković<sup>2</sup>*

**Abstract**

Medicinal plants include those plant species whose one or more parts contain biologically active substances that can be used for therapeutic purposes or for chemical pharmaceutical synthesis. In the food industry, medicinal and aromatic herbs are used as spices and preservatives. Herbal extracts are obtained by contacting the crushed parts of the plant with an extraction solvent. Different extraction methods give different yields and composition of extracted components. Extraction temperature and time are important factors that influence the extraction process. For these reasons, three methods of extraction of the same plant material of the virak plant were made and the content of vitamin C as an important bioactive component in the plant was monitored.

**Key words:** *Alchemilla vulgaris* L., extraction, yield, vitamin C.

---

<sup>1</sup>University of Kragujevac, Faculty of Agronomy Čačak, Cara Dušana 34, Čačak, Serbia (jelenamala@kg.ac.rs)

<sup>2</sup>Institute Vegetable Crops, Karadorđeva 71, 11 420 Smederevska Palanka, Serbia

## UTICAJ SUŠENJA NA BIOLOŠKU AKTIVNOST EKSTRAKATA SMILJA (*HELICHRYSUM ITALICUM* (ROTH) G. DON)

Vladislava Nebrigić<sup>1</sup>, Milena Vujanović<sup>1</sup>, Gokhan Zengin<sup>2</sup>, Pavle Mašković<sup>3</sup>,  
Marija Radojković<sup>1</sup>

**Izvod:** *Helichrysum italicum* (Roth) G. Don je aromatični višegodišnji žbun koji raste u različitim regionima Mediterana i poslednjih godina privlači sve veću pažnju istraživača. U ovom radu ispitan je uticaj sušenja na biološku aktivnost smilja (*Helichrysum italicum* (roth) g. Don). Ekstrakti su dobijeni ultrazvučnom ekstrakcijom suve i sveže biljke sa dva različita rastvarača (voda i 50% etanol). Određen je sastav ukupnih fenola i flavonoida i ispitana je antioksidativna aktivnost ekstrakta primenom više različitih testova (DPPH, ABTS i FRAP). Takođe, ispitana je sposobnost inhibicije enzima BChE i  $\alpha$ -amilaze. Rezultati istraživanja pokazuju da je proces sušenja biljke opravdan, kao predtretman procesa ekstrakcije radi maksimalnog iskorišćenja biljnog potencijala vrste *Helichrysum italicum*.

**Ključne reči:** *Helichrysum italicum*, smilje, ekstrakti, antioksidativna aktivnost, sušenje

### Uvod

Rod *Helichrysum* (familija *Asteraceae*) se sastoji od približno 600 vrsta rasprostranjenih po celom svetu, od kojih 25 vrsta raste u području Mediterana (Morone-Fortunato i sar., 2010). Ime ovog roda potiče od grčkih reči “helios” što znači sunce i “chryos” što znači zlato, što označava dugotrajne jarko žute cvetove koji karakterišu ovaj rod (Pignatti, 1982).

*Helichrysum italicum* (Roth) G. Don je jedna od najpoznatijih biljaka mediteranske regije (Mari i sar., 2014). To je mali aromatičan grm, visine između 40 i 50 cm, sa žutim cvetovima, koji raste na suvim stenovitim i peščanim terenima (Mastelić i sar., 2005). Ekstrakti i izolovane komponente ove biljke su pokazali antiinflamatorno, antioksidativno (Sala i sar., 2002) i antimikrobno delovanje (Viegas i sar., 2014). Biološka aktivnost se pripisuje hemijskom sastavu različitih ekstrakata, pre svega prisustvu acetofenona, flavonoida i fluoroglucinskih derivata (Viegas i sar., 2014). Sa idejom većeg iskorišćenja prirodnog potencijala biljnih sirovina od davnina se primenjuju različite tehnike prerade svežeg biljnog materijala. Sušenje je jedan od najstarijih načina konzerviranja. Posle berbe, zbog različitih internih i eksternih faktora, sirovi svež materijal je podložan fizičko-hemijskim i mikrobiološkim promenama, što dovodi do smanjenja kvaliteta i

<sup>1</sup> Univerzitet u Novom Sadu, Tehnološki fakultet, Bulevar cara Lazara 1, 21000 Novi Sad, Srbija;

<sup>2</sup> Univerzitet u Seldžuku, Prirodno-matematički fakultet, Departman za Biologiju, Konija, Turska;

<sup>3</sup> Univerzitet u Kragujevcu, Agronomski fakultet u Čačku, Cara Dušana 34, Čačak, Srbija.

gubitka bioaktivnih jedinjenja. Međutim, fizičko-hemijske promene u biljnom materijalu tokom sušenja bitno utiču i na biološku aktivnost biljnih sirovina, zbog čega se sušenje primenjuje i kao tehnika konzerviranja, ali i predtretmana biljnog materijala pre procesa ekstrakcije.

U ovom istraživanju je ispitan biološki potencijal ekstrakata smilja dobijenih iz suve i sveže biljke *Helichrysum italicum*. Ekstrakti su dobijeni ultrazvučnom ekstrakcijom sa dva različita rastvarača, voda i 50% etanol.

## Materijal i metode rada

Nadzemni deo biljke *Helichrysum italicum* (Roth) G. Don korišćen u ovom radu sakupljen je na ostrvu Cres, Republika Hrvatska, u periodu cvetanja, jul 2018. godine. Materijal je determinisan do nivoa vrste (Herbarijumu BUNS, Departman za Biologiju i ekologiju, Prirodno-matematički fakultet Univerziteta u Novom Sadu).

Za dobijanje ekstrakata korišćen je svež i osušen biljni materijal, i dva tipa rastvarača, voda i 50% etanol. Primenjena je tehnika ultrazvučne ekstrakcije, koja je izvedena na ultrazvučnom kupatili (EUP540A, Eustruments, Francuska) u trajanju od pola sata na temperaturi od 60°C i 40 kHz.

### Određivanje ukupnog sadržaja fenola i flavonoida

Sadržaj ukupnih fenola je određen spektrofotometrijski prema metodi po Folin-Ciocalteu (Singleton i Rossi, 1965). Rezultat je izražen kao mg ekvivalenta galne kiseline po gramu suvog ekstrakta (mg GAE/g E). Sadržaj ukupnih flavonoida je određen spektrofotometrijski prema Markham-u (Harborne, 1989; Markham, 1989). Rezultat je izražen kao mg ekvivalenta rutina po gramu suvog ekstrakta (mg RU/g E).

### Određivanje biološke aktivnosti ekstrakata

Antioksidativna aktivnost ekstrakata je određena merenjem sposobnosti neutralizacije DPPH<sup>•</sup> (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) radikala i uklanjanja ABTS<sup>•+</sup> slobodnog radikala (2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolin) 6-sulfonsku kiselinu)). Urađeno je i određivanje redukcionog potencijala FRAP testom (ferric ion reducing antioxidant power) (Uysal i sar., 2017). Sva merenja su ponovljena tri puta za svaki uzorak, a rezultat je dobijen kao srednja vrednost tri merenja ± standardna devijacija i izražen u mmol ekvivalenta troloksa po gramu suvog ekstrakta (mmol TE/g E).

Određena je sposobnost inhibicije enzima BChE (butirilholinesteraze) i enzima  $\alpha$ -amilaze. Nakon pripremanja smeša i merenja apsorbance, inhibitorna aktivnost holinesteraza izražena je kao mg ekvivalenta galantamina po gramu suvog ekstrakta (mg GALAE/g E) (Uysal i sar., 2017), a sposobnost inhibicije  $\alpha$ -



amilaze izražena je kao mmol ekvivalenta akarboze po gramu suvog ekstrakta (mmol ACAE/g E) (Zengin i sar., 2014).

### Rezultati istraživanja i diskusija

Dosadašnja istraživanja su pokazala da ekstrakti biljke *H. italicum* pokazuju antiinflamatorna i antioksidativna delovanja koja se pripisuju prisustvu fenolnih jedinjenja (Sala i sar., 2002). Fenolne komponente su do sada detektovane u vodenom ekstraktu *H. italicum* (Kazazić i sar., 2016). Etanol je najčešće korišćeni rastvarač koji se primenjuje za izolovanje flavonoida iz biljnog matriksa, a samim tim i iz *H. italicum* (Maksimović i sar., 2017). Rezultati dobijeni ovim istraživanjem pokazuju da je značajno prisustvo polifenolnih komponenti što je prikazano u Tabeli 1.

Tabela 1. Sadržaj ukupnih fenola i sadržaj ukupnih flavonoida u ispitivanim ekstraktima

Table 1. Total phenolic content and total flavonoid content in investigated extracts

Uzorc Samples	Rastvarač Solvent	Sadržaj ukupnih fenola (mg GAE/g E)* Total phenolic content (mg GAE/g E)*	Sadržaj ukupnih flavonoida (mg RE/g E)** Total flavonoid content (mg RE/g E)**
sveža biljka <i>fresh herb</i>	50% EtOH	81,64±0,21	16,38±0,17
sušena biljka <i>dry herb</i>		98,78±0,59	9,77±0,75
sveža biljka <i>fresh herb</i>	H <sub>2</sub> O	60,85±0,86	4,79±0,05
sušena biljka <i>dry herb</i>		70,14±0,40	6,15±0,24

\*mg GAE/g E, mg Gallic acid equivalents per g of extract

\*\*mg RE/g E, mg Rutin equivalents per g of extract

Količina ukupnih fenola u pripremljenim ekstraktima se kreće u opsegu od 60,85 do 98,78 mg GAE/g E. Prema tipu rastvarača, može se primetiti da ekstrakti u kojima je 50% etanol rastvarač pokazuju veći sadržaj ekstrahovanih fenolnih jedinjenja, što se slaže sa većinom dosadašnjih rezultata objavljenih u ovoj oblasti. Identičan trend postoji i u količini ukupnih flavonoidnih jedinjenja, kojih ima čak dvostruko više u etanolnom ekstraktu u odnosu na vodene ekstrakte.

Najveći sadržaj ukupnih fenola detektovan je u etanolnom ekstraktu suve biljke (98,78 ± 0,59 mg GAE/g E). Međutim, ovaj ekstrakt ne poseduje i najveću količinu flavonoidnih jedinjenja, u odnosu na ostale ispitivane ekstrakte. Najveća količina flavonoidnih jedinjenja je detektovana u etanolnom ekstraktu gde je kao polazna sirovina korišćena sveža biljka (16,38 ± 0,17 mg RE/g E).

Biološka aktivnost mnogih biljnih vrsta temelji se na njihovoj antioksidativnoj aktivnosti koja se povezuje sprvenstveno a prisustvom fenolnih i flavonoidnih

jedinjenja, zbog čega je ispitana biološka aktivnost ekstrakata. Rezultati antioksidativne aktivnosti ispitivanih ekstrakata smilja su prikazani u Tabeli 2.

Tabela 2. Antioksidativna aktivnost ekstrakta  
*Table 2. Antioxidant activity of extracts*

Uzorci <i>Samples</i>	Rastvarač <i>Solvent</i>	DPPH (mg TE/g E)*	ABTS (mg TE/g E)*	FRAP (mg TE/g E)*
sveža biljka <i>fresh herb</i>	50% EtOH	89,65±3,63	122,40±6,45	152,65±0,49
sušena biljka <i>dry herb</i>		115,64±3,17	206,10±6,34	246,55±3,33
sveža biljka <i>fresh herb</i>	H <sub>2</sub> O	70,02±1,61	112,31±3,21	132,60±2,85
sušena biljka <i>dry herb</i>		69,98±4,11	147,37±0,50	147,75±1,54

\*mg TE/ g E, Trolox equivalent per g of extract

Svi ispitani ekstrakti poseduju značajnu antioksidativnu aktivnost u poređenju sa drugim biljnim vrstama. Ova aktivnost može da se poveže sa prisustvom polifenolnih jedinjenja u ekstraktu (Rigano i sar., 2014). Najjaču aktivnost u sva tri testa pokazao je etanolni ekstrakt suve biljke. Takođe, isti ekstrakt poseduje najveći sadržaj fenolnih jedinjenja. Ovaj ekstrakt ne sadrži najveću količinu flavonoida. *H. italicum* sadrži i ne-flavonoidne komponente (pironi, fluoroglucinoli, acetofenoni), koji poseduju veliku antioksidativnu aktivnost (Rosa i sar., 2011), pa se pretpostavlja da su i ova jedinjenja doprinela ostvarenim rezultatima. Etanolni ekstrakti i suve i sveže biljke imaju izraženiju antioksidativnu aktivnost u sva tri testa u odnosu na vodene ekstrakte. Rezultati analize inhibicije enzimske aktivnosti prikazani su u Tabeli 3.

Tabela3. Inhibitorna aktivnost ekstrakta na enzime BChE i α-amilaze  
*Table 3. Inhibitory effect of extracts on enzymes BchE i α-amylase*

Uzorci <i>Samples</i>	Rastvarač <i>Solvent</i>	BChE (mg GALAE/g E)*	α-Amylase (mmol ACAE/g E)**
sveža biljka <i>fresh herb</i>	50% EtOH	1,16±0,35	0,70±0,02
sušena biljka <i>dry herb</i>		na***	0,70±0,03
sveža biljka <i>fresh herb</i>	H <sub>2</sub> O	0,79±0,14	0,13±0,02
sušena biljka <i>dry herb</i>		2,29±0,27	0,12±0,01

\* mg GALAE/ g E, mg Galatamine equivalents per g of extracts

\*\* mg ACAE/ g E, mg; α-Amylase equivalents per g of extracts

\*\*\*na, not active

Ispitan je inhibitorni potencijal dobijenih ekstrakata prema enzimu BChE (butirilholinesteraza). Etanolni ekstrakt suve biljke nije ostvario inhibitorni potencijal prema BchE enzimu, dok su drugi ekstrakti realizovali umereni inhibitorni kapacitet.

Analizirani ekstrakti su pokazali inhibitorni potencijal prema enzimu  $\alpha$  -amilazi. Inhibicija prekomerne aktivnosti enzima  $\alpha$  -amilaze ekstraktima smilja ukazuje na antidijabetogeno delovanje ekstrakata. Enzim  $\alpha$ -amilaza ima funkciju u metabolizmu ugljenih hidrata i regulaciji nivoa glukoze u krvi. Smanjene prekomerne aktivnosti enzima  $\alpha$ -amilaze može da bude povezana i sa prisustvom nefenolnih komponenata koje nisu obuhvaćene sprovedenom analizom (Ratnadewi i sar., 2018). Utvrđivanjem inhibicije enzima ne uočava se značajna razlika u aktivnosti dobijenih ekstrakta sveže i suve biljke.

### Zaključak

Rezultati dobijeni ovim istraživanjem pokazuju da sušenje biljnog materijala dovodi do povećanja količine ukupnih fenolnih jedinjenja u ekstraktu nezavisno od upotrebljenog rastvarača. Sa druge strane, sušenjem ne dolazi uvek do povećanja količine ukupnih flavonoida, pa se može pretpostaviti da ekstrakti pored flavonoida poseduju i druge tipove fenolnih jedinjenja koja utiču na ukupnu biološku aktivnost ekstrakata smilja. Antioksidativna aktivnost se povećava kod ekstrakta sušene biljke, što može da bude u korelaciji sa količinom fenola u ekstraktu. Na inhibitorni potencijal ekstrakata smilja, sušenje biljnog materijala nije pokazalo značajan uticaj. Sušenje proces kojim se biljni materijal konzervira i time dodatno utiče na mikrobiološku stabilnost, zbog čega se preporučuje sušenje smilja kao i ostalog biljnog materijala, bez obzira na dosadašnje različite industrijske postupke i preporuke koju se u praksi.

### Literatura

- Kazazić M., Djapo M., Ademović E. (2016). Antioxidant activity of water extracts of some medicinal plants from Herzegovina region. *International Journal of Pure & Applied Bioscience*. 4(2): 85-90.
- Maksimović S., Tadić V., Skala D., Zizovic I. (2017). Separation of phytochemicals from *Helichrysum italicum*: An analysis of different isolation techniques and biological activity of prepared extracts. *Phytochemistry*. 138: 9-28.
- Markham K.R. (1989). Flavones, flavonols and their glycosides. U: Harborne, J.B. Dey, P.M. (Eds.), *Methods in Plant Biochemistry*, Academic Press, London, 193-237.
- Mari A., Napolitano A., Masula M., Pizza C., Piacente S. (2014). Identification and quantitative determination of the polar constituents in *Helichrysum italicum* flowers and derived food supplements. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 96: 249–255.

- Mastelic J., Politeo O., Jerkovic I., Radosevic N. (2005). Composition and antimicrobial activity of *Helichrysum italicum* essential oil and its terpene and terpenoid fractions. *Chemistry of Natural Compounds*. 41: 35-40.
- Morone-Fortunato, I., Montemurro, C., Ruta, C., Perrini, R., Sabbeta, W. and A. Blanco (2010). Essential oils, genetic relationships and in vitro establishment of *Helichrysum italicum* (Roth) G. Don ssp. *italicum* from wild Mediterranean germplasm. *Ind. Crop. Product*. 32: 639-649.
- Pignatti, S. (1982). *Florad'Italia 3*. Edagricole, Bologna.
- Ratnadewi A.A.I., Wahyudi L.D., Rochman J., Susilowati, Nugraha A.S., Siswoya T.A. (2020). Revealing anti-diabetic potency of medicinal plants of Meru Betiri National Park, Jember – Indonesia. *Arabian Journal of Chemistry*. 13: 1831-1836
- Rigano D., Formisano C., Pagano E., Senatore F., Piacente S., Masullo M., Capasso R., Izzo A., Borrelli F. (2014) A new acetophenone derivative from flowers of *Helichrysum italicum* (Roth) Don ssp. *italicum*. *Fitoterapia* 99 198-203
- Rosa A., Pollastro F., Atzeri A., Appendini G., Melis P., Deiana M., Incani A., Loru D., Dessi A (2011) Protective role of arzanol against lipid peroxidation in biological systems. *Chemistry and Physics of Lipids*. 164: 24-32
- Sala A., del Carmen Recio M., Giner R.M., Manez S., Tournier H., Schinella G., Rios J.L. (2002). Anti-inflammatory and antioxidant properties of *Helichrysum italicum*. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 54: 365-371
- Singleton V.L., Rossi J.A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16: 144-158
- Uysal S., Zengin G., Locatelli M., Bahadori M.B., Mocan A., Bellagamba G., De Luca E., Mollica A., Aktumsek A. (2017) Cytotoxic and Enzyme Inhibitory Potential of Two *Potentilla* species (*P. speciosa* L. And *P. reptans* Willd.) and Their Chemical Composition. *Frontiers in Pharmacology*. 8: 290
- Viegas D. Palmeira de Oliveira A., Salgueiro L., Martinez de Oliveira J., Palmeira de Oliveira R. (2014). *Helichrysum italicum*: From traditional use to scientific data. *Journal of Ethnopharmacology*. 151: 54-65
- Zengin, G., Sarikurkcu, C., Aktumsek, A., Ceylan, R., Ceylan, O. (2014). A comprehensive study on phytochemical characterization of *Haplophyllum myrtifolium* Boiss. endemic to Turkey and its inhibitory potential against key enzymes involved in Alzheimer, skin diseases and type II diabetes. *Industrial Crops and Products*. 53: 244-251.

## EFFECT OF DRYING TECHNOLOGY ON BIOLOGICAL ACTIVITY OF EXTRACTS OF *HELICHRYSUM ITALICUM* (ROTH) G. DON

Vladislava Nebrigić<sup>1</sup>, Milena Vujanović<sup>1</sup>, Gokhan Zengin<sup>2</sup>, Pavle Mašković<sup>3</sup>,  
Marija Radojković<sup>1</sup>

### Abstract

*Helichrysum italicum* (Roth) G. Don is aromatic perennial shrub that grows in different regions of Mediterranean and in the last decade this plant got the attention of many explorers. In this work, has been examined the influence of drying technology on the biological activity of immortelle (*Helichrysum italicum* (Roth) G. Don). Extracts were obtained using ultrasound extraction of the dried and of the fresh herb, using two different types of solvents (water and 50% ethanol). The quantity of total phenolic, total flavonoid content and antioxidant activity of extracts, using different tests (DPPH, ABTS, FRAP), were investigated. The inhibitory effect on BChE and  $\alpha$ -amylase was also investigated. Results of research shows that the drying technology of herbs is justified, as pretreatment before the extraction procedure, in behalf of maximal exploitation of *Helichrysum italicum* biological potential.

**Key words:** *Helichrysum italicum*, immortelle, extracts, antioxidant activity, drying

---

<sup>1</sup> University of Novi Sad, Faculty of Technology, Bulevar cara Lazara 1, Novi Sad, Serbia;

<sup>2</sup> Selcuk University, Faculty of Science, Department of Biology, Konya, Turkey;

<sup>3</sup> University of Kragujevac, Faculty of Agronomy Cacak, Cara Dusana 34, Čačak, Serbia.



## HEPATOTOKSIČNI I HEMATOTOKSIČNI EFEKTI IMIDAKLOPRIDA KOD MUŽJAKA I ŽENKI PACOVA WISTAR ALBINO

*Marija Milošević<sup>1</sup>, Miloš Matić<sup>1</sup>, Milica Paunović<sup>1</sup>, Pavle Mašković<sup>2</sup>,  
Branka Ognjanović<sup>1</sup>*

**Izvod:** Cilj ovog istraživanja bio je ispitivanje efekata insekticida imidakloprida (IMD) na hematološke i biohemijske parametre, aktivnost enzima antioksidativnog sistema zaštite u krvi pacova, kao i poređenje delovanja na mužjake i ženke. Rezultati su pokazali da je IMD doveo do značajnog povećanja broja eritrocita (RBC) i trombocita (Plt), nivoa ukupnih proteina, glukoze i holesterola, kao i aktivnosti AST, ALT i LDH. Pored toga, povećao je i aktivnost enzima antioksidativne zaštite. Stoga, IMD, iako prvobitno okarakterisan kao bezbedan za sisare i druge kičmenjake, ipak ispoljava određen stepen toksičnosti na njih.

**Ključne reči:** insekticidi, imidaklopid, eritrociti, oksidativni stres

### Uvod

Nekontrolisana upotreba pesticida u poljoprivredi dovodi do zagađivanja životne sredine, što kao posledicu ima štetne efekte po životinje i čoveka. (Soujanya i sar., 2013). Neonikotinoidi pripadaju novijoj klasi insekticida, koji su po strukturi i delovanju slični nikotinu. U poređenju sa organofosfatima, neonikotinoidi se smatraju manje toksičnim zahvaljujući njihovom selektivnom vezivanju za nikotinske receptore insekata u odnosu na receptore kičmenjaka (Wang i sar., 2018). Imidaklopid (IMD), prvi neonikotinoidni insekticid predstavljen na tržištu, brzo je postao jedan od najprodavanijih insekticida širom sveta za zaštitu useva i u veterini (Vohra i sar., 2014). IMD svoje insekticidno dejstvo ispoljava putem delovanja na nikotinske receptore za acetilholin (nAChRs) u centralnom nervnom sistemu insekata, što dovodi do poremećaja nervne funkcije (Chakroun i sar., 2017). IMD se brzo i skoro potpuno apsorbuje iz gastrointestinalnog trakta i eliminiše putem urina i fecesa (Najafi i sar., 2010). Međutim, uprkos prvobitnom verovanju da neonikotinoidi imaju nisko toksično dejstvo na kičmenjake, broj studija o štetnim efektima ovih insekticida na različite organe, kao što su jetra, mozak i reproduktivni sistem, je u porastu (El-Sabbagh i sar., 2018; Wang i sar., 2018; Najafi i sar., 2010). Toksično dejstvo IMD se može povezati sa oksidativnim stresom, koji nastaje usled prekomerne proizvodnje slobodnih radikala, što rezultuje u oštećenju makromolekula poput nukleinskih

---

<sup>1</sup>Univerzitet u Kragujevcu, Prirodno-matematički fakultet, Institut za biologiju i ekologiju, Radoja Domanovića 12, Kragujevac, Srbija (marija.milosevic@pmf.kg.ac.rs)

<sup>2</sup> Univerzitet u Kragujevcu, Agronomski fakultet u Čačku, Cara Dušana 34, Čačak, Srbija

kiselina, lipida i proteina, izazivajući time promene u funkcionisanju ciljnih ćelija, a potom i do njihove smrti (EL-Gendy i sar., 2010).

Usled povećane upotrebe IMD u poljoprivredi i porasta broja slučajeva trovanja ovim insekticidom, nameće se potreba za opsežnijim istraživanjima njegovog delovanja. Shodno tome, ova studija je osmišljena sa ciljem da se ispituju efekti akutnog tretmana IMD na parametre krvi i seruma, aktivnosti enzima antioksidativne zaštite kod Wistar pacova, kao i da se utvrdi da li efekti ovog insekticida zavise od pola.

## Materijal i metode rada

Za potrebe eksperimenta nabavljen je preparat Confidor 200 SL, koji sadrži 200 g/l aktivne supstance (“Bayer”, Leverkusen, Germany).

Studija je sprovedena na mužjacima i ženka pacova soja *Wistar albino*, težine  $400 \pm 30$  g na početku tretmana. Životinje su raspoređene u plastične kaveze, i u toku eksperimentalnog perioda dobijale su standardnu hranu za glodare i vodu *ad libitum*, u standardnim laboratorijskim uslovima (temperatura  $22 \pm 2^\circ\text{C}$ ; 12-časovni ciklus svetlost/mrak) u vivarijumu Prirodno-matematičkog fakulteta u Kragujevcu. Sve procedure na životinjama sprovedene su u skladu sa Direktivom EU (2010/63/EU) o zaštiti životinja koje se koriste za eksperimentalne i druge naučne svrhe i odobreni su od strane Etičkog komiteta za eksperimente na životinjama.

Nakon perioda adaptacije u trajanju od nedelju dana, životinje su podeljene u tri grupe od po 4 životinje na sledeći način:

1. Kontrolna grupa – životinje iz ove grupe dobijale su samo fiziološki rastvor (0,7 ml, *i.p.*).
2. IMD mužjaci – grupa koja je intraperitonealno dobijala IMD u dozi od 70 mg/kg svakog trećeg dana.
3. IMD ženke – grupa koja je imala isti tretman kao grupa 2.

Sve jedinke su primile ukupno po 6 injekcija.

Životinje su nakon isteka 48 sati od poslednjeg tretmana anestetizirane etrom i žrtvovane dekapitacijom. Analize hematoloških i biohemijskih parametara u krvi rađene su istog dana u akreditovanoj biohemijskoj laboratoriji. Za hematološke analize puna krv je sakupljena u mikrotajneru sa K-EDTA. Za analizu biohemijskih parametara puna krv je sakupljena u epruvete bez antikoagulansa, nakon čega se pristupilo centrifugiranju od 10 min. na  $1000 \times g$  da bi se izdvojio serum. Analize enzima antioksidativnog sistema rađene su iz lizata eritrocita u Laboratoriji za eksperimentalnu fiziologiju na Prirodno-matematičkom fakultetu u Kragujevcu. Za analize enzima antioksidativne zaštite puna krv je sakupljena u epruvete sa 3,8% natrijum-citratom. Uzorci su centrifugirani 10 min. na  $1000 \times g$ . Eritrociti su zatim odvojeni od plazme, isprani tri puta fiziološkim rastvorom u odnosu 1:3, centrifugirani 10 min. na  $1000 \times g$  i nakon toga lizirani na ledu 30 min.



Hematološka analiza je obuhvatila određivanje sledećih parametara: broj eritrocita (RBC), koncentracija hemoglobina (Hb), hematokrit (Ht), ukupan broj leukocita (WBC) i trombocita (Plt). Ove analize su obavljene na automatizovanom hematološkom analizatoru *Heriba Medical ABX Micros 60* (Japan).

Određivanje ukupnih proteina, albumina, glukoze, ukupnog holesterola, aktivnosti enzima aspartat aminotransferaze (AST) i alanin aminotransferaze (ALT) i laktat dehidrogenaze (LDH) je rađeno spektrofotometrijski (*BioSystem BTS 330*, Spain).

Aktivnost superoksid dismutaze (SOD) je određena u lizatu eritrocita prema metodi Marklund i Marklund (1974). Ova metoda se zasniva na sposobnosti SOD da u alkalnoj sredini inhibira spontanu autooksidaciju pirogalola.

Aktivnost katalaze (CAT) merena je u lizatu eritrocita metodom po Beutler-u (1982), koja se zasniva na praćenju brzine razgradnje  $H_2O_2$  do  $H_2O$  i  $O_2$  pod dejstvom CAT.

Dobijeni podaci analizirani su korišćenjem softverskog paketa *SPSS 20*. Za statističku analizu postojanja značajnih razlika između srednjih vrednosti ispitivanih parametara korišćena je analiza varijansi (ANOVA). Rezultati su prikazani kao aritmetička sredina  $X_{sr} \pm$  standardna greška (S.E.M). Kriterijum za statističku značajnost je  $p < 0.05$ .

## Rezultati istraživanja i diskusija

Tokom eksperimentalnog perioda nije zabeleženo nijedno uginuće. Rezultati ove studije pokazuju da je kod oba pola značajno povećan broj RBC, dok su vrednosti Hb i Hct i WBC neznatno promenjene, kada se uporede sa vrednostima kontrole, što znači da ovakav tretman nije doveo do anemije i većih promena hematoloških parametara (Tabela 1). IMD je doveo do značajnog smanjenja broja Plt kod mužjaka i ženki u odnosu na kontrolu (Tabela 1). Postoji više mogućih objašnjenja trombocitopenije koju je izazvao IMD. Jedan od mogućih mehanizama je supresija megakariokineze u kostnoj srži ili supresije stem ćelija u kostnoj srži. Drugi potencijalni mehanizam je povećana destrukcija i potrošnja Plt što rezultuje u slabljenju njihove funkcije (Elsharkawy et al., 2013). Prethodna istraživanja su u skladu sa rezultatima ove studije (Milošević i sar., 2017).

Tretman sa IMD je doveo do poremećaja metabolizma ugljenih hidrata, proteina i lipida. IMD je uzrokovao značajno smanjenje nivoa ukupnih proteina kod jedinki oba pola, koje može biti posledica smanjene sinteze albumina u jetri kao odgovor na delovanje IMD (Hassan i sar., 2019). Povećanje nivoa glukoze u serumu kod obe grupe tretirane insekticidom može se pripisati povećanoj razgradnji glikogena u jetri uzrokovano smanjenim vrednostima insulina. Povećan nivo glukoze u serumu može predstavljati odgovor životinje na povećane energetske zahteve (Hassan i sar., 2019). Povećanje ukupnog holesterola kod jedinki oba pola tretiranih IMD je najverovatnije nastalo usled povećane sinteze holesterola u jetri, ili može da bude znak oštećenja jetre, usled efekta pesticida na propustljivost

ćelijske membrane hepatocita (El-Demerdash i sar., 2014). Nedavna istraživanja sa IMD potvrđuju njegove efekte na nivoe glukoze i holesterola (Hassan i sar., 2019).

Tabela 1. Hematološki parametri u krvi kontrole i eksperimentalnih grupa  
 Table 1. Haematological parameters in the blood of control and experimental groups

Parametri Parameters	Eksperimentalne grupe Experimental groups			
	Kontrola Control		IMD IMD	
	Ženke/Females	Mužjaci/Males	Ženke/Females	Mužjaci/Males
Broj eritrocita Erythrocytes count	6,38 ± 0,3	6,92 ± 0,4	6,96 ± 0,4*	8,02 ± 0,5*
Hemoglobin (g/L) Haemoglobin	121,2 ± 5,1	134,8 ± 6,2	124,7 ± 5,4	137,4 ± 6,8
Hematokrit (%) Haematocrit	36,8 ± 2,8	39,4 ± 2,9	38,4 ± 2,4	41,8 ± 0,5
Broj leukocita (×10 <sup>9</sup> /L) Leukocytes count	1,82 ± 0,2	2,92 ± 0,3	2,06 ± 0,3	3,2 ± 0,5
Broj trombocita (×10 <sup>9</sup> /L) Platelets count	1003,5 ± 30,8	1065,6 ± 36,2	921,7 ± 29,6*	877,4 ± 29,5*

\*Statistički značajno u poređenju sa kontrolom (p< 0.05).

Enzimi jetre se koriste često kao biomarkeri detekcije hepatotoksičnih i hematotoksičnih efekata pesticida (Uzun i Kalender, 2013). Iz Tabele 2 se vidi da je IMD doveo do značajnog porasta aktivnosti AST, ALT i LDH u serumu kada se vrednosti obe tretirane grupe uporede sa kontrolom. Povećana aktivnost ovih enzima može se pripisati nastalom oksidativnom oštećenju membrane hepatocita. Narušavanje integriteta membrane, koje se ogleda u promeni njene propustljivosti, kao posledicu ima povećanje ovih enzima u krvotoku (El-Sabbagh i sar., 2018). Takođe, povećanje aktivnosti LDH u serumu može biti posledica hepatocelularne nekroze, što dovodi do ulaska ovog enzima u krvotok (Mansour i Mossa, 2010). Ovi rezultati su u skladu sa Mahajan i sar. (2018).

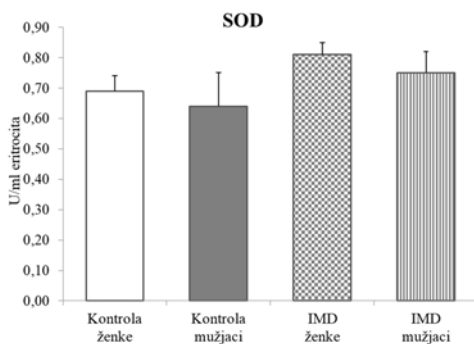
IMD je doveo do promena aktivnosti enzima antioksidativne zaštite, SOD i CAT. Enzimski antioksidanti, SOD i CAT, su važni parametri antioksidativnog sistema koji inaktivišu reaktivne vrste i predstavljaju prvu liniju odbrane od kiseoničnih slobodnih radikala u ćeliji (Chakroun et al., 2017). Kod pacova oba pola injektiranih IMD aktivnost SOD je bila neznatno povećana, dok je aktivnost CAT bila značajno povećana u poređenju sa kontrolom (Slike 1 i 2). Povišene aktivnosti

ovih enzima ukazuju na aktivirane mehanizme odbrane od oksidativnog stresa kako bi se pokrenula popravka ćelije (El-Gendy i sar., 2010).

Tabela 2. Biohemijski parametri u serumu kontrole i eksperimentalnih grupa  
 Table 2. Biochemical parameters in serum of control and experimental groups

Parametri Parameters	Eksperimentalne grupe Experimental groups			
	Kontrola Control		IMD IMD	
	Ženke/Females	Mušjaci/Males	Ženke/Females	Mušjaci/Males
Ukupni proteini (g/L) Total proteins	63,6 ± 2,3	63,8 ± 2,6	56,3 ± 2,4*	53,2 ± 3,5*
Glukoza (mmol/L) Glucose	7,2 ± 0,6	8,3 ± 0,5	9,3 ± 0,7*	10,4 ± 1,1*
Ukupni holesterol Total cholesterol (mmol/L)	1,55 ± 0,06	1,96 ± 0,05	2,09 ± 0,08*	2,33 ± 0,08*
ALT (Jed./L)	41,2 ± 1,8	45,4 ± 2,3	52,7 ± 2,6*	58,8 ± 3,2*
AST (Jed./L)	132,5 ± 5,4	134,7 ± 4,8	156,5 ± 5,6*	174,4 ± 6,1*
LDH (Jed./L)	478,2 ± 24,8	491,5 ± 32,6	597,4 ± 27,2*	656,7 ± 35,1*

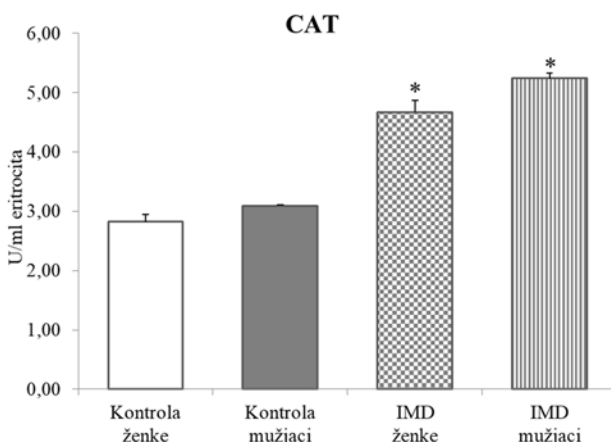
\*Statistički značajno u poređenju sa kontrolom (p< 0.05).



\*Statistički značajno u poređenju sa kontrolom (p< 0.05).

Slika 1. SOD u krvi kontrole i eksperimentalnih grupa

Figure 1. SOD in the blood of control and experimental groups



\*Statistički značajno u poređenju sa kontrolom ( $p < 0.05$ ).

Slika 2. CAT u krvi kontrole i eksperimentalnih grupa

Figure 2. CAT in the blood of control and experimental groups

## Zaključak

Tretman IMD doveo je do malih promena hematoloških parametara, dok je izazvao poremećaj u metabolizmu proteina, lipida i glukoze. Pored toga, povećana aktivnost enzima biomarkera oštećenja jetre u serumu tretiranih životinja, kao i promene aktivnosti enzima antioksidativne zaštite (SOD i CAT) pokazuju da je IMD ispoljio toksične efekte u jetri i prooksidativne efekte u eritrocitima. Poređenjem efekata kod mužjaka i ženki može se zaključiti da tretman nije pokazao neke značajnije razlike. Iako u manjem obimu u odnosu na druge komercijalne insekticide, poput organofosfata, IMD može da izazove različite štetne efekte na tkiva životinja i čoveka.

## Napomena

Istraživanja u ovom radu deo su projekta „Molekularno fiziološki biomonitoring aerobnih organizama zasnovan na određivanju biohemijskih biomarkera oksidacionog stresa” (173041) koji finansira Ministarstvo prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije.

## Literatura

Beutler E. (1982). Catalase. Red Cell Metabolism, a Manual of Biochemical Methods, Beutler (ed.), 105-106. New York: Grune and Stratton.

- Chakroun S., Grissa I., Ezzi L., Ammar O., Neffati F., Kerkeni E., Najjar M.F., Haouas Z., Cheikh H.B. (2017). Imidacloprid enhances liver damage in Wistar rats: Biochemical, oxidative damage and histological assessment. *Journal of Coastal Life Medicine*. 5: 540-546.
- El-Demerdash F.M., Nasr H.M. (2014). Antioxidant effect of selenium on lipid peroxidation, hyperlipidemia and biochemical parameters in rats exposed to diazinon. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*. 28: 89– 93.
- El-Gendy K.S., Aly N.M., Mahmoud F.H., Kenawy A., El-Sebae A.K.H. (2010). The role of vitamin C as antioxidant in protection of oxidative stress iduced by imidacloprid. *Food and Chemical Toxicology*. 48: 215-221.
- El-Sabbagh H.S., Khamiss O.A., El-Borai N.B., El-Khadrawey B.A. (2018). The potential therapeutic value of green tea and thyme aqueous extracts on imidacloprid toxicity in rats. *International Journal of Modern Pharmaceutical Research*. 2: 59-67.
- Elsharkawy E.E., Yahia D., El-Nisr N.A. (2013). Sub-chronic exposure to chlorpyrifos induces hematological, metabolic disorders and oxidative stress in rat: Attenuation by glutathione. *Environmental Toxicology and Pharmacology*. 35: 218-227.
- Hassan A.S., El-Ela F.I.A., Abdel-Aziz A.M. (2019). Investigating the potential protective effects of natural product quercetin against imidacloprid-induced biochemical toxicity and DNA damage in adult rats. *Toxicology Reports*. 6: 727–735.
- Mahajan L., Verma P.K., Raina R., Sood S. (2018). Toxic effects of imidacloprid combined with arsenic: Oxidative stress in rat liver. *Toxicology and Industrial Health*. 1–10.
- Mansour S., Mossa A. (2010). Oxidative damage, biochemical and histopathological alterations in rats exposed to chlorpyrifos and the antioxidant role of zinc. *Pesticide Biochemistry and Physiology*. 96: 14–23.
- Marklund S., Marklund G. (1974). Involvement of superoxide anion radical in the autoxidation of pyrogallol and a constituent assay for superoxide dismutase. *European Journal of Biochemistry*. 47: 469–479.
- Milošević M.D., Paunović M.G., Matić M.M., Ognjanović B.I., Saičić Z.S. (2017). The ameliorating effects of selenium and vitamin C against fenitrothion induced blood toxicity in Wistar rats. *Environmental Toxicology and Pharmacology*. 56: 204–209.
- Najafi G., Razi M., Hoshyar A., Shahmohammadloo S., Feyzi S. (2010). The effect of chronic exposure with imidacloprid insecticide on fertility in mature male rats. *International Journal of Fertility and Sterility*. 4: 9-16
- Soujanya S., Lakshman, M., Kumar A.A., Reddy G.R. (2013). Evaluation of the protective role of vitamin C in imidacloprid-induced hepatotoxicity in male Albino rats. *Journal of Natural Science, Biology and Medicine*. 4: 63-67.
- Uzun F.G., Kalender Y. (2013). Chlorpyrifos induced hepatotoxic and hematologic changes in rats: the role of quercetin and catechin. *Food and Chemical Toxicology*. 55: 549–556.

- Vohra P., Khera K.S., Sangha G.K. (2014). Physiological, biochemical and histological alterations induced by administration of imidacloprid in female albino rats. *Pesticide Biochemistry and Physiology*. 110: 50–56.
- Wang X., Anadón A., Wu Q., Qiao F., Ares I., Martínez-Larrañaga M., Yuan Z., Martínez M. (2018). Mechanism of Neonicotinoid Toxicity: Impact on Oxidative Stress and Metabolism. *The Annual Review of Pharmacology and Toxicology*. 58: 471-507.

## HEPATOTOXIC AND HAEMATOTOXIC EFFECTS OF IMIDACLOPRID IN MALE AND FEMALE WISTAR ALBINO RATS

*Marija Milošević<sup>1</sup>, Miloš Matić<sup>1</sup>, Milica Paunović<sup>1</sup>, Pavle Mašković<sup>2</sup>,  
Branka Ognjanović<sup>1</sup>*

### Abstract

The aim of this investigation was to determine the effects of insecticide imidacloprid (IMD) on haematological and biochemical parameters, the activity of enzymes of antioxidative defense system in rat blood, and to compare the effects on males and females. The results showed that IMD caused a significant increase in the number of erythrocytes (RBC), platelet count (Plt), the level of total proteins, glucose and cholesterol, as well as the activities of AST, ALT and LDH. In addition, the activity of antioxidant enzymes was increased. Therefore, IMD, despite originally characterized as safe for mammals and other vertebrates, however, exhibits some degree of toxicity to them.

**Key words:** insecticides, imidacloprid, erythrocytes, oxidative stress

---

<sup>1</sup>University of Kragujevac, Faculty of Science, Department of Biology and Ecology, Radoja Domanovića 12, Kragujevac, Srbija (marija.milosevic@pmf.kg.ac.rs)

<sup>2</sup>University of Kragujevac, Faculty of Agronomy Čačak, Cara Dušana 34, Čačak, Serbia

CIP - Каталогизација у публикацији  
Народна библиотека Србије, Београд

63(082)  
606:63(082)

**САВЕТОВАЊЕ о биотехнологији са међународним учешћем (25 ; 2020 ; Чачак)**

Zbornik radova. 2 / XXV savetovanje o biotehnologiji sa međunarodnim učešćem, Čačak, 13-14. mart 2020. godine ; [organizator] Univerzitet u Kragujevcu, Agronomski fakultet u Čačku ; [urednik Tomo Milošević]. - Čačak : Univerzitet u Kragujevcu, Agronomski fakultet, 2020 (Beograd : Službeni glasnik). - Str. 331-616 : ilustr. ; 25 cm

Na vrhu nasl. str.: University of Kragujevac, Faculty of Agronomy Cacak. - Radovi na srp. i engl. jeziku. - Tiraž 150. - Bibliografija uz svaki rad.

ISBN 978-86-87611-74-0  
ISBN 978-86-87611-75-7 (niz)

а) Пољопривреда -- Зборници б) Биотехнологија -- Зборници

COBISS.SR-ID 283507212