

# Antioksidacijska aktivnost odabranih hercegovačkih vina

KUI – 2/2013  
Prispjelo 2. travnja, 2012.  
Prihvaćeno 14. studenog, 2012.

M. Marković<sup>a\*</sup> i S. Talić<sup>b</sup>

<sup>a</sup> Agronomski i prehrambeno-tehnološki fakultet, Sveučilište u Mostaru, Biskupa Čule bb, 88 000 Mostar, BiH

<sup>b</sup> Fakultet prirodoslovno-matematičkih i odgojnih znanosti, Studij kemije, Sveučilište u Mostaru, Ulica Matice hrvatske bb, 88 000 Mostar, BiH

Brojna vina, napose crna, sadrže različite spojeve koji imaju izrazita antioksidacijska svojstva. Predmet istraživanja ovoga rada bili su fenolni spojevi koji imaju antioksidacijska svojstva, prisutni u devet komercijalno dostupnih hercegovačkih crnih vina. Određena je koncentracija ukupnih fenola, flavonoida i neflavonoida, te antioksidacijski učinak odabranih crnih vina. Koncentracija ukupnih fenola određena je spektrofotometrijski Folin-Ciocalteuovom metodom uz galnu kiselinu kao standard, dok je koncentracija flavonoida i neflavonoida određena metodom uz upotrebu formaldehida. Antioksidacijski učinak određen je dvjema metodama: Briggs-Rauscherovim oscilirajućim reakcijama i metodom redukcije radikala DPPH. Koncentracija ukupnih fenola u devet istraživanih vina, izražena u ekvivalentima galne kiseline (GAE), kreće se u rasponu od 346,836 mg L<sup>-1</sup> do 2169,7 mg L<sup>-1</sup>, što je u skladu s ranijim istraživanjima crnih vina s drugih prostora. U svim istraživanim vinima zabilježena je znatno veća koncentracija flavonoida u odnosu na neflavonoide, prosječno 85 : 15. Rezultati ukazuju na velike razlike u antioksidacijskoj aktivnosti analiziranih vina. Prema obje primijenjene metode dobiveni su slični podaci. Pozitivna i jaka korelacija između koncentracije ukupnih fenola i antioksidacijske aktivnosti vina (prema metodi DPPH je  $r = 0,93$ , a prema metodi BR-oscilirajućih reakcija  $r = 0,90$ ) potvrđuje činjenicu da vina s većom koncentracijom ukupnih fenola imaju i jači antioksidacijski učinak.

Gljučne riječi: *Antioksidansi, fenolni spojevi, vino*

## Uvod

Antioksidansi su molekule koje mogu donirati jedan elektron ili vodikov atom nekom reaktivnom, slobodnom radikalu. Neutraliziraju djelovanje slobodnih radikala i na taj način štite ljudski organizam od mogućih bolesti, ali i usporavaju kvarenje hrane bogate lipidima.<sup>1,2</sup> Mnoge tvari među kojima su i fenolni spojevi imaju izrazitu antioksidacijsku aktivnost te su stoga predmet brojnih istraživanja. Crna vina imaju visok sadržaj fenolnih spojeva koji osim blagotvornog utjecaja na zdravlje<sup>3</sup> imaju velik utjecaj na organoleptička svojstva, posebice na boju, gorčinu i trpkost.<sup>4</sup> Sastav fenolnih spojeva u vinu ovisi o sorti grožđa koja se upotrebljava, procesima proizvodnje te o kemijskim reakcijama koje se događaju tijekom starenja vina.<sup>5</sup>

U grožđu i vinu zastupljene su dvije glavne skupine fenolnih spojeva: neflavonoidi i flavonoidi. Neflavonoidi su jednostavnije građe od flavonoida i imaju jedan fenolni (benzenski) prsten, za razliku od flavonoida koji imaju dva fenolna prstena međusobno povezana lancem od triju ugljikovih atoma. Najzastupljeniji predstavnici neflavonoida u grožđu i vinu su fenolne kiseline (hidroksibenzojeve i hidroksicimetne) i stilbeni, a predstavnici flavonoida su flavonoli, flavanonoli, flavan-3-oli i antocijani.<sup>6</sup>

## Eksperimentalni dio

Istraživanjem je obuhvaćeno devet komercijalno dostupnih uzoraka vina iz različitih dijelova Hercegovine. Tijekom istraživanja sva su vina čuvana u hladnjaku, u tamnom prostoru, a analize su provedene početkom 2011. godine (tablica 1). Sva mjerenja provedena su po tri puta, a dobiveni rezultati predstavljaju njihovu srednju vrijednost.

### Upotrijebljene kemikalije

U eksperimentalnom dijelu ovog rada upotrijebljene su sljedeće kemikalije:

- natrijev karbonat (Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>): Kemika d. d. – Zagreb, Hrvatska
- galna kiselina (C<sub>7</sub>H<sub>6</sub>O<sub>3</sub>): Semikem d. o. o. – Sarajevo, BiH
- Folin-Ciocalteuov reagens: Kemika d. d. – Zagreb, Hrvatska
- formaldehid (CH<sub>2</sub>O): Kemika d. d. – Zagreb, Hrvatska
- klorovodična kiselina (HCl): Semikem d. o. o. – Sarajevo, BiH
- DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) (C<sub>18</sub>H<sub>12</sub>N<sub>5</sub>O<sub>6</sub>): Fluka Chemie GmbH – Švicarska
- etanol ( $\varphi = 96\%$ ) (C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH): Semikem d. o. o. – Sarajevo, BiH
- kalijev jodat (KIO<sub>3</sub>): HiMedia laboratories – Mumbai, Indija

\* Autor za dopisivanje: Marijana Marković,  
e-pošta: markovic\_marijana@hotmail.com

T a b l i c a 1 – Opis uzoraka analiziranih crnih vina

T a b l e 1 – Description of analyzed red wine samples

Redni br. uzorka	Naziv	Proizvođač	Godina berbe	Obujam boce / L	Porijeklo
1.	<i>Blatina Marjanović</i>	Obitelj Marjanović	2008.	0,75	Služanj-Čitluk
2.	<i>Šjor Bepo</i>	Dalmacijavino BiH	–	1,00	Široki Brijeg
3.	<i>Cabernet Sauvignon</i>	Vinarija Domanovići	2007.	0,75	Čapljina
4.	<i>Blatina</i>	Stolački podrumi	2007.	1,00	Stolac
5.	<i>Blatina Crni krš</i>	Vinarija Škegro	2006.	0,75	Radišići-Ljubuški
6.	<i>Blatina Matić</i>	Vina Matić	2008.	0,75	Čapljina
7.	<i>Vranac</i>	Podrum Popovac	–	0,75	Trebinje
8.	<i>Doman</i>	Vinarija Domanovići	2008.	1,00	Čapljina
9.	<i>Blatina</i>	Vinarija Čitluk d. d.	2007.	0,75	Čitluk

- sumporna kiselina (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>): Semikem d. o. o. – Sarajevo, BiH
- vodikov peroksid (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>): Semikem d. o. o. – Sarajevo, BiH
- malonska kiselina (C<sub>3</sub>H<sub>4</sub>O<sub>4</sub>): Semikem d. o. o. – Sarajevo, BiH
- manganov sulfat monohidrat (MnSO<sub>4</sub> · H<sub>2</sub>O): Semikem d. o. o. – Sarajevo, BiH
- škrob [(C<sub>6</sub>H<sub>10</sub>O<sub>5</sub>)<sub>n</sub>]: Semikem d. o. o. – Sarajevo, BiH

#### Instrumenti i ostali pribor

- UV-VIS-spektrofotometar: Shimadzu UVmini-1240,
- analitička vaga: Adventurer Pro AV114, Ohaus Corporation, Švicarska

#### Određivanje koncentracije ukupnih fenola

Ukupni fenoli određeni su spektrofotometrijski mjerenjem intenziteta nastalog obojenja pri valnoj duljini 765 nm. Metoda se temelji na oksidaciji fenolnih skupina dodatkom Folin-Ciocalteuova reagensa i nastajanja obojenog produkta. Folin-Ciocalteuov reagens je smjesa fosfovolframske i fosfomolibdenske kiseline, a pri oksidaciji fenolnih grupa do kinona ove kiseline reduciraju se u okside volframa i molibdena koji su plavo obojeni.<sup>7</sup>

U odmjernu tikvicu obujma 25 mL otpipetira se 0,25 mL uzorka (prethodno razrijeđenog u omjeru 1 : 10), 15 mL destilirane vode i 1,25 mL Folin-Ciocalteuova reagensa te dobro izmiješa. Nakon jedne minute doda se 3,75 mL otopine natrijeva karbonata (Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, w = 20 %) i nadopuni destiliranom vodom do oznake. Reakcijska smjesa se ostavi stajati 2 h na sobnoj temperaturi u tamnoj prostoriji, a potom se izmjeri apsorbancija pri valnoj duljini 765 nm.

Za izračunavanje koncentracije ukupnih fenola prethodno se izradi kalibracijska krivulja uz upotrebu galne kiseline kao standarda. Upotrebljavaju se otopine koncentracije 50, 100, 150, 250 i 500 mg L<sup>-1</sup>. Iz svake tikvice se otpipetira 0,25 mL uzorka (galne kiseline) u odmjerne tikvice obujma 25 mL, te postupa po propisu za određivanje ukupnih fenola. Rezultati se izražavaju kao ekvivalent galne kiseline (GAE, izražen kao masena koncentracija, mg L<sup>-1</sup>).

U tu svrhu u ovom radu, primjenom računalnog programa Excel, dobivena je sljedeća jednadžba pravca :

$$A_{765} = 0,113 \gamma / \text{mg L}^{-1} + 0,007$$

$$R = 0,994$$

gdje je  $A$  apsorbancija pri 765 nm,  $\gamma$  masena koncentracija galne kiseline, a  $R$  koeficijent determinacije.

#### Određivanje koncentracije flavonoida i neflavonoida

Flavonoidi se talože primjenom formaldehida. Formaldehid reagira s flavonoidima pri čemu se stvaraju kondenzirani produkti, koji se istalože i uklone filtriranjem.<sup>8</sup>

Pomiješa se točno 1 mL nerazrijeđenog uzorka vina, 1 mL klorovodične kiseline (razrijeđene vodom u obujamskom omjeru 1 : 4) i 0,5 mL formaldehida koncentracije 8 mg L<sup>-1</sup>. Tako pripravljena otopina dobro se promućka i ostavi na sobnoj temperaturi 24 h, nakon čega se filtrira, a preostali fenolni spojevi (neflavonoidna frakcija) u filtratu odrede se prema prethodno opisanoj metodi za određivanje ukupnih fenola.

Dobiveni rezultati izražavaju se kao ekvivalent galne kiseline (GAE), i predstavljaju neflavonoidnu frakciju fenolne smjese u vinu. Udjel flavonoida (GAE) odredi se računski kao razlika koncentracije ukupnih fenola i neflavonoida.

$$\gamma(\text{flavonoidi}) = \gamma(\text{ukupni fenoli}) - \gamma(\text{neflavonoidi})$$

#### Antioksidacijska svojstva odabranih uzoraka vina

Za ispitivanje antioksidacijske učinkovitosti odabranih uzoraka vina primijenjene su dvije metode: metoda pomoću DPPH i Briggs-Rauscherova metoda (BR).

#### Određivanje antioksidacijskog učinka pomoću 2,2-difenil-1-pikrilhidrazila (DPPH)

Pri određivanju antioksidacijskog učinka određenog spoja ili biljnog ekstrakta primjenom pomoću DPPH prati se reakcija između stabilnog radikala DPPH i uzorka.

Ova metoda temelji se na redukciji stabilnog radikala DPPH, koji radi nesporenog elektrona pokazuje jaku apsorpciju u vidljivom dijelu elektromagnetskog spektra.<sup>9</sup>

Sparivanjem elektrona radikala DPPH u prisutnosti elektron-donora (antioksidansa), ljubičasta se boja mijenja u žutu. Nastali spoj (reducirani DPPH) ima smanjen intenzitet apsorpcije u vidljivom dijelu spektra, a rezultirajuće obezbojenje je u stehiometrijskom odnosu s brojem sparenih elektrona. Smanjenje apsorpcije prati se pri valnoj duljini 517 nm.

Za ovu metodu upotrijebljena je metanolna otopina radikala DPPH koncentracije  $6 \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ . U kivetu se otpipetira 1,5 mL otopine DPPH (apsorbancija  $A \approx 1$ ) i 25  $\mu\text{L}$  uzorka (vino) te se mjeri pad apsorbcije tijekom 30 min. Udjel radikala DPPH reduciranog djelovanjem antioksidansa računa se prema sljedećoj jednadžbi:<sup>10</sup>

$$x(\text{red. DPPH}) = (A_0 - A_t)/A_0$$

gdje je  $A_0$  apsorbcija otopine DPPH bez dodatka antioksidansa, na početku mjerenja ( $t = 0$ ), a  $A_t$  apsorbcija otopine s antioksidansom u vremenu  $t$ .

### Određivanje antioksidacijskog učinka Briggs-Rauscherovim oscilirajućim reakcijama (BR)

Briggs-Rauscherove oscilirajuće reakcije odvijaju se u nizu međusobno povezanih reakcija točno definiranih sastojaka, a specifične su zbog promjene boje reakcijske smjese u određenim vremenskim intervalima, počevši od bezbojne, zatim žute, do tamno plave.<sup>11</sup> Oscilirajući sustav sastoji se od odgovarajućih omjera vodenih otopina vodikova peroksida, jodne kiseline, manganove(II) soli i malonske kiseline, uz škrob kao indikator. Glavni intermedijeri u reakcijama su jodidni ion, oksojodne vrste HOI, HOIO i IO<sup>\*</sup> i hidrogenperoksidni radikal HOO<sup>\*</sup>. Praćenjem boje reakcijske smjese praćene su promjene u samoj reakciji. Dodatkom tvari koja ima antioksidacijska svojstva u reakcijsku smjesu, oscilacije se ovisno o vrsti i količini antioksidansa povremeno prekidaju, da bi se nakon nekog vremena ponovno nastavile. Vrijeme prekida oscilacijskih reakcija naziva se vremenom inhibicije i u proporcionalnom je odnosu s količinom i svojstvima dodanog antioksidansa.<sup>12</sup>

Kemikalije:

– otopina A:  $c(\text{KIO}_3) = 0,2 \text{ mol L}^{-1}$ ,  $c(\text{H}_2\text{SO}_4) = 0,080 \text{ mol L}^{-1}$   
 priprema: odvaže se 4,28 g kalijeva jodata ( $\text{KIO}_3$ ) i prenese u odmjernu tikvicu od 100 mL te se doda oko 50 mL destilirane vode i dobro izmiješa. Zatim se doda 0,45 mL koncentrirane sumporne kiseline ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) i dopuni destiliranom vodom do oznake.

– otopina B:  $w(\text{H}_2\text{O}_2) = 15 \%$

priprema: otopina mora biti svježe pripravljena, ne starija od nekoliko sati, a pripravi se razrijeđenjem 30-tnog vodikova peroksida destiliranom vodom u omjeru 1 : 1.

– otopina C:  $c(\text{malonska kiselina}) = 0,150 \text{ mol L}^{-1}$ ,  
 $c(\text{MnSO}_4) = 0,020 \text{ mol L}^{-1}$ ,  $w(\text{škrob}) = 0,030 \%$

priprema: u odmjernu tikvicu obujma 100 mL stavi se 1,56 g malonske kiseline, 0,338 g manganova(II) sulfata ( $\text{MnSO}_4$ ), 15 ml otopine škroba te dopuni destiliranom vodom do oznake.

BR-oscilirajuće reakcije praćene su u smjesi pripravljenoj mješanjem triju bezbojnih otopina: A, B i C, i to po 5 mL

od svake. Nakon treće pojave modrog obojenja reakcijske smjese dodaju se različiti obujmi uzorka. Uzorak se pretihodno razrijedi u omjeru 1 : 40. Dodaje se 0,10; 0,25; 0,50 te 0,75 mL razrijeđenog uzorka, te se mjeri vrijeme inhibicije, to jest vrijeme do ponovne pojave modrog obojenja. Za miješanje reakcijske smjese korištena je magnetska mješalica brzine 300 okretaja u sekundi. Rezultat je prikazan grafički kao ovisnost obujma uzorka i vremena inhibicije.

## Rezultati i rasprava

### Koncentracije ukupnih fenola, flavonoida i neflavonoida

Rezultati spektrofotometrijskog određivanja ukupnih fenola u vinima prikazani su u tablici 2, a vrijednosti su izražene u  $\gamma(\text{GAE})$ . Dobiveni rezultati pokazuju da postoji velika razlika u koncentraciji fenolnih spojeva u istraživanim vinima.

Najveća koncentracija ukupnih fenola izmjerena je u uzorku vina *Cabernet Sauvignon*, vinarije Domanovići (Čapljina) i iznosi 2169,7 mg L<sup>-1</sup> GAE. Najniža koncentracija izmjerena je u vinu *Blatina*, vinarije Stolac i iznosi 346,836 mg L<sup>-1</sup> GAE. Prema literaturnim podatcima koncentracije ukupnih fenola u crnim vinima, određene istom metodom uz galnu kiselinu kao standard kreću se u rasponu od 180 mg L<sup>-1</sup> GAE do 3000 mg L<sup>-1</sup> GAE,<sup>13,14</sup> tj. prosječna vrijednost im je oko 2160 mg L<sup>-1</sup> GAE.<sup>15</sup> Prema *Robinsonu*<sup>15</sup> udjel flavonoida u ukupnim fenolima iznosi do 90 %, što je u skladu s dobivenim rezultatima. U ovom istraživanju najveći udjel flavonoida u sadržaju ukupnih fenola nađen je u uzorku vina *Doman* vinarije Domanovići (Čapljina) i iznosi 92,01 %. Najmanji udjel flavonoida dobiven je u vinu *Šjor Bepo* (Široki Brijeg) i iznosi 72,00 %. Najveći relativni udjel ukupnih neflavonoida (28 %) imalo je vino *Šjor Bepo* (Široki Brijeg), dok je najmanji udjel zabilježen u vinu *Doman* (7,99 %) (tablica 2).

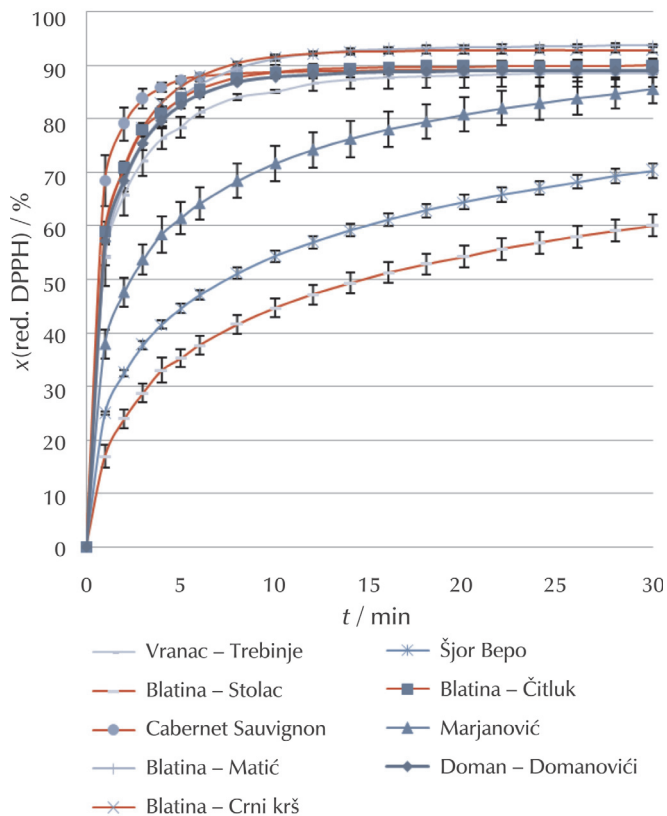
### Antioksidacijski učinak ispitan pomoću DPPH

Na slici 1 prikazani su rezultati određivanja antioksidacijskog učinka ispitivanih uzoraka vina postignuti primjenom DPPH. U otopinu radikala DPPH dodano je po 25  $\mu\text{L}$  vina te je obujamski udjel vina u reakcijskoj otopini iznosio 1,6 %. Nakon 30 minuta najveću učinkovitost redukcije radikala DPPH radikala pokazao je uzorak vina *Blatina Matic* (Čapljina) (93,55 %), dok je najmanju učinkovitost redukcije pokazalo vino *Blatina* vinarije Stolac (59,95 %) (tablica 2).

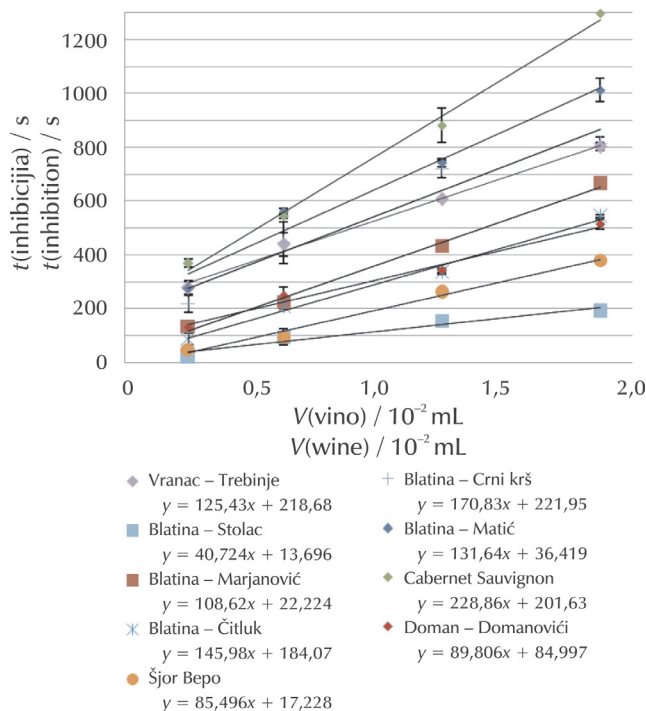
Kao i u radovima drugih autora<sup>16</sup> dobivene su visoke vrijednosti redukcije DPPH-radikala (od 60 % do 94 %), što upućuje na veoma dobar antioksidacijski kapacitet analiziranih crnih vina.

### Antioksidacijski učinak prema oscilirajućim reakcijama Briggs-Rauscher (BR)

Slika 2 prikazuje antioksidacijski učinak ispitivanih vina određen metodom BR. Na prikazanim grafovima uočava se linearna ovisnost vremena inhibicije o obujmu dodanog uzorka. Iz dobivenih jednadžbi pravaca očitani su koeficijenti smjera te su međusobno uspoređeni. Dakle, što je



Slika 1 – Učinkovitost redukcije slobodnog radikala DPPH  
Fig. 1 – Reduction efficiency of DPPH free radical



Slika 2 – Antioksidacijski učinak vina određen metodom BR  
Fig. 2 – Antioxidant capacity of wines determined by BR method

veći koeficijent smjera pravca (a) veća je antioksidacijska aktivnost.<sup>17</sup>

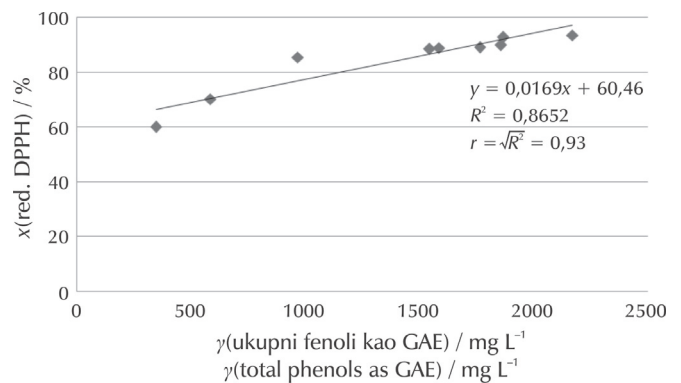
Najveću vrijednost antioksidacijske aktivnosti pokazao je uzorak vina *Cabernet Sauvignon* vinarije Domanović (a = 228,857), koji ujedno među analiziranim vinima sadrži i najveću koncentraciju ukupnih fenola ( $\gamma(\text{GAE}) = 2169,74 \text{ mg L}^{-1}$ ). Najslabiju antioksidacijsku aktivnost (kao i najmanju koncentraciju ukupnih fenola ( $\gamma(\text{GAE}) = 346,836 \text{ mg L}^{-1}$ ) pokazao je uzorak *Blatina* vinarije Stolac (a = 40,723).

### Korelacija

S ciljem utvrđivanja povezanosti koncentracije ukupnih fenola s antioksidacijskim učinkom (dobivenim prema obje primijenjene metode) izračunata je korelacija između ta dva parametra. Vrijednosti koncentracija ukupnih fenola prikazane su na apscisi od najmanje prema najvećoj vrijednosti, a na ordinati su im pridruženi udjeli reduciranog radikala DPPH (slika 3), ili vrijednosti nagiba pravca (slika 4). Koeficijent korelacije izračunat je prema jednadžbi:

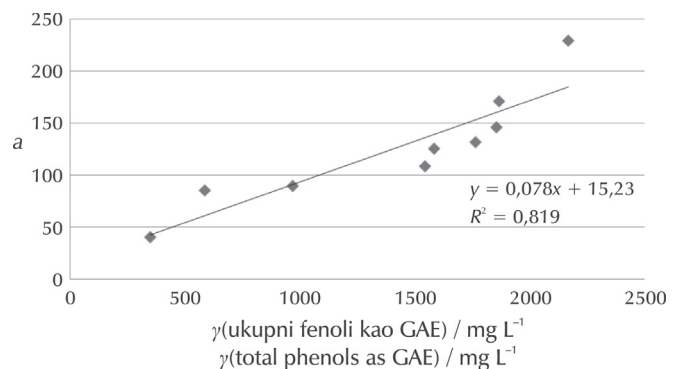
$$r = \sqrt{R^2}$$

Visoke vrijednosti koeficijenata korelacije u oba slučaja ( $r = 0,93$  za DPPH-metodu te  $r = 0,90$  za BR-metodu) pokazuju da je korelacija pozitivna, vrlo jaka i visoko značajna.



Slika 3 – Odnos redukcije radikala DPP i koncentracije ukupnih fenola

Fig. 3 – Relationship between reduction of DPPH radical and the concentration of total phenols



Slika 4 – Odnos koeficijenta smjera pravca dobivenog BR-reakcijom i koncentracije ukupnih fenola

Fig. 4 – Relationship of slope obtained by BR reaction and the concentration of total phenols

T a b l i c a 2 – Koncentracija ukupnih fenola, flavonoida, neflavonoida i antioksidacijska aktivnost uzoraka vina

T a b l e 2 – Concentration of total phenols, flavonoids and nonflavonoids, and antioxidant activity of wine samples

Uzorak Sample	Ukupni fenoli Total phenols	Flavonoidi Flavonoids	Neflavonoidi Nonflavonoids	Antioksidacijski učinak Antioxidant activity	
				Briggs-Rauscher	DPPH
	$\gamma(\text{GAE}) / \text{mg L}^{-1}$	$\gamma(\text{GAE}) / \text{mg L}^{-1}$ $x(\text{u ukupnim fenolima}) / \%$ $x(\text{in total phenols}) / \%$	$\gamma(\text{GAE}) / \text{mg L}^{-1}$ $x(\text{u ukupnim fenolima}) / \%$ $x(\text{in total phenols}) / \%$	a	$x(\text{red. DPPH}) / \%$
Vranac (Podrumi popovac)	1585,016	1298,598 81,93	286,417 18,07	125,434	88,48
Blatina (Vinarija Stolac)	346,836	229,287 86,26	117,577 13,74	40,723	59,95
Blatina Matić	1765,34	1535,475 86,98	229,882 13,02	131,638	93,55
Cabernet Sauvignon (Domanovići)	2169,74	1899,462 86,47	270,238 13,53	228,857	88,97
Doman (Domanovići)	1536,106	1412,648 92,01	123,422 7,99	89,805	88,94
Blatina Marjanović	968,311	770,773 80,00	197,578 10,00	108,615	85,49
Blatina (Vinarija Čitluk)	1856,382	1615,853 87,04	240,529 12,96	145,978	89,89
Blatina Crni krš	1868,13	1664,677 89,10	203,452 10,90	170,828	92,75
Šjor Bepo	584,57	420,767 72,00	163,805 28,00	85,495	70,20

Primjenjujući istu jednadžbu, izračunata je korelacija između sadržaja flavonoida i antioksidacijskog učinka. Dobi-vene su visoke vrijednosti koeficijenta korelacije ( $r = 0,92$  za DPPH-metodu te  $r = 0,90$  za BR-metodu). Dobivenim podacima koji su u skladu s rezultatima drugih istraživača<sup>16</sup> potvrđujemo činjenicu da visoke koncentracije flavonoida doprinose većoj antioksidacijskoj aktivnosti vina.

Blaga odstupanja u odnosu antioksidacijske učinkovitosti i koncentracije ukupnih fenola (slike 3 i 4) objašnjavaju se činjenicom da na antioksidacijsku aktivnost uzorka, osim koncentracije ukupnih fenola, utječe i njihov sastav koji je u svakom vinu različit.<sup>18</sup>

## Zaključci

Koncentracija ukupnih fenola, izražena kao ekvivalent galne kiseline (GAE), u devet istraživanih vina s prostora Hercegovine kreće se od 346,836  $\text{mg L}^{-1}$  do 2169,7  $\text{mg L}^{-1}$ . U svim analiziranim uzorcima vina zabilježena je znatno veća koncentracija flavonoida u odnosu na neflavonoide, prosječno 85 : 15.

Istraživana vina su pokazala različitu, ali općenito dosta veliku antioksidacijsku aktivnost prema obje primijenjene metode. Najbolju antioksidacijsku aktivnost pokazalo je vino *Blatina Matić*, Čapljina (prema metodi DPPH) i vino *Cabernet Sauvignon*, Domanovići (prema metodi BR-oscilirajućih reakcija), slijede *Vranac*, Trebinje; *Doman*, Domanovići – Čapljina; *Blatina*, Vinarija Čitluk i *Blatina Crni Krš*,

Ljubuški. Pozitivna i jaka korelacija između koncentracije ukupnih fenola i antioksidacijske aktivnosti vina potvrđuje činjenicu da vina s većom koncentracijom ukupnih fenola imaju i jači antioksidacijski učinak.

## Popis simbola i kratica

### List of symbols and abbreviations

- A – apsorbancija  
– absorbance
- a – koeficijent smjera pravca  
– slope of a line
- R – koeficijent determinacije  
– coefficient of determination
- r – koeficijent korelacije  
– correlation coefficient
- t – vrijeme, s, min  
– time, s, min
- V – obujam, mL  
– volume, mL
- w – maseni udjel, %  
– mass fraction, %
- x – množinski udjel, %  
– amount of substance fraction, %
- $\gamma$  – masena koncentracija,  $\text{mg L}^{-1}$   
– mass concentration,  $\text{mg L}^{-1}$
- $\varphi$  – obujamski udjel, %  
– volume fraction, %

- BR – Briggs-Rauscherova metoda  
– Briggs-Rauscher method
- DPPH – 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil  
– 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl
- GAE – ekvivalenti galne kiseline  
– gallic acid equivalents

## Literatura

## References

1. J. E. Kinsella, E. Frankel, B. German, J. Kanner, Possible mechanisms for the protective role of antioxidants in wine and plant foods, *Food Technol.* **47** (1993) 85–89.
2. W. A. Pryor, The antioxidant nutrients and disease prevention – What do we know and what do we need to find out?, *Am. J. Clin. Nutr.* **53** (1991) 391–393.
3. J. Yang, T. E. Martinson, R. H. Liu, Phytochemical profiles and antioxidant activities of wine grapes, *Food Chem.* **116** (2009) 332–339.
4. D. Hernanz, A. F. Recamales, M. L. Gonzales-Miret, M. J. Gomez-Miguez, I. M. Vicario, F. J. Heredia, Phenolic composition of white wines with a prefermentative maceration at experimental and industrial scale, *Int. J. Food Eng.* **80** (2007) 327–335.
5. V. Katalinić, High-performance liquid chromatographic determination of flavan fingerprint in plant-extracts, *J. Chromatogr. A.* **775** (1997) 359–367.
6. P. Ribereau-Gayon, Y. Glories, A. Maujean, D. Dubourdieu, *The Chemistry of Wine Stabilization and Treatments*. Vol. 2, John Wiley & Sons, Ltd., 2000., Chichester, Engleska, str. 4–227.
7. C. S. Ough, M. A. Amerine, *Methods for analysis of musts and wines*. Vol. 2, John Wiley & Sons, 1988., New York, Chichester, Brisbane, Toronto, Singapore.
8. M. A. Amerine, C. S. Ough, *Methods for Analysis of Musts and Wines*. Vol. 1, John Wiley & Sons, 1980., New York.
9. V. Bondet, W. Brand-Williams, C. Berset, Kinetics and mechanisms of antioxidant activity using the DPPH free radical method, *Lebensm. Wiss. Technol.* **30** (1997) 609–615.
10. G. C. Yen, P. D. Duh, Scavenging effect of methanolic extracts of peanut hulls on free radical and active oxygen species, *J. Agric. Food Chem.* **42** (1994) 629–632.
11. R. Cervellati, K. Honer, S. D. Furrow, C. Neddens, S. Costa, The Briggs-Rauscher Reaction as a Test of measure the activity of antioxidants, *Helv. Chim. Acta* **84** (2001) 3533–3547.
12. J. Gajdoš Kljusurić, S. Đaković, I. Kruhak, K. Kovačević Ganić, D. Komes, Ž. Kurtanjek, Application of Briggs-Rauscher reaction for measurement of antioxidant capacity of Croatian wines, *Acta Aliment. Hung.* **34** (2005) 483–492.
13. V. L. Singleton, J. A. Rossi, Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents, *Am. J. Eno. Viticult.* **16** (1965) 144–158.
14. V. L. Singleton, R. Orthofer, R. M. Lamuela-Raventos, Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent, *Method. Enzimol.* **299** (1999) 152–178.
15. J. Robinson (ur.), *The Oxford Companion to Wine*. Third Edition, Oxford University Press, 2006., str. 273–274.
16. V. Katalinić, M. Miloš, D. Modun, I. Musić, M. Boban, Antioxidant effectiveness of selected wines in comparison with (+)-catechin, *Food Chem.* **86** (2004) 593–600.
17. E. Prenesti, S. Toso, S. Berto, Redox chemistry of red wine. Quantification by an oscillating reaction of the overall antioxidant power as a function of the temperature, *J. Agric. Food Chem.* **53** (2005) 4220–7.
18. C. T. Saucier, A. L. Waterhouse, Synergetic activity of catechin and other antioxidants, *J. Agric. Food Chem.* **47** (1999) 4491–4494.

## SUMMARY

### Antioxidant Activity of Selected Herzegovinian Wines

M. Marković<sup>a</sup> and S. Talic<sup>b</sup>

Many wines, particularly red, contain different compounds that possess strong antioxidant activity. The subject of this paper was the determination of phenol compounds with strong antioxidant activity, contained in nine commercially available Herzegovinian red wines. Total phenols, flavonoids, nonflavonoids content and antioxidant activity of selected wines were determined. Total phenols content was determined spectrophotometrically by the Folin-Ciocalteu method using gallic acid as standard, while flavonoids and nonflavonoids content was determined by using formaldehyde. Two distinct methods were used to assess the antioxidant capacity of the tested wines; Briggs-Rauscher oscillating reaction method, and the reduction of DPPH radicals. Total phenols content in nine studied wines, expressed as Gallic Acid Equivalent (GAE), range from 346.836 mg L<sup>-1</sup> to 2169.7 mg L<sup>-1</sup>, which is consistent with data from previous studies of red wines from other regions. All studied wines showed significantly higher flavonoids content compared to nonflavonoids, an average of 85 : 15. The results indicate significant differences in antioxidant activity of the analyzed wines. According to both applied methods, similar data were measured. A positive and strong correlation between total phenol content and antioxidant activity (by DPPH method,  $r = 0.93$ , according to the method of BR oscillating reaction  $r = 0.90$ ) confirms the fact that wines with higher total phenols content have stronger antioxidant activity.

<sup>a</sup> Faculty of Agriculture and Food Technology, University of Mostar, Biskupa Čule bb, 88 000 Mostar, Bosnia and Herzegovina

<sup>b</sup> Faculty of Mathematics and Science Education, University of Mostar, Matice hrvatske bb, 88 000 Mostar, Bosnia and Herzegovina

Received April 2, 2012  
Accepted November 14, 2012