

Broj 2 • septembar 2022. N° 2 • September 2022.



Trendovi u **molekularnoj biologiji**
Trends in **Molecular Biology**



Beograd • Belgrade • 2022.
IMGGI • IMGGE

<p>Pedesetogodišnjica osnivanja studijskog programa molekularna biologija i fiziologija Gordana Matić</p>	<p>8</p>	<p>50th anniversary of the molecular biology and physiology study program</p>
<p>TRPV1: Ciljno mesto dejstva lekova u terapiji različitih stanja Branislava Medić Brkić, Katarina Savić Vujović, Dragana Srebro, Sonja Vučković</p>	<p>15</p>	<p>TRPV1: A Promising drug target for the treatment of various conditions</p>
<p>Geni-modifikatori β-talasemijskih sindroma – novi terapijski pristupi Milena Ugrin</p>	<p>32</p>	<p>Gene modifiers in β-thalassemia syndromes – a new therapy approach</p>
<p>Novi uvid u genetiku naslednih perifernih neuropatija Milica Keckarević Marković, Miljana Kecmanović, Dusan Keckarević</p>	<p>51</p>	<p>Genetics of inherited peripheral neuropathies: renewed data</p>
<p>Savremeni pristupi u istraživanju molekularne osnove karcinoma prostate Zorana Dobrijević, Suzana Matijašević-Joković, Ana Branković, Ana Djordjević, Milica Popović i Goran Brajušković</p>	<p>63</p>	<p>Modern approaches in research of the molecular basis of prostate cancer</p>
<p>Uticaj tumorske mikrosredine na razvoj i progresiju maligniteta Ilona Đorić, Tijana Išić Denčić, Sonja Šelemetjev</p>	<p>75</p>	<p>The effects of tumor microenvironment on malignancy formation and progression</p>
<p>Uloga hsa-miR-93-5p u kolorektalnom karcinomu Jovana Despotović</p>	<p>90</p>	<p>Role of hsa-miR-93-5p in colorectal cancer Jovana Despotović</p>
<p>Antitumorski potencijal novih derivata steroidnih hidrazona Marijana B. Živković</p>	<p>104</p>	<p>Antitumor potential of new steroidal hydrazone derivatives</p>
<p>Molekularna dijagnostika glioblastoma – klinički uticaji <i>IDH</i> mutacija i epigenetičkog utišavanja aktivnosti <i>MGMT</i> gena Nikola Jovanović, Tatjana Mitrović</p>	<p>125</p>	<p>Molecular diagnostics of glioblastoma – clinical impact of <i>IDH</i> mutations and epigenetic silencing of <i>MGMT</i></p>
<p>Molekularni profil timoma Jelena Perić</p>	<p>143</p>	<p>Molecular profile of thymoma</p>
<p>Ekspresija i funkcija insulina u centralnom nervnom sistemu Tamara Dakić, Predrag Vujović</p>	<p>155</p>	<p>Insulin expression and action in the central nervous system</p>
<p>Neuroprotektivni potencijal progesterona Ivana Guševac Stojanović, Dunja Drakulić</p>	<p>168</p>	<p>Neuroprotective progesterone potential</p>
<p>Uloga dehidroepiandrosterona u moždanoj ishemiji/reperfuziji Marina Zarić Kontić, Jelena Martinović</p>	<p>186</p>	<p>Effect of dehydroepiandrosterone on cerebral ischemia/reperfusion</p>
<p>Hemijski profil i antioksidativna aktivnost crvenih vina klonova autohtone i internacionalnih sorti vinove loze Neda Đorđević</p>	<p>206</p>	<p>Chemical profile and antioxidative activity of red wines obtained from autochthonous and international grape clone varieties</p>
<p>Dihidrohalkoni jabuke florizin i floretin kao nove alelopatske supstance Mariana Stanišić, Slavica Ninković, Nevena Banjac</p>	<p>223</p>	<p>Apple dihydrochalcones phloridzin and phloretin as novel allelochemicals</p>
<p>Dosadašnja postignuća na promeni boje cvetova biljaka metaboličkom modulacijom biosinteze karotenoida Milena Trajković, Sladjana Jevremović, Aleksandar Cingel</p>	<p>238</p>	<p>Recent advances in flower color alteration by metabolic manipulation of carotenoid biosynthesis</p>
<p>Bioinformatički alati za analizu mikroRNK Katarina Zeljić</p>	<p>255</p>	<p>Bioinformatics tools for the analysis of microRNA</p>
<p>Marker porekla kao adut u forenzičkim analizama DNK u kompleksnim slučajevima iz perspektive Y hromozoma Miljana Kecmanović, Milica Keckarević Marković, Dušan Keckarević</p>	<p>275</p>	<p>Lineage marker as a key player in complex forensic cases from the perspective of Y chromosome</p>

Predgovor

Uspostaviti tradiciju je mnogo teže nego realizovati inicijativu. Pokazalo se da je prvi broj tematskog zbornika **Trendovi u molekularnoj biologiji 1** pobudio interesovanje naučne zajednice u Srbiji, tako da drugi broj nije bilo teško sastaviti. Broj poglavlja u tematskom zborniku **Trendovi u molekularnoj biologiji 2** je premašio očekivanja. Kao da je Tematski zbornik simbolično postao - Ko je ko u molekularnoj biologiji u Srbiji. I ponovo se pokazalo da se naučnici u našoj zemlji bave aktuelnim istraživačkim temama i aktivno doprinose napretku molekularne biologije na mnogim poljima. I mladi molekularni biolozi su prikazom svojih doktorskih teza pokazali da prate svetske trendove i savremene naučne pristupe.

Posebnost ovog broja je što se objavljuje u vreme kada obeležavamo jubilej, pedesetogodišnjicu Beogradske škole molekularne biologije, o čemu svedoči tekst u kome je prikazan put razvoja programa za molekularnu biologiju na Biološkom fakultetu Univerziteta u Beogradu.

Pre više godina na jednom naučnom skupu se govorilo o tome kako saznanja iz molekularne biologije prožimaju sve naučne oblasti koje se bave živim organizmima i kako se može predvideti da će njena primena obeležiti novi vek. Iz auditorijuma je stigao komentar: „Proći će i vaše“. Vreme svedoči da je era molekularne biologije tek počela.

„I šta ćemo sad?“

Sonja Pavlović

Iz recenzija Tematskog zbornika ***Trendovi u molekularnoj biologiji***

Drugi broj tematskog zbornika „Trendovi u molekularnoj biologiji 2“ predstavlja nastavak prikazivanja i objavljivanja najznačajnijih naučnih radova proisteklih iz doktorskih disertacija mladih naučnika Srbije, kao i najznačajnijih naučnih rezultata ostvarenih u svetu u oblasti molekularne biologije, u protekloj godini, u kojima su naši naučnici dali svoj doprinos. U ovom broju, prikazano je 18 naučnih radova, od kojih je 12 iz oblasti biomedicine, koji su posvećeni rezultatima ostvarenim u oblasti molekularne biologije retkih bolesti, tumora i centralnog nervnog sistema. Ovi rezultati su od ogromnog značaja za unapređenje dijagnostike i terapije bolesti.

Rezultati koje su naši naučnici ostvarili u oblasti molekularne biologije biljaka prikazani su kroz tri rada, a akcenat u njima je na mogućnosti primene tih rezultata u oblasti ekologije, hortikulture i unapređenja zdravlja ljudi (potraga za ekološki prihvatljivim bioherbicidima, modifikacija boje cveta, biološka aktivnost prirodnih supstanci).

Dva rada su posvećena naprednim metodama u oblasti molekularne biologije i prikazana su u posebnom poglavlju, što smatram veoma važnim.

Posebno bih istakla poglavlje u kojem je prikazan jedan od najznačajnijih naučnih rezultata u svetu u protekloj godini (otkiće receptora za temperaturu i dodir), za koji je dodeljena Nobelova nagrada za fiziologiju i medicinu 2021. godine. Uvodno poglavlje ovog tematskog zbornika posvećeno je značajnom jubileju – pedesetogodišnjici Beogradske škole molekularne biologije, i u njemu je prikazan razvojni put studijskog programa Molekularna biologija i fiziologija na Univerzitetu u Beogradu – Biološkom fakultetu.

Tematski zbornik „Trendovi u molekularnoj biologiji 2“ nastavlja svoju misiju naučne avangarde započetu prošlogodišnjim brojem. Prikazivanjem najkvalitetnijih i najznačajnijih naučnih rezultata ostvarenih u oblasti molekularne biologije u protekloj godini u kojima su naši mladi naučnici dali svoj ogromni doprinos, prenose se informacije širem krugu istraživača i zaposlenih u različitim oblastima (medicina, farmacija, poljoprivreda), čime se otvaraju mogućnosti za saradnju, a samim tim za primenu rezultata, kao i za nova istraživanja.

Svojom koncepcijom i odabirom radova „Trendovi u molekularnoj biologiji 2“ prate napredak u oblasti molekularne biologije i ne samo da prenose najznačajnije naučne rezultate, već i inspirišu i podstiču nova istraživanja i šire interesovanje za ovu veoma značajnu naučnu oblast. Ovaj zbornik opravdava svoj naziv i nadam se da će se nastaviti trend njegovog objavljivanja i narednih godina.

Dr Svetlana Radović, redovni profesor,
Biološki fakultet Univerziteta u Beogradu

Monografija/Tematski zbornik „Trendovi u molekularnoj biologiji 2“ je drugi broj u nizu izdanja koje ima za cilj da prikaže naučne rezultate iz oblasti molekularne biologije koje su ostvarili naučnici iz Srbije u prethodnoj godini. Sačinjen je od 18 poglavlja, od kojih 8 predstavlja revijske radove proizašle iz doktorskih disertacija mladih doktora nauka u kojima je prikazan njihov doprinos određenoj naučnoj oblasti molekularne biologije koja je povezana sa temom njihove disertacije. Preostalih 7 poglavlja su prikazi aktuelnih tema iz molekularne biologije u kojima su naši naučnici dali svoj značajni doprinos. Uvodno poglavlje je posvećeno jubileju, pedesetogodišnjici Beogradske škole molekularne biologije, u kome je prikazan put razvoja programa za molekularnu biologiju na Biološkom fakultetu Univerziteta u Beogradu.

Veliki broj poglavlja iz Zbornika (12) je posvećen istraživanjima iz oblasti biomedicine. Posebno je značajno poglavlje u kome je prikazan doprinos naših istraživača u oblasti kojoj je dodeljena Nobelova nagrada iz medicine za 2021. godinu (receptori za temperaturu i dodir).

Doprinos koji je molekularna biologija dala modernoj medicini je izuzetno veliki. Danas su u kliničkoj praksi u svetu mnogobrojni dijagnostički, prognostički i terapijskih molekularni markeri. Posebno je značajno što je medicina u Srbiji pratila svetske trendove, i to zahvaljujući i velikim naporima molekularnih biologa u našoj zemlji. Ovaj Tematski zbornik je svedočanstvo o značajnim postignućima molekularnih biologa u Srbiji koji su doneli napredak našoj medicini i drugim naučnim oblastima.

Monografija/Zbornik je izuzetno zanimljivo koncipiran sa sadržajem koji je na visokom naučnom nivou i koje je značajan izvor informacija za veliki broj naučnika u Srbiji čija se istraživanja više ne mogu zamisliti bez molekularne biologije. Primeri primenljivosti rezultata istraživanja u praksi (medicinskoj i drugima) je poseban kvalitet ovog Zbornika.

Prvi broj Tematskog zbornika „Trendovi u molekularnoj biologiji 1“ je doživeo veliko interesovanje. Interesovanje autora da objave svoj doprinos svetskoj nauci u broju 2 govori da je ovakav sadržaj bio neophodan našoj naučnoj javnosti. Sigurno je da će ovako koncipiran Tematski zbornik imati budućnost, jer je napredak medicine i drugih oblasti (biotehnologija, poljoprivreda, farmacija) nemoguće zamisliti bez novih dostignuća molekularne biologije

**Dr Vesna Škodrić Trifunović, redovni profesor,
Medicinski fakultet Univerziteta u Beogradu**

Tematski zbornik „Trendovi u molekularnoj biologiji 2“ sadrži naučne rezultate koji su prepoznati na svetskom nivou, a koje su istraživači iz Srbije ostvarili u prethodnoj godini iz ove oblasti. Zbornik je sačinjen od 18 poglavlja, preglednih radova, grupisanih u pet celina. Prva celina je posvećena važnom jubileju, pedesetogodišnjici osnivanja Beogradske škole molekularne biologije na Biološkom fakultetu Univerziteta u Beogradu, dok druga sadrži prikaz rezultata naših istraživača iz oblasti fiziologije i medicine za koju je u 2021. godini dodeljena Nobelova nagrada. Najveći broj poglavlja je u okviru treće celine koja se bavi biomedicinom i to molekularnom biologijom retkih bolesti, tumora i centralnog nervnog sistema. Preostale dve celine su posvećene molekularnoj biologiji biljaka i naprednim metodama molekularne biologije. Važno je istaći da su mladi doktori nauka aktivno učestvovali u izradi ovog Zbornika, tako da 8 poglavlja u okviru biomedicine i molekularne biologije biljaka predstavljaju revijske radove proizašle iz njihovih doktorskih disertacija.

Značaj ovog Zbornika je višestruk. Najpre, već drugu godinu za redom se objavljuju najrelevantnija saznanja iz navedenih oblasti koja su proizašla iz rada istraživača iz Srbije i dostupna su široj javnosti na maternjem jeziku. Takođe, svoje radove su napisali istraživači iz različitih naučnih instituta (5) i fakulteta (5) iz Srbije, što ohrabruje da će se u našoj zemlji i dalje nastaviti sa istraživanjima u molekularnoj biologiji koja su aktuelna u svetu.

„Trendovi u molekularnoj biologiji 2“ je Tematski zbornik u kome su objedinjeni rezultati fundamentalnih i primenjenih istraživanja u molekularnoj biologiji ostvarenih u našoj zemlji u prethodnoj godini. Korišćenjem najnovijih metodoloških pristupa u ovoj oblasti, ali i bioinformatičkih i drugih softverskih alata, postignut je značajan napredak u dijagnozi i primeni novih strategija lečenja mnogih bolesti, forenzičkim analizama, razvoju novih lekova. Ovaj sveobuhvatni prikaz istraživanja, koja se aktivno sprovode u naučnim institutima i na fakultetima u Srbiji, doprinosi saznanjima o značaju koji molekularna biologija ima kako u humanoj i veterinarskoj medicini, poljoprivredi, farmaciji, tako i u razvoju biotehnologije, očuvanju životne sredine i biodiverziteta.

Poseban doprinos Zbornika se ogleda u tome što se u njemu nalaze aktuelni podaci o dostupnosti navedenih savremenih metodologija, čime se otvaraju realne mogućnosti za uspostavljanje novih saradnji među istraživačima, kao i u uspostavljanju inter- i multi-disciplinarnosti i daljem razvoju nauke u Srbiji.

Dr Gordana Nikčević, naučni savetnik

Institut za molekularnu genetiku i genetičko inženjerstvo, Univerzitet u Beogradu

Hemijski profil i antioksidativna aktivnost crvenih vina klonova autohtone i internacionalnih sorti vinove loze

Neda Đorđević

Institut za nuklearne nauke „Vinča“, Institut od nacionalnog značaja za Republiku Srbiju, Univerzitet u Beogradu
Kontakt: neda@vin.bg.ac.rs; nedadjordjevic1@gmail.com

Apstrakt

Ova tema je fokusirana na hemijsku i biološku karakterizaciju odabranih uzoraka crvenih vina. Akcent je stavljen na hemijsku karakterizaciju klonskih sorti vina vranac i merlo, kao i na procenu antioksidativne aktivnosti merlo vina u ćelijama kvasca. U radu su primenjene brojne analitičke tehnike za određivanje koncentracije fenolnih jedinjenja, elementalnog sastava i *in vitro* antioksidativnu aktivnosti ispitivanih uzoraka (spektrofotometrija, ciklična voltometrija, klasična polarografija, EPR spektroskopija, LC-MS/MS, ICP-OES i ICP-MS). Pored antioksidativne, ispitane su i citotoksična i antibakterijska aktivnost odgovarajućih uzoraka vina. Eksperiment na bazi vinskog kvasca je obuhvatio određivanje ukupnih –SH grupa, kao i enzimskih aktivnosti glutation peroksidaze, glutation reduktaze i katalaze. Eksperimentalno dobijeni podaci za klonska sortna vina merlo ukazuju na poseban doprinos glutation peroksidaze preživljavanju ćelija kvasca u uslovima oksidativnog stresa. Konačno, primenom veštačke neuronske mreže razvijena je brza i precizna metoda za predviđanje uticaja malih promena u vinskom fenolnom profilu na aktivnosti istaknutih enzima antioksidativne zaštite.

Ključne reči: crvena vina, polifenolni sadržaj, biološka aktivnost crvenih vina, savremena statistika

Chemical profile and antioxidative activity of red wines obtained from autochthonous and international grape clone varieties

Neda Đorđević

Vinča Institute of Nuclear Sciences, National Institute of Republic of Serbia, University of Belgrade
Correspondence: neda@vin.bg.ac.rs; nedadjordjevic1@gmail.com

Abstract

This topic focuses on the chemical and biological characterization of selected red wine samples. Emphasis is placed on the chemical characterisation of clonal wines of Vranac and Merlot varieties, as well as on the evaluation of the antioxidant activity of Merlot wines in yeast cells. Numerous analytical techniques were used to determine the concentration of phenolic compounds, elemental composition and *in vitro* antioxidant activity of the tested samples (spectrophotometry, cyclic voltammetry, classical polarography, EPR spectroscopy, LC-MS/MS, ICP-OES and ICP-MS). In addition, total antioxidant activity, cytotoxic and antibacterial activity of the respective wine samples were determined. The wine yeast experiment involved determining the total groups –SH, as well as enzymatic activities of glutathione peroxidase, glutathione reductase and catalase. The experimentally obtained data for clonal Merlot wine varieties indicate a particular contribution of glutathione peroxidase to the survival of yeast cells under oxidative stress conditions. Finally, using an artificial neural network (ANN), a rapid and accurate method was developed to predict the effect of small changes in the wine phenolic profile on the activities of prominent antioxidant enzymes.

Key words: red wines, polyphenolic content, biological activity of red wines, modern statistics

UVOD

Crveno vino je alkoholno piće koje se dobija fermentacijom šire (groždanog soka). Na sastav vina utiče veliki broj faktora, kao što su kvaliteta sorte, stepena zrelosti grožđa, klimatski i drugi agroekološki uslovi sredine, kao i sam postupak vinifikacije, uslovi skladištenja i zrenja vina [1,2]. Umereno korišćenje ovog alkoholnog pica ima blagotvorno dejstvo na zdravlje ljudi, koje se povezuje sa mikronutrijentima koji ulaze u njegov sastav. Identifikacija bioaktivnih jedinjenja vina, kao i utvrđivanje mehanizama njihovog delovanja ciljevi su naučne zajednice proteklih decenija [3]. Fenolna jedinjenja, mikro- i makroelementi se svrstavaju među najznačajnije mikronutrijene vina. *Vitis vinifera* L. je evropska vrsta vinove loze koja raste u umerenoj klimatskoj zoni u kojoj veliki broj sunčanih sati i mala količina padavina posebno pogoduju razvoju ove vrste. Vranac je crnogorska autohtona sorta vinove loze, veoma važna za vinogradarstvo i vinarijsku industriju, kao i za ekonomiju Crne Gore uopšte. Kao takva, najznačajnija je sorta vinove loze za proizvodnju crvenog vina u Crnoj Gori. Vino ove sorte sadrži 11 do 14% alkohola i od 5-6 g/L kiselina [4]. Prepoznatljivo je po specifičnom sortnom mirisu i ukusu, kao i po intenzivnoj tamnoj boji. Kvalitet mu omogućava kupazu sa vinima drugih sorti. Klimatski uslovi u Ćemovskom polju na području Crne Gore pogoduju i uspešnom gajenju introdukovanih sorti vinove loze kaberne sovinjon i merlo, od kojih se dobijaju vina vrhunskog kvaliteta. Pomenute sorte su deo svetske vinske baštine, čuvane i prepoznatljive svuda u svetu [5]. O tome svedoči i činjenica da merlo sorta zauzima 62%, a kaberne sovinjon 25% ukupne površine plantaža vinove loze u vinogradima Bordo, poznatog vinarijskog grada na jugozapadu Francuske, odakle i potiču [5].

KLONSKA SELEKCIJA

Klonska selekcija predstavlja individualnu selekciju vinove loze u cilju poboljšanja agrobioloških i privredno-tehnoloških osobina vinove loze, kao i povećanja prinosa grožđa. Danas se savremeni vinogradi podižu sa klonskim materijalom sorte. Ona se sastoji od serije procedura osmišljenih radi selekcije zdravih klonova vinove loze, sa sortnom autentičnošću i poboljšanim karakteristikama [6]. Svaki mutirani čokot iste sorte vinove loze predstavlja različiti klon i čokot sa drugačijim fenotipom. Cilj ove procedure je dobijanje najvećeg mogućeg broja klonova, genetski međusobno različitih radi sprečavanja redukovanja prirodne genetske različitosti jedne vrste, kao i u cilju dobijanja dovoljne baze za obrazovanje poliklonskih vinograda [7]. Klonska selekcija je od posebne važnosti za autohtone sorte s obzirom na to da je teško naći klonove iz drugih regiona. Kompanija „13. jul Plantaže” a.d. Podgorica je s tim razlogom u toku desetogodišnjeg perioda (2004-2014) radila na klonskoj selekciji autohtone sorte vranac. Tim postupkom je izdvojeno 7 klonova (CI do CVII) koji su se istakli visokim prinosom, kvalitetom grožđa i vina, dobrim habitusom koji su vizuelno zdravi i nezaraženi virusima. Oni su 2017. godine priznati i zaštićeni kao patent. Osim toga, na područje Ćemovskog Polja koje je u vlasništvu kompanije „13. jul Plantaže” a.d. Podgorica introdukovani su i klonovi sorte merlo (VCR 1 i VCR 101), selekcionisani od strane Vivai Cooperativi Rauscedo (VCR) Italija, najvećeg i najcenjenijeg rasadnika vinove loze u Italiji (provincija Udin, region Friuli, severno od Venecije).

AKTIVNE KOMPONENTE VINA

Vino sadrži više od 500 jedinjenja među kojima su najzastupljeniji voda, alkohol (etanol) i fenolna jedinjenja. Fenolna jedinjenja su heterogena grupa sekundarnih metabolita biljaka, a predstavljaju i jednu od najvažnijih klasa bioaktivnih jedinjenja uopšte. Oni nastaju iz amino kiselina u pentozo-fosfatnom i fenilpropanoidnom putu, kao i u ciklusu šikiminske kiseline. Stvaraju se u semenu i pokožici grožđa, a ekstrahuju se tokom procesa fermentacije prelazeći u vino. U pokožici crnog grožđa se nalazi oko 50% ukupnih fenolnih jedinjenja, u semenu 46-69%, dok se u pulpi i soku grožđa može naći oko 6% fenolnih jedinjenja [8]. Ta-

kođe, u vinu se mogu naći i fenolna jedinjenja iz kvasca koji se koristi u postupku vinifikacije, kao i fenolna jedinjenja iz hrastovog drveta oslobođena tokom procesa starenja vina. Finalni sastav i sadržaj ovih jedinjenja u vinu zavisi od njihovog sadržaja u grožđu, parametara vezanih za način ekstrakcije, način vinifikacije, kao i od samih hemijskih reakcija koje se dešavaju tokom starenja vina. Fenolna jedinjenja prisutna u grožđu i vinu mogu se svrstati u flavonoide i neflavonoide, pri čemu je flavonoidna grupacija u crvenom vinu zastupljenija čineći oko 85% ukupnih fenola [8].

Flavonoidi

Kao sekundarni metaboliti biljaka, flavonoidi imaju različite funkcije (antioksidativnu, fungicidnu, insekticidnu, UV-protektivnu, signalnu, privlačenje insekata, itd.) [9]. Osnovni skelet strukture flavonoida čini difenilpropansko jezgro $C_6-C_3-C_6$. To znači da se u okviru strukture flavonoida zapažaju dva benzenova prstena (prsten A i prsten B) međusobno povezana trougljeničnim lancem koji gradi piranov prsten (heterociklični prsten sa kiseonikom) (prsten C). Prema stepenu oksidacije piranskog prstena polifenoli se mogu podeliti na šest podgrupa: flavonoli, flavanoli, izoflavoni, flavanoni, flavoni i antocijani. Glavne klase flavonoida koje se mogu naći u grožđu i vinima su flavonoli, antocijani, flavan-3-oli (katehini) i flavan-3-ol-polimeri (proantocijanidini).

Najzastupljenija klasa flavonoida u pokožici crnog i belog grožđa jesu flavonoli. Kvercetin i njegovi konjugovani derivati mogu predstavljati i do 87% od ukupnog sadržaja flavonola u crnom grožđu [10]. Za razliku od kempferola i kvercetina prisutnih i u belim vinima, miricetin je specifičan samo za crvena vina. U okviru pomenutih struktura glukoza je najčešće zastupljena šećerna komponenta povezana preko položaja C-3 u prstenu C. Kvercetin se, takođe, u grožđu može naći u formi 3-ramnozilglukozida (rutina).

Flavan-3-oli (katehini) se u monomernoj, oligomernoj ili polimernoj formi mogu naći u semenu, kožici i stabljici grožđa. Od četiri moguća izomera katehina najzastupljeniji u vinu, a ujedno i najstabilniji su (+)-katehin i (-)-epikatehin. Oligomerne i polimerne forme katehina, tzv. proantocijanidini (kondenzovani tanini), odgovorne su za jednak (opor) karakter vina. Molekuli flavanola nemaju glikozilovane forme, ali mogu biti vezani za polisaharide u grožđu i mogu biti ekstrahovani u obliku kompleksa u toku vinifikacije.

Antocijani su glikozilovani, hidrosolubilni pigmenti, koji daju obojenost voću i cveću. Najzastupljeniji su u pokožici grožđa, a manje ih ima u mesu. U grožđu i vinu identifikovano je pet antocijana, međusobno različitih prema supstituciji B-prstena sa dva ili tri supstituenta (OH i OCH_3) [11]. Glikozidne forme su zastupljenije u prirodi. U vinima dobijenim od vrste *Vitis vinifera* identifikovani su samo monoglukozidi antocijana, kao i monoglukozidi antocijana acilovani *p*-kumarinskom, kafeinskom i sirćetnom kiselinom. Malvidin monoglukozid (malvin) je zaslužan za formiranje bazične boje crvenog grožđa, a samim tim i crvenog vina. Osim njega u grožđu se može naći još četiri različitih antocijana: cijanidin, peonidin, delfinidin i petunidin.

Neflavonoidna jedinjenja

Derivati hidroksibenzojeve i hidroksicimetne kiseline, stilbeni, kao i tzv. hidrolizabilni tanini spadaju u neflavonoidna jedinjenja vina. Ona su u grožđu i vinu prirodno prisutna, a ima i onih koji se u vino ekstrahuju iz drveta u toku procesa maturacije ili se dodaju u toku procesa vinifikacije. Neflavonoidna jedinjenja stabilizuju boju crvenih vina kroz intra- i intermolekulske interakcije, iako su sama po sebi bezbojna [12]. Pored boje, značajna su i za ukus i biološku aktivnost samih vina.

U grožđu i vinu identifikovano je sedam benzojevih kiselina: galna, gentizinska, *p*-hidroksibenzojeva, protokatehuinska, siringinska, salicilna i vanilinska kiselina. U vinu se može naći i elaginska kiselina poreklom iz drvenih buradi ili iz tanina, vinskih aditiva [11]. Salicilna i gentizinska kiselina su u grožđu i vinu prisutne

u tragovima. U vinu se ove kiseline uglavno nalaze u svojim slobodnim formama [13]. Galna kiselina je najzastupljenija u vinu. Ona zajedno sa elaginskom kiselinom ulazi u sastav galotanina i elagitanina.

Hidroksicimetne kiseline su u vinima uglavnom zastupljene u esterifikovanoj formi. Takođe se mogu naći i u obliku prostih glukoza. Iz ove grupe jedinjenja u vinima je najzastupljenija kafeinska kiselina u slobodnom ili esterifikovanom obliku. Ona inače čini 75 do 100% ukupnog sadržaja derivata cimetne kiseline u voću.

Jedno od najznačajnijih jedinjenja koje spada u grupu stilbena je *trans*-resveratrol (3,5,4'-trihidroksi-stilben). U toku same fermentacije ovo jedinjenje dospeva u vino iz pokožice grožđa. Za razliku od *trans* izomera, *cis*-resveratrol je u tragovima prisutan u samom grožđu, a smatra se da nastaje iz *trans* oblika u procesu vinifikacije [14]. U prirodi je najzastupljena glikozidna forma resveratrola, tzv. piceid (3-O-β-D-glukozid) [15]. U vrsti *V. vinifera* identifikovano je više oligomera resveratrola.

Tanini nastaju polimerizacijom elementarnih fenolnih molekula [11]. Ova jedinjenja mogu da stvaraju stabilne agregate sa proteinima i drugim biljnim polimerima. Galotanini i elagitanini spadaju u hidrolizabilne tanine koji u svojoj strukturi sadrže galnu ili elaginsku kiselinu koje se oslobađaju nakon kisele hidrolize. Pored toga tanini u svojoj strukturi sadrže i molekule glukoze. Hidrolizabilni tanini se dodaju kao aditivi u vino, a u vino mogu dospeti i iz hrastovih buradi. Sa druge strane, (+)-katehin i (-)-epikatehin su osnovne strukturne jedinice kondenzovanih tanina koji se takođe nalaze u vinu [16].

Mikro– i makroelementi u crvenom vinu

Sadržaj mikro– i makroelemenata može značajno uticati na organoleptički kvalitet i nutritivnu vrednost vina. Koncentracija ovih elemenata u vinu može prilično da varira. Poznato je da konzumiranje vina u umerenim količinama (1–2 čaše na dan) snabdeva organizam elementima esencijalnim za njegovo funkcionisanje [17]. Međutim, iznad optimalnog nivoa pojedini elementi mogu negativno uticati na organoleptičke osobine vina i biti štetni po zdravlje ljudi [18,19]. *The International Organisation of Vine and Wine* - OIV je internacionalna organizacija koja se bavi vinovom lozom i vinom i kao takva propisuje maksimalno dozvoljene vrednosti za sadržaj metala u vinima [20]. Takođe, većina zemalja ima sopstvene regulative. Faktori koji mogu uticati na elementalni sastav vina su: sorta grožđa, sadržaj neorganskih jedinjenja u zemljištu, klimatski uslovi, tehnika vinifikacije, transport i skladištenje vina [1]. Naime, korišćenje organskih i mineralnih đubriva, neorganskih pesticida, zagađenost spoljašnje sredine, upotreba aditiva mogu značajno promeniti elementalni sadržaj vina [2,21].

BIOLOŠKI EFEKTI VINA

Pozitivan efekat polifenola na zdravlje ljudi od davnina je poznat [11]. Među alkoholnim pićima crveno vino pokazuje najjači efekat protiv pojave oboljenja povezanih sa oksidativnim stresom [22]. Za antioksidativnu sposobnost polifenola zaslužna je njihova struktura koja im omogućava da deluju kao redukcionim agensima, donori vodonika i „hvatači“ singletnog kiseonika [23]. Smatra se da je konzumacija crvenog vina zajedno sa maslinovim uljem ključna za objašnjenje „Francuskog paradoksa“ – smanjenja incidencije kardiovaskularnih oboljenja uprkos povećanom unosu hrane bogate zasićenim masnim kiselinama [24]. Zahvaljujući svojim antioksidativnim, baktericidnim i vitaminskim svojstvima fenolna jedinjenja su u vezi sa prevencijom od nastanka kardiovaskularnih i neurodegenerativnih oboljenja, kao i dijabetesa i kancera [25,26]. Pretpostavlja se da inhibicija oksidativnih procesa podrazumeva:

- neutralisanje lipidnog, alkoksil i peroksil radikala doniranjem vodonika

- heliranje jona metala
- regeneraciju α -tokoferola kroz reakciju α -tokoferol radikala.

Brojne studije su proučavale antioksidativne efekte flavonoida. Studija Van Acker i saradnika (1996) jasno je ukazala na to da su flavonoidi sa kateholnom grupom u prstenu B najaktivniji „hvatači“ slobodnih radikala. Ova studija je pokazala i da je ostatak strukture flavonoida od malog značaja za samu aktivnost, osim u slučaju kvercetina u čijoj strukturi kombinacija kateholne grupe sa dvostrukom vezom između C2 i C3 i hidroksilnom grupom na C3 u prstenu C uslovljava izrazitu antiradikalnu aktivnost [57]. Samim tim, antioksidativna aktivnost kvercetina je duplo veća u odnosu na katehin [38]. Takođe, kvercetin ima veću sposobnost da helira jone prelaznih metala od katehina [58]. Sa druge strane, katehin i epikatehin pokazuju sličan antioksidativni potencijal, dok cijanidin ima antioksidativni potencijal sličan kvercetinu [38].

Antioksidativni kapacitet fenolnih kiselina i njihovih estara zavisi od broja i položaja hidroksilnih grupa u odnosu na karboksilnu funkcionalnu grupu [27,28]. Monohidroksibenzoeve kiseline sa hidroksilnom grupom u položajima *orto* ili *para* u odnosu na karboksilnu grupu nemaju antioksidativnu aktivnost, za razliku od onih sa hidroksilnom grupom u *meta* položaju [28]. Broj hidroksilnih grupa je direktno proporcionalan antioksidativnoj aktivnosti, pa su samim tim polifenoli efikasniji antioksidanti od monofenolnih jedinjenja [27]. Galna kiselina, sa svoje tri hidroksilne grupe efikasniji je antioksidant od odgovarajućih difenolnih kiselina (protokatehuinske i gentizinske). Resveratrol je jedno od najznačajnijih i najproučavanijih polifenolnih jedinjenja zaslužnih za održavanje redoks statusa u organizmu. Ovo jedinjenje je i dobar promotor aktivnosti različitih antioksidativnih enzima [29]. U studiji Losa (2003) pokazano je da stilbeni utiču na održavanje nivoa glutaciona u monojedarnim ćelijama periferne krvi, time ih štiteći od oksidativnih oštećenja usled dejstva 2-deoksi-D-riboze [30]. Osim toga, ova studija je pokazala da resveratrol pozitivno deluje i na smanjenje oksidacije tiolnih grupa proteina u ćelijama humanih krvnih pločica. Slično tome, resveratrol indukuje povećanje nivoa glutaciona u humanim limfocitima aktiviranim vodonik peroksidom. U sledećoj studiji, pokazano je da resveratrol povećava sintezu nekoliko antioksidativnih enzima, uključujući glutation peroksidazu, glutation-S-transferazu i glutation reduktazu [31].

Antikancerogeni efekti fenolnih jedinjenja prvenstveno se odnose na zaustavljanje ćelijskog ciklusa, inhibiciju onkogene signalne kaskade i angiogeneze, menjanje nivoa ROS u ćeliji, promociju ekspresije tumor supresornih proteina, kao što je p53, kao i na povećanje sposobnosti diferencijacije i transformacije u normalne ćelije. Osim toga, prirodno prisutna fenolna jedinjenja pozitivno deluju na zaustavljanje migracije ćelija pri ćelijskoj invaziji i ekstravazaciji [32]. Samim tim fenolna jedinjenja potpomažu lokalizaciju kancerskih ćelija i čine ih osetljivijim na terapeutike. Polifenoli takođe mogu da se ponašaju i kao prooksidanti inicirajući prekidanje ćelijske DNK, usled dejstva reaktivnih kiseoničnih vrsta, a samim tim i ćelijsku smrt kancerskih ćelija [33,34].

Godinama unazad postoji sve veća tendencija za pronalaženje efikasnijih antimikrobnih prirodnih proizvoda, koji bi mogli poboljšati otpornost ljudi prema patogenim bakterijama uz minimalne sporedne efekte [35,36]. Proučavanje antimikrobne aktivnosti specifičnih polifenolnih jedinjenja, kao što su resveratrol, kvercetin i brojne fenolne kiseline predmet je mnogih naučnih studija [37,38]. Ono se odnosi kako na strukturne specifičnosti fenolnih jedinjenja kao antibakterijskih agenasa, tako i na razumevanje mehanizama antibakterijskog delovanja datih jedinjenja. Pretpostavlja se da se mehanizmi zasnivaju na: inhibiranju sinteze nukleinskih kiselina, inhibiranju funkcionisanja ćelijske membrane, inhibiranju energetskog metabolizma, inhibiranju samog vezivanja bakterija i stvaranja biofilma, inhibiranju porina na ćelijskoj membrani bakterija, menjanju membranske propustljivosti kao i na samom smanjivanju patogenosti bakterija [39,40].

SADRŽAJ FENOLNIH JEDINJENJA U ODABRANIM UZORCIMA VINA

Analiza spektrofotometrijskog merenja sadržaja ukupnih fenola, sadržaja ukupnih flavonoida, monomernih antocijana, kao i anti-DPPH radicalske aktivnosti u uzorcima komercijalno dostupnih crvenih vina sorti vranac, merlo i kaberne sovinjon (berba 2010-2012), je pokazala da sorta vinove loze, kao i klimatski uslovi u godini proizvodnje vina značajno utiču na pomenute parametre. Vina sorte vranac sadržala su od $1513,0 \pm 54,6$ do $2362,1 \pm 77,6$ mgGAE/L ukupnih fenola [41]. U sortama merlo i kaberne sovinjon koncentracije su bile veće i to od $2184,5 \pm 93,7$ do $3730,2 \pm 164,7$ mg/L, u okviru vina merlo sorte i od $2529,4 \pm 80,6$ do $2873,4 \pm 93,2$ mg/L u okviru vina sorte kaberne sovinjon. Slične vrednosti za koncentraciju ukupnih fenola dobijene su u ranijim studijama koje su proučavale vina pomenutih sorti poreklom iz Makedonije, Crne Gore, Grčke, Argentine i Brazila [42,47]. Analizom uzoraka klonskih vina sorte vranac (CI, CII i CIII) pokazano je da je sadržaj ukupnih fenola (od $1349,0 \pm 56,3$ do $2668,8 \pm 102,8$ mgGAE/L) takođe sličan sadržaju nađenom u ranijim istraživanjima vina sorte vranac poreklom iz Crne Gore, Srbije i Makedonije [42,43,48-52]. Sadržaj ukupnih fenola u klonskim vinima sorte Merlo, VCR1 i VCR101 analiziranim u ovoj studiji kretao se u okviru $2184,5 \pm 93,7$ – $3337,9 \pm 115,4$ mgGAE/L. Taj sadržaj je znatno veći u odnosu na sadržaj nađen u klonskim vinima iste sorte (022, 025 i 029), poreklom iz Srbije, kao i u odnosu na sadržaj fenola u vinima poreklom iz Hrvatske (53–55). Koncentracija tanina u ispitivanin uzorcima merlo vina ($551,6 \pm 28,7$ do $793,8 \pm 37,5$ mg/L) u skladu je sa vrednostima pronađenim u crvenim vinima merlo i drugih sorti crnog grožđa (53,56–58). Dobijeni rezultati za sadržaj ukupnih flavonoida i monomernih antocijana takođe su u skladu sa literaturnim podacima [49,51,53,59–62].

Faktori spoljašnje sredine, kao što su temperaturne klimatske razlike, broj sunčanih sati i osvetljenost terena, kao i količina padavina imaju veliki uticaj na stepen fenolne zrelosti grožđa, a samim tim i na fenolni sastav vina. Naime, čini se da su nepovoljniji meteorološki uslovi (obilne padavine i značajno manji broj sunčanih sati) u 2010. godini usloveli da vina proizvedena te godine imaju najniži sadržaj ukupnih fenola.

Fenolni profil vina

U cilju detekcije i kvantifikacije polifenolnih jedinjenja u vinu korišćena je tečna hromatografija sa ultraljubičastim detektorom sa nizom fotodioda (PDA) i masenim detektorom sa tri analizatora – trostruki kvadrupol (engl. triple quadrupole – QQQ) (LC-MS/MS). Dobijeni rezultati su pokazali da su najzastupljenija fenolna jedinjenja u svim analiziranim uzorcima vina (+)-katehin i galna kiselina, sa najvećim izmerenim vrednostima $43,22 \pm 0,33$ mg/L za koncentraciju (+)-katehina i $28,65 \pm 0,42$ mg/L za koncentraciju galne kiseline u uzorku merlo vina iz 2012. godine. Opseg izmerenih koncentracija ovih jedinjenja u analiziranim crvenim vinima u skladu je sa prethodno publikovanim vrednostima (44,63–67). Komercijalno vino sorte vranac sadržalo je znatno manje (+)-katehina u odnosu na vina dobijena od klonova CI, CII i CIII. Poređenjem komercijalno dostupnog i klonskih vina sorte merlo može se primetiti da je najniža srednja vrednost koncentracije galne kiseline izmerena u komercijalno dostupnom vinu iz 2010 i 2011. godine ($10,23 \pm 0,22$ mg/L i $13,39 \pm 0,34$ mg/L). Slične koncentracije galne kiseline nađene su u klonskim vinima (022, 025 i 029) merlo sorte poreklom iz Srbije [53,68]. S druge strane, koncentracija galne kiseline izmerena u okviru ove studije znatno je veća u odnosu na koncentraciju nađenu u merlo vinu poreklom iz Srbije ispitivanom u studiji Beara i sar., 2017 [69]. Isti je slučaj i sa (+)-katehinom; najsiromašnije vino je komercijalno dostupno merlo vino iz 2010. godine ($16,98 \pm 0,36$ mg/L), dok je najmanja koncentracija (+)-katehina u 2011. godini nađena takođe u komercijalno dostupnom vinu ($23,10 \pm 0,21$ mg/L). Koncentracija (-)-epikatehina u analiziranim vinima kretala se u opsegu od $2,96 \pm 0,04$ do $21,74 \pm 0,28$ mg/L. Sadržaj (+)-katehina i (-)-epikatehina u analiziranim klonskim vinima je višestruko veći u odnosu na klonska vina (022, 025 i 029) merlo sorte poreklom

iz Srbije [68]. Opseg izmerenih vrednosti za sadržaj kvercetina u okviru analiziranih uzoraka kretao se od $0,27 \pm 0,01$ do $6,10 \pm 0,09$ mg/L. Klonska vina sorte merlo sadržala su više kvercetina i miricetina u odnosu na komercijalno dostupno vino. Glukozidna forma resveratrola (piceid) zastupljenija je u odnosu na sam resveratrol što je očekivano jer u crvenom vinu piceid može biti i do deset puta zastupljeniji u odnosu na sam resveratrol. U vinima sorte vranac očigledna je njihova najveća zastupljenost u uzorcima iz 2010. godine. Kišovita 2010. godina je očigledno pogodovala većem stvaranju fitoaleksina resveratrola. Ukupna koncentracija resveratrola i njegovih glukozida u okviru merlo vina 2011. godišta manja je u komercijalno dostupnom vinu u odnosu na klonska vina VCR1 i VCR101. Koncentracije *trans*-piceida i *trans*-resveratrola izmerene u ovoj studiji u skladu su sa vrednostima nađenim u makedonskim vinima iste sorte u okviru studije Kostadinović i sar. 2012 [70]. Najzastupljenije jedinjenje iz grupe derivata hidroksicimetne kiseline je kafeinska kiselina. Sadržaj ovog jedinjenja nađen u uzorcima vina vranac u saglasnosti je sa sadržajem nađenim u vinima iste sorte i istog geografskog porekla u studiji Pajović-Šćepanović i sar., 2018 [67].

ELEMENTALNI SASTAV VINA

Za određivanje koncentracije makroelemenata (Ca, Na, K, Mg i Fe) u okviru ove studije korišćen je optički emisioni spektrometar sa indukovano spregnutom plazmom (ICP-OES), iCAP-6500 Duo, Thermo Scientific, UK, koji poseduje CID86 čip detektor. Određivanje koncentracije preostalih šesnaest mikroelemenata (Al, V, Cr, Mn, Co, Ni, Cu, Zn, As, Se, Ag, Cd, Sb, Ba, Tl, Pb), kao i elemenata prisutnih u tragovima, urađeno je na masenom spektrometru sa indukovano spregnutom plazmom (ICP-MS), iCAP Q, Thermo Scientific X series 2, UK. Visok odnos koncentracija kalijuma i natrijuma pronađen u svim analiziranim vinima veoma je važan za normalno funkcionisanje kardiovaskularnog sistema kod ljudi. Analizirana vina su značajan izvor i kalijuma, kalcijuma i magnezijuma, elemenata koji su esencijalni za funkcionisanje ljudskog organizma [71]. Najzastupljeniji mikroelement u analiziranim uzorcima je gvožđe. Nađena koncentracija ovog elementa je bila ispod 6 mg/L, što se smatra graničnom vrednošću pri kojoj može doći do stvaranja zamućenja vina [72]. Iz istog razloga je važno i to što je koncentracija bakra u svim analiziranim uzorcima ispod 1 mg/L [72]. Osim toga, bakar je element koji može ispoljiti prooksidativno dejstvo pri dozama iznad 1 mg/L [72]. Niža koncentracija od date, koja je nađena u svim analiziranim uzorcima, ukazuje na netoksičan nivo bakra u njima [12,73]. Sadržaj cinka u svim uzorcima je u skladu sa vrednostima dozvoljenim od strane OIV (do 5 mg/L) [74]. Uzorak merlo vina iz 2012. godine je, među komercijalnim vinima, uzorak sa najvećim sadržajem gvožđa, cinka, mangana i aluminijuma, dok je sadržaj bakra znatno veći u uzorcima vina merlo 2012 i vranac 2010 u poređenju sa svim ostalim uzorcima. Gvožđe, bakar i cink su elementi važni za funkcionisanje proteina uključenih u transfer elektrona pa je njihov unos neophodan za održanje redoks balansa u organizmu [75]. Koncentracija bakra znatno varira u uzorcima klonskih sortnih vina vranac u zavisnosti od godine proizvodnje. Tako primera radi, uzorak CI iz 2012. godine sadrži 15 puta više bakra u odnosu na uzorak istog vina iz 2011. godine. Ovakav rezultat može biti posledica različitih spoljašnjih faktora, kao što su između ostalih, transportovanje i čuvanje uzoraka. Izmerene koncentracije Fe, Cu, Mn i Zn u analiziranim vinima u skladu su sa prethodno dobijenim vrednostima u hrvatskim i češkim crvenim vinima [76,77]. Još jedan od esencijalnih elemenata crvenih vina, selen, kvantifikovan je u većini analiziranih uzoraka. Populacioni preporučeni unos selena od strane Naučne komisije za hranu u Evropskoj uniji iznosi 55 µg/dan [78]. Uzorak vina najbogatiji selenom je merlo 2011, dok je kaberne sovignon 2011 jedini uzorak pomenute sorte koji sadrži selen.

Vrednosti dobijene za koncentraciju teških metala arsena, kadmijuma i olova u ovoj studiji su ispod granica toksičnosti naznačenih od strane evropske direktive kao i od strane OIV [20] (0,20 mg/L za As, 0,01 mg/L za Cd i 0,15 mg/L za Pb). Koncentracije elemenata prisutnih u tragovima, hroma, nikla, kobalta i vol-

frama u analiziranim uzorcima u okviru su ranije publikovanih vrednosti [76,77]. Na osnovu dobijenih rezultata merenja takođe se može zaključiti da je koncentracija potencijalno toksičnih elemenata (Pb, As, Cd, Ni, Sb) daleko ispod određenih granica, pri čemu je uzet u obzir unos datih elemenata (TDI, TWI, PTWI i BMDL01) u okviru preporučene dnevne doze (1–2 čaše) vina. Iako nisu definisane dozvoljene koncentracije mangana u vinu, vrednosti dobijene u ovoj studiji u skladu su sa literaturnim podacima [76,77].

ANTIOKSIDATIVNA AKTIVNOST VINA

Spektrofotometrijsko određivanje

Anti-DPPH radikalska aktivnost analiziranih uzoraka komercijalnih vina ispitana je pomoću UV-Vis spektrofotometrije. Dobijeni rezultati jasno pokazuju da komercijalno dostupna vina sorti merlo i kaberne sovignon imaju znatno veću anti-DPPH radikalsku aktivnost u odnosu na vino sorte vranac. Anti-DPPH radikalska aktivnost vina sorte vranac 2011. i 2012. godine proizvodnje znatno je veća u odnosu na vino iz 2010. godine. Pozitivne korelacije između anti-DPPH radikalske aktivnosti i koncentracije ukupnih fenola, flavonoida i monomernih antocijana ukazali su na pozitivan doprinos koji date klase jedinjenja imaju u odnosu na anti-DPPH radikalsku aktivnost. Slične korelacije su pronađene i publikovane u pređašnjim studijama [50,79-81]. Poređenjem anti-DPPH radikalske aktivnosti uzoraka vina sorte merlo može se zaključiti da uzorci klonskih vina VCR1 i VCR101 imaju znatno veću aktivnost u odnosu na komercijalno dostupno vino, kao i da su anti-DPPH aktivnosti svih merlo vina iz 2011. godine veća u odnosu na vina iz 2010. godine proizvodnje. Dobijeni korelacioni dijagrami i u slučaju ovih vina ukazuju na odličnu pozitivnu korelaciju između dobijene anti-DPPH radikalske aktivnosti i sadržaja ukupnih fenola ($R^2 = 0,91$). Merlo vina iz 2011. godine proizvodnje takođe pokazuju i aktivnosti u odnosu na ABTS, hidroksil i superoksid radikale. Dok su anti-DPPH i anti-ABTS testovi odabrani kao najčešće korišćeni antiradikalni testovi u analizi prirodnih proizvoda, ispitivanje anti-hidroksil i anti-superoksid radikalske aktivnosti od posebne je važnosti s obzirom na to da su dati radikali prirodno prisutni u živim organizmima. Za razliku od superoksid radikala, koji može biti detoksikovao dejstvom enzima superoksid dismutaze, hidroksil radikal se može eliminisati samo neenzimskim putem [67]. Merlo vina iz 2011. godine proizvodnje pokazala su redukujuću aktivnost u FRAP eseju ekvivalentnu redukujućoj aktivnosti od 3,52 do 3,62 mg askorbinske kiseline po mL vina. To znači da jedna čaša vina (200 mL) ima redukujuću sposobnost kao 704 do 724 mg askorbinske kiseline. Dobijeni rezultati navode na zaključak da konzumiranje crvenog vina u umerenim količinama ima pozitivan uticaj na održanje redoks balansa u uslovima *in vitro*.

Ciklična voltometrija i klasična polarografija

Ciklična voltometrija je u ovoj studiji korišćena kao brza i pouzdana metoda za određivanje antioksidativne aktivnosti ispitivanih uzoraka vina, kao alternativna metoda tradicionalnim spektrofotometrijskim tehnikama. U prethodnim studijama ova metoda je uspešno korišćena za određivanje fenolnog sadržaja u vinima i za korelaciju analitičkog odgovora sa antioksidativnim kapacitetom datih uzoraka [82-84]. Ova tehnika služi za određivanje ukupne antioksidativne aktivnosti. Kako bi se obuhvatile sve grupe antioksidativnih jedinjenja snimani su voltamogrami pri potencijalu od 0 do 1,3 V. Površina ispod voltamograma u anodnom smeru proporcionalna je koncentraciji antioksidanata prisutnih u analiziranim uzorcima i predstavlja antioksidativni kapacitet uzorka. Za poređenje antioksidativnog kapaciteta analiziranih uzoraka vina korišćen je Q600 faktor, kao i antioksidativni kompozitni indeks (ACI) izražen u procentima. Analizom klonskih vina sorte vranac dobijeni rezultati su pokazali da se u voltamogramu uzorka CIII vidi drastično povećanje Q600 faktora i ACI indeksa, što ukazuje na najveću antioksidativnu aktivnost ovog klonskog vina među

uzorcima iz 2010. i 2011. godine [85]. Sa druge strane, u grupi uzoraka 2012. godine proizvodnje, CII uzorak se ističe najvećom antioksidativnom aktivnošću.

Antioksidativna aktivnost odabranih uzoraka merlo vina praćena je i metodom klasične polarografije. Antioksidativna aktivnost je praćena kroz smanjenje granične anodne struje nastale usled stvaranja HPMC kompleksa u baznim rastvorima vodonik peroksida. Posmatran je efekat različitih vina na smanjenje polarografske struje kroz zavisnost procenta opadanja početne anodne struje u odnosu na zapreminu gradijentno dodanih alikvota ispitivanih vina. Nagib linearnog dela dobijenih krivih (pomnožen sa 1000) iskorišćen je za izražavanje antioksidativnog kapaciteta uzoraka u %/mL analiziranih vina. Iz dobijenih rezultata može se zaključiti da je najveće smanjenje osnovnog pika anodne struje primećeno pri dodavanju uzorka merlo VCR101 vina iz 2011. godine, pa je samim tim i antioksidativni potencijal datog uzorka najveći ($194,8 \pm 6,6$ %/mL). Polarografski esej je u ranijim studijama korišćen u analizi antioksidativne aktivnosti jakih alkoholnih pića, kao i belih i crvenih komercijalno dostupnih vina [50,86,87]. Međutim, u okviru ove studije pomenutom metodom po prvi put su analizirana specifična klonska vina.

Antioksidativna aktivnost odabranih uzoraka vina u ćelijama kvasca

Antioksidativna aktivnost analiziranih vina merlo sorte 2011. godine proizvodnje praćena je u ćelijama kvasca prethodno tretiranim vodonik peroksidom kroz stepen preživljavanja (SP) ćelija *S. cerevisiae*, sadržaj T-SH grupa, kao i kroz aktivnost antioksidativnih enzima glutation peroksidaze (GPx), glutation reduktaze (GR) i katalaze (Cat). U ovom testu uočeno je da izlaganje ćelija kvasaca vodonik peroksidu smanjuje njihov stepen preživljavanja na 33% u poređenju sa kontrolnim ćelijama kvasaca koje su tretirane samo 13% etanolom (100% preživljavanje). Pretretmanom ćelija kvasaca svim analiziranim vinima raste njihova brzina preživljavanja u uslovima stresa, pri čemu je najizraženiji zaštitni efekat primećen za vino dobijeno od VCR1 klona vinove loze [88]. Pomenuti uzorak je i najbogatiji galnom kiselinom, (+)-katehinom, ukupnim resveratrolom i kvercetinom, pa se može pretpostaviti da su upravo pomenuta jedinjenja zaslužna za najveći stepen preživljavanja ćelija kvasaca zahvaljujući izraženoj antiradikalskoj aktivnosti.

U ćelijama kvasaca stresiranim vodonik peroksidom dolazi do značajnog povećanja aktivnosti enzima Cat, kao i značajno smanjenje GPx aktivnosti. Oba enzima katalizuju reakcije redukcije vodonik peroksida, mada u ovom slučaju, Cat preuzima dominantnu ulogu u odbrani od oksidativnog napada izazvanog izlaganjem vodonik peroksidu. Dalje je primećeno da svi analizirani uzorci vina pomeraju antioksidativnu odbranu sa katalazne strane, što je dominantno u ćelijama kvasca stresiranim vodonik peroksidom, na GPx-dominantnu odbranu [88]. Naime, pretretman ispitivanim uzorcima vina prevenira pad u aktivnosti GPx usled dejstva vodonik peroksida, pri čemu je efekat vina dobijenog od VCR101 klona vinove loze najveći. Aktivnost GPx u stresiranim ćelijama kvasca prethodno tretiranim datim vinom je više nego dva puta veća u odnosu na kontrolne ćelije. Sa druge strane, aktivnost GR je značajno povećana u ćelijama kvasca stresiranim vodonik peroksidom, što je u saglasnosti sa povećanim sadržajem T-SH grupa koji je izmeren u ovim ćelijama. Ovo zapažanje bi moglo ukazati na to da je smanjenje aktivnosti GPx u ćelijama kvasca tretiranim vodonik peroksidom pre usledilo zbog post-translatornih modifikacija koje su uticale na funkciju GPx, nego zbog smanjenja sadržaja ko-supstrata GSH. Analiza PCA rezultata dobijenih u okviru ispitivanja antioksidativne aktivnosti pokazuje da sva testirana vina pokazuju protektivni efekat u odnosu na stepen preživljavanja ćelija kvasca tretiranim vodonik peroksidom, dok povećana aktivnost GPx može biti jedan od bioloških mehanizama koji najviše doprinosi dokazanom protektivnom efektu. Ovakva zapažanja u saglasnosti su sa prethodno objavljenim literaturnim podacima [89,90].

Veštačka neuronska mreža

Sve promenljive uzete u obzir u analizi PCA takođe su iskorišćene za ANN (engl. *Artificial Neural Network*) modeliranje koje je u ovoj studiji po prvi put iskorišćeno u predviđanju aktivnosti antioksidativnih enzima u odnosu na malu promenu koncentracije fenola u vinima. ANN model je dao prilično dobra predviđanja eksperimentalnih rezultata (SP, T-SH, GPx, GR i Cat), za širok opseg promenljivih. Dobijene vrednosti odgovaraju nivou eksperimentalnih greški, a prikazuju uticaj sadržaja fenolnih jedinjenja na antioksidativnu aktivnost vina izraženu pomoću SP, sadržaja T-SH grupa i aktivnosti GPx, GR i Cat. Analiza osetljivosti služi da pokaže uticaj ulaznih promenljivih, ali takođe pokazuje i značaj ulazne promenljive u određenoj tački ulaznog prostora [91]. Primećeno je da na SP najveći pozitivni uticaj imaju male promene u sadržaju tR, Qe i K, dok najveći negativni uticaj imaju male promene u sadržaju cP, cR i tP u sredini ulaznog prostora. Na sadržaj T-SH najveći pozitivni efekat imaju male promene u sadržaju ukupnih fenola u oblasti minimuma ulaznog prostora, dok je najveći negativni uticaj primećen pri malim promenama u sadržaju cR u centralnom delu ulaznog prostora. Na aktivnost GPx najpozitivnije deluju male promene u koncentraciji tR blizu gornje granice ulaznog prostora. Takođe je primećeno da tR ima isti šablon delovanja na aktivnost GPx kao i na SP. Pozitivan efekat tR na aktivnost GPx prikazan je u ranijim naučnim radovima [92,93]. GA takođe pokazuje isti šablon pozitivnog uticaja na aktivnost GPx kao i na SP u središnjem delu ulaznog prostora, gde koncentracija cP negativno utiče na date parametre. Dobijeni rezultati podržavaju ranije zapažanje o tome da je aktivnost GPx glavna odgovorna za povećanje SP u ćelijama kvasca stresiranim vodonik peroksidom i prethodno tretiranim analiziranim vinima. Ono što je takođe primećeno jeste da je aktivnost GR pod najvećim pozitivnim uticajem pri malim promenama u koncentraciji cP, dok najnegativniji uticaj na aktivnost GR pokazuju male promene u koncentraciji tR i PK u centralnom delu ulaznog prostora. Ovi nalazi su u skladu sa PCA kao i sa eksperimentalnim merenjima.

CITOTOKSIČNA AKTIVNOST ODABRANIH UZORAKA VINA

Citotoksična aktivnost analiziranih uzoraka merlo vina 2011. godine proizvodnje ispitana je u odnosu na četiri kancerske ćelijske linije (HCT116 – ćelijska linija kancera creva, HeLa – ćelijska linija kancera cerviksa, A375 – ćelijska linija melanoma i PANC-1 – ćelijska linija kancera pankreasa). Posmatran je efekat analiziranih vina u tri različita zapreminska procenta (5, 10 i 20%). Dobijeni rezultati su pokazali da sva analizirana vina imaju najslabiji citotoksični efekat na ćelijsku liniju PANC-1. Poređenjem citotoksičnog efekta na ćelijske linije A375 i HeLa, može se zaključiti da sva tri analizirana vina pokazuju veću aktivnost u odnosu na ćelijsku liniju A375. Dalje, poređenjem efekata vina na ćelijske linije HCT116 i HeLa može se primetiti da je taj efekat različit u odnosu na zapreminsku koncentraciju vina. Dok je pri 5 i 10% koncentraciji efekat svih vina sličan, pri 20% koncentraciji jače je dejstvo komercijalnog i vina VCR1 na ćelijsku liniju HCT116. Međusobnim poređenjem citotoksičnog efekata analiziranih vina pri zapreminskoj koncentraciji od 5% u okviru jedne kancerske ćelijske linije, može se primetiti sličan efekat sva tri vina u odnosu na sve četiri ćelijske linije. S druge strane, pri 20% zapreminskoj koncentraciji VCR101 vino najjače deluje na ćelije HeLa, dok komercijalno vino najslabije deluje na ćelijsku liniju A375.

Odnos GSH/GSSG

Prooksidativno dejstvo analiziranih uzoraka crvenog vina sorte merlo, 2011. godine proizvodnje na melanomsku ćelijsku liniju (A375) ispitano je kroz odnos GSH/GSSG u ćelijama tretiranim vinom u odnosu na netretiranu kontrolu. Dobijeni rezultati su pokazali da je GSH/GSSG odnos u kancerskim ćelijama tretiranim sa sva tri uzorka merlo vina znatno manji od onog nađenog u kontrolnim (netretiranim) ćelijama A375. Ta-

kođe se vidi da je u ćelijama tretiranim VCR101 vinom GSH/GSSG odnos najniži ($0,66 \pm 0,05$) i da je značajno niži u odnosu na odnos nađen u ćelijama tretiranim komercijalnim vinom ($0,85 \pm 0,02$) i ćelijama tretiranim VCR1 vinom ($0,76 \pm 0,03$). Tretman komercijalnim vinom manje pomera ravnotežu prema GSSG i u odnosu na tretman VCR1 uzorkom ($p < 0,05$). Iz dobijenih rezultata može se zaključiti da je uzrok pomerene GSH/GSSG ravnoteže prema GSSG prooksidativno dejstvo crvenih vina u ćelijama A375. Ovaj rezultat je od izuzetnog značaja imajući u vidu hemio- i radio-rezistentnost melanomskih ćelija. Dati zaključak je u skladu sa dosadašnjim naučnim pretpostavkama i saznanjima da polifenolna jedinjenja biljnog porekla upravo prooksidativnim dejstvom ispoljavaju svoju antikancerogenu aktivnost [29,33,94,95].

ANTIBAKTERIJSKA AKTIVNOST ODABRANIH UZORAKA VINA

Radi ispitivanja antibakterijske aktivnosti analiziranih uzoraka vina merlo u ovoj studiji korišćen je MIC esej kroz izražavanje minimalne koncentracije vina koja sprečava rast bakterija u eksperimentalnim uslovima. U tu svrhu ispitana je antibakterijska aktivnost vina u odnosu na četiri soja Gram-pozitivnih i četiri soja Gram-negativnih bakterija u koncentracijskom opsegu vina od 0,25 do 500 $\mu\text{L}/\text{mL}$. Dobijeni rezultati su pokazali da sva vina u datom opsegu koncentracija dostižu odgovarajuće vrednosti MIC, čime je potvrđeno njihovo antibakterijsko dejstvo u odnosu na ispitivane bakterijske sojeve. Vrednosti MIC svih analiziranih vina kreću se od 125 do 500 $\mu\text{L}/\text{mL}$. Uzorak VCR1 2011 je uzorak sa najjačom ukupnom antibakterijskom aktivnošću u odnosu na osam ispitivanih bakterijskih sojeva. S obzirom na to da je uzorak VCR1 2011, uzorak sa najvećim sadržajem ukupnog resveratrola, (+)-katehina i kvercetina, pokazana antibakterijska aktivnost može biti s tim u vezi. Prethodne naučne studije su pokazale da su fenolna jedinjenja sposobna da ireverzibilno menjaju ćelijsku membranu bakterija, pri čemu je antibakterijska aktivnost direktno zavisna od strukture samih jedinjenja kao i da postoji sinergija u antibakterijskom delovanju flavonoida [96-98]. Takođe se može primetiti da je antibakterijska aktivnost svih ispitivanih uzoraka vina očekivano izrazito slabija od pozitivne kontrole, antibiotika amikacina.

ZAKLJUČAK

Rezultati ove studije su pokazali da su sva analizirana vina bogat izvor fenolnih jedinjenja, kao i makro i mikro elemenata u okviru dozvoljenih ili uobičajenih granica. Uzorci analiziranih vina su ispoljili antioksidativnu aktivnost *in vitro*. Takođe je utvrđeno da sva analizirana merlo vina povećavaju stepen preživljavanja ćelija *S. cerevisiae* u uslovima oksidativnog stresa. Protektivni efekat analiziranih uzoraka vina prvenstveno je zasluga aktivnosti GPx. Pomoću ANN razvijena je brza i precizna metoda za predviđanje aktivnosti antioksidativnih enzima u odnosu na malu promenu koncentracije fenolnih jedinjenja u vinima sa visokom tačnošću predviđanja ($R^2 = 0,98$). Rezultati posebno ukazuju na to da sadržaj *trans*-resveratrola u vinima u okviru izmerenih gornjih granica pozitivno utiče na aktivnost GPx i ćelijsko preživljavanje. Sva analizirana vina pokazuju citotoksičnu aktivnost u odnosu na četiri kancerske ćelijske linije. Najsnažnije dejstvo uočeno je u odnosu na melanomske ćelije i ćelijsku liniju kancera creva HCT116, dok je najslabije delovanje primećeno u odnosu na ćelijsku liniju kancera pankreasa. Prooksidativno dejstvo merlo vina potvrđeno je na melanomskim ćelijama. Analizirana vina merlo sorte pokazuju i antibakterijsku aktivnost u odnosu na osam patogenih bakterijskih sojeva.

Ova studija predstavlja jednu od retkih studija baziranih na kombinaciji klasičnih i savremenih eksperimentalnih metoda u karakterizaciji crvenih vina. S druge strane, plastično je demonstrirano kako se primenom napredne statistike detaljnije može sagledati skrivena biološka aktivnost.

LITERATURA

1. Geana EI, Marinescu A, Iordache AM, Sandru C, Ionete RE, Bala C. Differentiation of Romanian Wines on Geographical Origin and Wine Variety by Elemental Composition and Phenolic Components. *Food Anal Methods*. 2014;7(10):2064–74.
2. Ivanova-Petropulos V, Jakabová S, Nedelkovski D, Pavlík V, Balážová Ž, Hegedús O. Determination of Pb and Cd in Macedonian Wines by Electrothermal Atomic Absorption Spectrometry (ETAAS). *Food Anal Methods*. 2015;8(8):1947–52.
3. Fragopoulou E, Choleva M, Antonopoulou S, Demopoulos CA. Wine and its metabolic effects. A comprehensive review of clinical trials. *Metabolism*. 2018 Jun 1;83:102–19.
4. Maras V, Bogicevic M, Tomic M, Kodzulovic V, Sucur S, Cizmovic M, et al. Ampelometric, Genetic and Sanitary Evaluation of CV. Vranac. *Bull UASVM Hortic*. 2011;68(1).
5. Lorrain B, Chira K, Teissedre P-L. Phenolic composition of Merlot and Cabernet-Sauvignon grapes from Bordeaux vineyard for the 2009-vintage: Comparison to 2006, 2007 and 2008 vintages. *Food Chem*. 2011 Jun 15;126(4):1991–9.
6. Vujović D, Maletić R, Popović-Đorđević J, Pejin B, Ristić R. Viticultural and chemical characteristics of muscat hamburg preselected clones grown for table grapes. *J Sci Food Agric*. 2016;(April).
7. Mannini F. Clonal selection in grapevine: Interactions between genetic and sanitary strategies to improve propagation material. Vol. 528, *Acta Horticulturae*. 2000. p. 703–12.
8. Stockley C, Teissedre P-L, Boban M, Di Lorenzo C, Restani P. Bioavailability of wine-derived phenolic compounds in humans: a review. 2012. p. 995–1007.
9. Treutter D. Significance of flavonoids in plant resistance: a review. *Env Chem Lett*. 2006;4:147–57.
10. Mattivi F, Guzzon R, Vrhovsek U, Stefanini M, Velasco R. Metabolite Profiling of Grape: Flavonols and Anthocyanins. *J Agric Food Chem*. 2006;54:7692–702.
11. Ribereau-Gayon P, Glories Y, Maujean A, Dubourdieu D. Phenolic Compounds. In: *Handbook of Enology Volume 2 The Chemistry of Wine Stabilization and Treatments*. 2006. p. 141–205.
12. Rentsch M, Wilkens A, Winterhalter P. Non-flavonoid Phenolic Compounds. In: *Wine Chemistry and Biochemistry*. 2009. p. 509–21.
13. Pozo-Bayon AM, Hernandez TM, Martin-Alvarez PJ, Polo CM. Study of Low Molecular Weight Phenolic Compounds during the Aging of Sparkling Wines Manufactured with Red and White Grape Varieties. *J Agric Food Chem*. 2003;51:2089–95.
14. Cvejic JM, Djekic S V., Petrovic A V., Atanackovic MT, Jovic SM, Brceski ID, et al. Determination of trans- and cis-Resveratrol in Serbian Commercial Wines. *J Chromatogr Sci*. 2010;48:229–34.
15. Regev-Shoshani G, Shoseyov O, Bilkis I, Kerem Z. Glycosylation of resveratrol protects it from enzymic oxidation. *Biochem J*. 2003 Aug 15;374(Pt 1):157–63.
16. Cheyner V, Dueñas-Paton M, Salas E, Maury C, Souquet J-M, Sarni-Manchado P, et al. Structure and Properties of Wine Pigments and Tannins. *Am J Enol Vitic*. 2006;57:298–305.
17. Đorđević N, Novaković M, Pejin B, Živković M, Savić A, Mutić J, et al. An insight into chemical composition and biological activity of Montenegrin Vranac red wine. *Sci Hortic (Amsterdam)*. 2018 Jan 7;230:142–8.
18. Nicolini G, Larcher R, Pangrazzi P, Bontempo L. Changes in the contents of micro- and trace-elements in wine due to winemaking treatments. *Vitis*. 2004;43(1):41–5.
19. Catarino S, Curvelo-Garcia AS, Sousa RB. Measurements of contaminant elements of wines by inductively coupled plasma-mass spectrometry: A comparison of two calibration approaches. *Talanta*. 2006;70(5):1073–80.
20. OIV. International code of oenological practices. Vol. 33. 2017. 441 p.
21. Almeida CM, Vasconcelos MT. Multielement Composition of Wines and Their Precursors Including Provenance Soil and Their Potentialities As Fingerprints of Wine Origin. *Food Chem*. 2003;51:4788–98.
22. Woraratphoka J, Intarapichet K, Indrapichate K. Phenolic compounds and antioxidative properties of selected wines from the northeast of Thailand. *Food Chem*. 2007;104(4):1485–90.
23. Lima GPP, Vianello F, Corrêa Renata C, Campos RA da S, Borguini MG. Polyphenols in Fruits and Vegetables and Its Effect on Human Health. Vol. 05, *Food and Nutrition Sciences*. 2014. p. 1065–82.

24. Renaud S, de Lorgeril M. Wine, alcohol, platelets, and the French paradox for coronary heart disease. *Lancet* (London, England). 1992 Jun 20;339(8808):1523–6.
25. Youdim KA, McDonald J, Kalt W, Joseph JA. Potential role of dietary flavonoids in reducing microvascular endothelium vulnerability to oxidative and inflammatory insults. *J Nutr Biochem*. 2002;13(5):282–8.
26. Vujovic D, Pejin B, Djordjevic JP, Kosovic A, Velickovic M. An Insight Into Selected Properties of Merlot Wines Obtained from Three New Clone Candidates. *Rev Chim*. 2016;67(5):998–1000.
27. Pereira DM, Valentão P, Pereira JA, Andrade PB. Phenolics: From Chemistry to Biology. *Molecules*. 2009;14:2202–11.
28. Rice-Evans CA, Miller NJ, Paganga G. Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free Radic Biol Med*. 1996 Jan 1;20(7):933–56.
29. De la Lastra CA, Villegas I. Resveratrol as an antioxidant and pro-oxidant agent: mechanisms and clinical implications. Vol. 35, *Biochemical Society Transactions*. 2007. p. 1156–60.
30. Losa GA. Resveratrol modulates apoptosis and oxidation in human blood mononuclear cells. Vol. 33, *European Journal of Clinical Investigation*. 2003. p. 818–23.
31. Yen GC, Duh PD, Lin CW. Effects of resveratrol and 4-hexylresorcinol on hydrogen peroxide-induced oxidative DNA damage in human lymphocytes. *Free Radic Res*. 2003;35:509–14.
32. Zhang X, Lin D, Jiang R, Li H, Wan J, Li H. Ferulic acid exerts antitumor activity and inhibits metastasis in breast cancer cells by regulating epithelial to mesenchymal transition. Vol. 36, *Oncology Reports*. 2016. p. 271–8.
33. Ahmad A, Farhan Asad S, Singh S, Hadi S. DNA breakage by resveratrol and Cu(II): reaction mechanism and bacteriophage inactivation. *Cancer Lett*. 2000 Jun 1;154(1):29–37.
34. Khan HY, Zubair H, Ullah MF, Ahmad A, Hadi SM. Oral administration of copper to rats leads to increased lymphocyte cellular DNA degradation by dietary polyphenols: implications for a cancer preventive mechanism. *BioMetals*. 2011 Dec 30;24(6):1169–78.
35. Erasto P, Bojase-Moleta G, Majinda RR. Antimicrobial and antioxidant flavonoids from the root wood of *Bolusanthus speciosus*. *Phytochemistry*. 2004 Apr 1;65(7):875–80.
36. Fukai T, Marumo A, Kaitou K, Kanda T, Terada S, Nomura T. Antimicrobial activity of licorice flavonoids against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Fitoterapia*. 2002 Oct 1;73(6):536–9.
37. Wen A, Delaquis P, Stanich K, Toivonen P. Antilisterial activity of selected phenolic acids. *Food Microbiol*. 2003 Jun 1;20(3):305–11.
38. Jaisinghani RN. Antibacterial properties of quercetin. Vol. 8, *Microbiology Research*. 2017.
39. Yixi X, Weijie Y, Fen T, Xiaoqing C, Licheng R. Antibacterial Activities of Flavonoids: Structure-Activity Relationship and Mechanism. *Curr Med Chem*. 2015;22(1):132–49.
40. Friedman M. Overview of antibacterial, antitoxin, antiviral, and antifungal activities of tea flavonoids and teas. Vol. 51, *Molecular Nutrition and Food Research*. 2007. p. 116–34.
41. Đorđević NO, Novaković MM, Pejin B, Mutić JJ, Vajs VE, Pajović SB, et al. Comparative analytical study of the selected wine varieties grown in Montenegro. *Nat Prod Res*. 2017;31(15):1825–30.
42. Ivanova-Petropulos V, Ricci A, Nedelkovski D, Dimovska V, Parpinello GP, Versari A. Targeted analysis of bioactive phenolic compounds and antioxidant activity of Macedonian red wines. *Food Chem*. 2015;171:412–20.
43. Bogicevic M, Maras V, Mugoša M, Kodžulović V, Raičević J, Šučur S, et al. The effects of early leaf removal and cluster thinning treatments on berry growth and grape composition in cultivars Vranac and Cabernet Sauvignon. *Chem Biol Technol Agric*. 2015;2(1):1–8.
44. Ilieva F, Kostadinović Veličkovska S, Dimovska V, Mirhosseini H, Spasov H. Selection of 80 newly isolated autochthonous yeast strains from the Tikveš region of Macedonia and their impact on the quality of red wines produced from Vranec and Cabernet Sauvignon grape varieties. *Food Chem*. 2017;216:309–15.
45. Kallithraka S, Tsoutsouras E, Tzourou E, Lanaridis P. Principal phenolic compounds in Greek red wines. *Food Chem*. 2006;99(4):784–93.
46. Gris EF, Mattivi F, Ferreira EA, Vrhovsek U, Filho DW, Pedrosa RC, et al. Phenolic profile and effect of regular consumption of Brazilian red wines on in vivo antioxidant activity. *J Food Compos Anal*. 2013;31(1):31–40.
47. Casassa LF, Bolcato E a., Sari SE. Chemical, chromatic, and sensory attributes of 6 red wines produced with prefermentative cold soak. *Food Chem*. 2015;174:110–8.

48. Košmerl T, Bertalanič L, Maraš V, Kodžulović V, Šučur S, Abramović H. Impact of Yield on Total Polyphenols, Anthocyanins, Reducing Sugars and Antioxidant Potential in White and Red Wines Produced from Montenegrin Autochthonous Grape Varieties. *Food Sci Technol*. 2013;1(1):7–15.
49. Radovanovic B, Radovanovic A, Tomic V. Relations between the phenolic composition and free radical scavenging, and antibacterial activities of red wines from different cultivars of *vitis vinifera* L. *Int J Food Prop*. 2012;15(4):725–35.
50. Gorjanović SZ, Novaković MM, Potkonjak NI, Sužnjević DZ. Antioxidant Activity of Wines Determined by a Polarographic Assay Based on Hydrogen Peroxide Scavenge. *J Agric Food Chem*. 2010 Apr 28;58(8):4626–31.
51. Fernández-Pachón MS, Villaño D, García-Parrilla MC, Troncoso a. M. Antioxidant activity of wines and relation with their polyphenolic composition. *Anal Chim Acta*. 2004;513(1):113–8.
52. Dimitrovska M, Tomovska E, Bocevska M. Characterisation of Vranec, Cabernet Sauvignon and Merlot wines based on their chromatic and anthocyanin profiles. *J Serbian Chem Soc*. 2013;78(9):1309–22.
53. Vujovic D, Pejin B, Popovic Djordjevic J, Velickovic M, Tesevic V. Phenolic natural products of the wines obtained from three new Merlot clone candidates. *Nat Prod Res*. 2016;30(8):987–90.
54. Vujović DS, Žunić DM, Popović BS, Pantelić MM, Popović-Djordjević JB. Agrobiological and wine quality traits of *vitis vinifera* cv. Merlot clones selected in Serbia. *J Int des Sci la Vigne du Vin*. 2015;49(4):267–74.
55. Žurga P, Vahčić N, Pasković I, Banović M, Staver MM. Croatian Wines from Native Grape Varieties Have Higher Distinct Phenolic (Nutraceutic) Profiles than Wines from Non-Native Varieties with the Same Geographic Origin. *Chem Biodivers*. 2019;16(8).
56. Majkić TM, Torović LD, Lesjak MM, Četojević-Simin DD, Beara IN. Activity profiling of Serbian and some other European Merlot wines in inflammation and oxidation processes. *Food Res Int*. 2019;121:151–60.
57. Mercurio MD, Smith PA. Tannin quantification in red grapes and wine: Comparison of polysaccharide- and protein-based tannin precipitation techniques and their ability to model wine astringency. Vol. 56, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2008. p. 5528–37.
58. Harbertson JF, Hodgins RE, Thurston LN, Schaffer LJ, Reid MS, Landon JL, et al. Variability of Tannin Concentration in Red Wines. *Am J Enol Vitic*. 2008;59(2):210–4.
59. Radovanović A, Radovanović B, Jovančićević B. Free radical scavenging and antibacterial activities of southern Serbian red wines. *Food Chem*. 2009;117(2):326–31.
60. Ivanova V, Stefova M, Chinnici F. Determination of the polyphenol contents in Macedonian grapes and wines by standardized spectrophotometric methods. *J Serbian Chem Soc*. 2010;75(1):45–59.
61. Blanco-Vega D, Gomez-Alonso S, Hermosin-Gutierrez I. Identification, content and distribution of anthocyanins and low molecular weight anthocyanin-derived pigments in Spanish commercial red wines. *Food Chem*. 2014;158:449–58.
62. Hosu A, Cristea V, Cimpoiu C. Analysis of total phenolic , flavonoids , anthocyanins and tannins content in Romanian red wines: Prediction of antioxidant activities and classification of wines using artificial neural networks. *Food Chem*. 2014;150:113–8.
63. Radovanović AN, Jovančićević BS, Radovanović BC. Antimicrobial Effectiveness of Selected Vranac Wines Against Six Gram-Positive and Six Gram-Negative Bacterial Strains. *Trop J Pharm Res*. 2014;13(May):819–24.
64. Anli RE, Vural N. Antioxidant phenolic substances of Turkish red wines from different wine regions. *Molecules*. 2009;14(1):289–97.
65. Gambelli L, Santaroni GP. Polyphenols content in some Italian red wines of different geographical origins. *J Food Compos Anal*. 2004;17(5):613–8.
66. La Torre GL, Saitta M, Vilasi F, Pellicanò T, Dugo G. Direct determination of phenolic compounds in Sicilian wines by liquid chromatography with PDA and MS detection. *Food Chem*. 2006;94(4):640–50.
67. Pajović-Šćepanović R, Wendelin S, Eder R. Phenolic composition and varietal discrimination of Montenegrin red wines (*Vitis vinifera* var. Vranac, Kratošija, and Cabernet Sauvignon). *Eur Food Res Technol*. 2018;244(12):2243–54.
68. Pantelić M, Dabić Zagorac D, Natić M, Gašić U, Jović S, Vujović D, et al. Impact of clonal variability on phenolics and radical scavenging activity of grapes and wines: A study on the recently developed Merlot and Cabernet Franc clones (*Vitis vinifera* L.). *PLoS One*. 2016;11(10):1–15.
69. Beara IN, Torović LD, Pintač D, Majkić TM, Orčić DZ, Mimica-Dukić NM, et al. Polyphenolic profile, antioxidant and neuroprotective potency of grape juices and wines from Fruška Gora region (Serbia). *Int J Food Prop*. 2018;20(3):S2552–68.

70. Kostadinović S, Wilkens A, Stefova M, Ivanova V, Vojnoski B, Mirhosseini H, et al. Stilbene levels and antioxidant activity of Vranec and Merlot wines from Macedonia: Effect of variety and enological practices. *Food Chem.* 2012;135(4):3003–9.
71. EFSA. Opinion of the Scientific Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies on a request from the Commission related to the Tolerable Upper Intake Level of Sodium. *EFSA J.* 2005;209:1–26.
72. Ribereau-Gayon P, Glories Y, Maujean A, Dubourdieu D. Dry Extract and Minerals. In: *Handbook of Enology Volume 2 The Chemistry of Wine Stabilization and Treatments.* John Wiley & Sons; 2006. p. 102–4.
73. Mahmoudzadeh H. Clonal selection and superior cultivar selection of Iranian grape germplasm to cold hardiness. In: *XI International Conference on Grapevine Breeding and Genetics.* 2015. p. 255–8.
74. (OIV) IO of V and W. *Compendium of international methods of wine and must analysis- Volume 1.* 2018.
75. Sayre LM, Perry G, Smith MA. Redox metals and neurodegenerative disease. *Curr Opin Chem Biol.* 1999 Apr 1;3(2):220–5.
76. Kment P, Mihaljevič M, Ettlér V, Šebek O, Strnad L, Rohlová L. Differentiation of Czech wines using multielement composition - A comparison with vineyard soil. *Food Chem.* 2005;91(1):157–65.
77. Vinković Vrček I, Bojić M, Žuntar I, Mendaš G, Medić-Šarić M. Phenol content, antioxidant activity and metal composition of Croatian wines deriving from organically and conventionally grown grapes. *Food Chem.* 2011;124(1):354–61.
78. Kim B-H, Choi JS, Yi EH, Lee J-K, Won C, Ye S-K, et al. Relative Antioxidant Activities of Quercetin and Its Structurally Related Substances and Their Effects on NF- κ B/CRE/AP-1 Signaling in Murine Macrophages Byung-Hak. *Mol Cells.* 2013;35:410–20.
79. Burda S, Oleszek W. Antioxidant and antiradical activities of flavonoids. Vol. 49, *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* 2001. p. 2774–9.
80. Li N, Liu J-H, Zhang J, Yu B-Y. Comparative Evaluation of Cytotoxicity and Antioxidative Activity of 20 Flavonoids. *J Agric Food Chem.* 2008;56(10):3876–83.
81. Valente LMM, da Paixão D, do Nascimento AC, dos Santos PFP, Scheinvar LA, Moura MRL, et al. Antiradical activity, nutritional potential and flavonoids of the cladodes of *Opuntia monacantha* (Cactaceae). *Food Chem.* 2010 Dec 15;123(4):1127–31.
82. Kilmartin P a, Zou H, Waterhouse AL. A Cyclic Voltammetry Method Suitable for Characterizing Antioxidant Properties of Wine and Wine Phenolics A Cyclic Voltammetry Method Suitable for Characterizing Antioxidant Properties of Wine and Wine Phenolics. *J Agric Food Chem.* 2001;49:1957–65.
83. De Beer D, Harbertson JF, Kilmartin PA, Roginsky V, Barsukova T, Adams DO, et al. Phenolics: A Comparison of Diverse Analytical Methods Dalene. *Am J Enol Vitic.* 2004;55(4):389–400.
84. Kilmartin PA, Honglei Z, Waterhouse AL. Correlation of wine phenolic composition versus cyclic voltammetry response. *Am J Enol Vitic.* 2002;53:294–302.
85. Đorđević NO, Pejin B, Novaković MM, Stanković DM, Mutić JJ, Pajović SB, et al. Some chemical characteristics and antioxidant capacity of novel Merlot wine clones developed in Montenegro. b. 2017;225(July):505–11.
86. Gorjanović SŽ, Novaković MM, Vukosavljević P V., Pastor FT, Tešević V V., Sužnjević DŽ. Polarographic assay based on hydrogen peroxide scavenging in determination of antioxidant activity of strong alcohol beverages. *J Agric Food Chem.* 2010;58(14):8400–6.
87. Sužnjević DŽ, Pastor FT, Gorjanović SŽ. Polarographic study of hydrogen peroxide anodic current and its application to antioxidant activity determination. *Talanta.* 2011 Sep 15;85(3):1398–403.
88. Đorđević NO, Todorović N, Novaković IT, Pezo LL, Pejin B, Maraš V, et al. Antioxidant Activity of Selected Polyphenolics in Yeast Cells: The Case Study of Montenegrin Merlot Wine. *Molecules.* 2018;23(1971):1–14.
89. Baroni M V., Di Paola Naranjo RD, García-Ferreyra C, Otaiza S, Wunderlin DA. How good antioxidant is the red wine? Comparison of some in vitro and in vivo methods to assess the antioxidant capacity of Argentinean red wines. *LWT - Food Sci Technol.* 2012;47(1):1–7.
90. Lingua MS, Fabani MP, Wunderlin DA, Baroni M V. In vivo antioxidant activity of grape, pomace and wine from three red varieties grown in Argentina: Its relationship to phenolic profile. *J Funct Foods.* 2016;20:332–45.
91. Saltelli A, Annoni P. How to avoid a perfunctory sensitivity analysis. *Environ Model Softw.* 2010;25(12):1508–17.

92. Sadi G, Bozan D, Yildiz HB. Redox regulation of antioxidant enzymes: Post-translational modulation of catalase and glutathione peroxidase activity by resveratrol in diabetic rat liver. *Mol Cell Biochem.* 2014;393(1–2):111–22.
93. Ourique GM, Finamor IA, Saccol EMH, Riffel APK, Pês TS, Gutierrez K, et al. Resveratrol improves sperm motility, prevents lipid peroxidation and enhances antioxidant defences in the testes of hyperthyroid rats. *Reprod Toxicol.* 2013;37(February 2013):31–9.
94. Khan HY, Zubair H, Faisal M, Ullah MF, Farhan M, Sarkar FH, et al. Plant polyphenol induced cell death in human cancer cells involves mobilization of intracellular copper ions and reactive oxygen species generation: A mechanism for cancer chemopreventive action. *Mol Nutr Food Res.* 2014;58:437–46.
95. Hadi SM, Asad SF, Singh S, Ahmad A. Putative mechanism for anticancer and apoptosis-inducing properties of plant-derived polyphenolic compounds. Vol. 50, *IUBMB Life.* 2000. p. 167–71.
96. Borges A, Ferreira C, Saavedra MJ, Simões M. Antibacterial Activity and Mode of Action of Ferulic and Gallic Acids Against Pathogenic Bacteria. Vol. 19, *Microbial Drug Resistance.* 2013. p. 256–65.
97. Ma DSL, Tan LT-H, Chan K-G, Yap WH, Pusparajah P, Chuah L-H, et al. Resveratrol—Potential Antibacterial Agent against Foodborne Pathogens. *Front Pharmacol.* 2018;9:1–16.
98. Arima H, Ashida H, Danno G. Rutin-enhanced Antibacterial Activities of Flavonoids against *Bacillus cereus* and *Salmonella enteritidis*. *Biosci Biotechnol Biochem* ISSN. 2002;66:1009–14.



IMPRESUM

Trendovi u molekularnoj biologiji, 2022.

Izdavač

**Institut za molekularnu genetiku i genetičko inženjerstvo,
Univerzitet u Beogradu**

Urednik

Dr **Sonja Pavlović**, naučni savetnik,
Institut za molekularnu genetiku i genetičko inženjerstvo
Univerzitet u Beogradu

Uređivački odbor

Dr **Jelena Begović**, naučni savetnik,
Institut za molekularnu genetiku i genetičko inženjerstvo
Univerzitet u Beogradu

Prof. dr **Ivana Novaković**, redovni profesor,
Medicinski fakultet Univerziteta u Beogradu

Prof. dr **Dužanka Savić Pavićević**, redovni profesor,
Biološki fakultet Univerziteta u Beogradu

Dr **Ana Đorđević**, naučni savetnik,
Univerzitet u Beogradu Institut za biološka istraživanja
„Siniša Stanković“

Recenzenti

Dr **Svetlana Radović**, redovni profesor,
Biološki fakultet Univerziteta u Beogradu

Dr **Vesna Škodrić Trifunović**, redovni profesor,
Medicinski fakultet Univerziteta u Beogradu

Dr **Gordana Nikčević**, naučni savetnik,
Institut za molekularnu genetiku i genetičko inženjerstvo
Univerzitet u Beogradu

Dizajn i izrada korica

Ivan Strahinić

Štampa

Curent Print, Beograd

Periodičnost izlaženja publikacije

Godišnje

Tiraž

100 primeraka

Autori

Aleksandar Cingel.....	238
Ana Branković.....	63
Ana Djordjević.....	63
Branislava Medić Brkić.....	15
Dragana Srebro.....	15
Dunja Drakulić.....	168
Dusan Keckarević.....	51, 275
Goran Brajušković.....	63
Gordana Matić.....	8
Ilona Đorić.....	75
Ivana Guševac Stojanović.....	168
Jelena Martinović.....	186
Jelena Perić.....	143
Jovana Despotović.....	90
Katarina Savić Vujović.....	15
Katarina Zeljić.....	223
Mariana Stanišić.....	255
Marijana B. Živković.....	104
Marina Zarić Kontić.....	186
Milena Trajković.....	238
Milena Ugrin.....	32
Milica Keckarević Marković.....	51, 275
Milica Popović.....	63
Miljana Kecmanović.....	51, 275
Neda Đorđević.....	206
Nevena Banjac.....	223
Nikola Jovanović.....	125
Predrag Vujović.....	155
Sladjana Jevremović.....	238
Slavica Ninković.....	223
Sonja Šelemetjev.....	75
Sonja Vučković.....	15
Suzana Matijašević-Joković.....	63
Tamara Dakić.....	155
Tatjana Mitrović.....	125
Tijana Išić Denčić.....	75
Zorana Dobrijević.....	63

CIP - Каталогизacija u publikaciji
Narodna biblioteka Srbije, Beograd

577.2

TRENDOVI u molekularnoj biologiji = Trends in
Molecular Biology. - 2022, br. 2 (sep.)- . - Beograd :
Institut za molekularnu genetiku i genetičko inženjerstvo,
2021- (Beograd : Curent Print). - 28 cm

Godišnje. - Tekst na srp. i engl. jeziku.
ISSN 2787-2947 = Trendovi u molekularnoj biologiji
COBISS.SR-ID 45105929