

Biološki potencijal kupine

Podrug, Roko

Undergraduate thesis / Završni rad

2021

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Split, Faculty of Chemistry and Technology / Sveučilište u Splitu, Kemijsko-tehnološki fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:167:472508>

Rights / Prava: [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-27**

Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of chemistry and technology - University of Split](#)



SVEUČILIŠTE U SPLITU
KEMIJSKO-TEHNOLOŠKI FAKULTET

BIOLOŠKI POTENCIJAL KUPINE

ZAVRŠNI RAD

ROKO PODRUG

Matični broj: 75

Split, srpanj, 2021.

SVEUČILIŠTE U SPLITU
KEMIJSKI-TEHNOLOŠKI FAKULTET
PREDDIPLOMSKI STUDIJ PREHRAMBENA TEHNOLOGIJA

BIOLOŠKI POTENCIJAL KUPINE

ZAVRŠNI RAD

ROKO PODRUG

Matični broj: 75

Split, srpanj, 2021.

UNIVERSITY OF SPLIT
FACULTY OF CHEMISTRY AND TECHNOLOGY
UNDERGRADUATE STUDY OF FOOD TECHNOLOGY

BIOLOGICAL POTENTIAL OF BLACKBERRIES

BACHELOR THESIS

ROKO PODRUG

Parent number: 75

Split, July, 2021.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

ZAVRŠNI RAD

Sveučilište u Splitu
Kemijsko-tehnološki fakultet u Splitu
Preddiplomski studij Prehrambena tehnologija

Znanstveno područje: Biotehničke znanosti

Znanstveno polje: Prehrambena tehnologija

Tema rada je prihvaćena na 6. sjednici Fakultetskog vijeća Kemijsko-tehnološkog fakulteta održanoj 15. i 16. prosinca 2020.

Mentor: Doc. dr. sc. Danijela Skroza

BIOLOŠKI POTENCIJAL KUPINE

Roko Podrug, 75

Sažetak:

Cilj ovoga rada bilo je istražiti biološki potencijal kupine i njenih nusproizvoda. Bogat kemijski i nutritivnim sastav ovog bobičastog voća ukazuje na brojna pozitivna biološka svojstva i vrlo važnu ulogu u prehrambenoj industriji. Zbog osjetljivosti plodova i sklonosti kvarenju, kupine se prerađuju u različite proizvode, a tijekom proizvodnje zaostaju jako vrijedni nusproizvodi kao što su trop, lišće i korijen. Brojne znanstvene studije ukazuju na mogućnost primjene nusproizvoda kupine za obogaćivanje drugih proizvoda ili pak kao zamjena za sintetske antioksidanse. Pregledom dostupne literature i dosadašnjih istraživanja biološkog potencijala kupine i njenih nusproizvoda, možemo potvrditi opravdanost njihove primjene u prehrambenoj industriji.

Ključne riječi: kupina, kemijski sastav, biološki potencijal, nusproizvodi, polifenoli, antioksidacija

Rad sadrži: 23 stranice, 4 slika, 1 tablicu, 42 literaturne reference

Jezik izvornika: hrvatski

Sastav povjerenstva za obranu:

1. Izv. prof. dr. sc. Ivana Generalić Mekinić – predsjednik
2. Doc. dr. sc. Miće Jakić – član
3. Doc. dr. sc. Danijela Skroza – član – mentor

Datum obrane: 09. srpanj 2021.

Rad je u tiskanom i elektroničkom (pdf format) obliku pohranjen u Knjižnici Kemijsko-tehnološkog fakulteta Split, Ruđera Boškovića 35.

BASIC DOCUMENTATION CARD

BACHELOR THESIS

University of Split
Faculty of Chemistry and Technology of Split
Undergraduate Study of Food Technology

Scientific area: Biotechnical sciences

Scientific field: Food Technology

Thesis subject was approved by Faculty Council of Faculty of Chemistry and Technology, session no. 6, December 15 and 16, 2020.

Mentor: Ph. D. Danijela Skroza Assistant Prof.

BIOLOGICAL POTENTIAL OF BLACKBERRIES

Roko Podrug, 75

Abstract:

The aim of this study was to investigate the biological potential of blackberries and their by-products. The rich chemical and nutritional composition of this berry fruit indicates its numerous biological properties and a very important role in the food industry. Due to the sensitivity of the fruit and its perishability, blackberries are processed into various products and during production, valuable by-products such as trop, leaves and roots remain. Numerous scientific studies indicate the possibility of using blackberry by-products to enrich other products or as a substitute for synthetic antioxidants. By reviewing the available literature and previous research on the biological potential of blackberries and its by-products, we can confirm the justification of their possible application in the food industry.

Keywords: blackberry, chemical composition, biological potential, by-products, polyphenols, antioxidation

Thesis contains: 23 pages, 4 figures, 1 table, 42 references

Original in: Croatian

Defense committee:

1. Associate Professor Ivana Generalić Mekinić, Ph. D. - chair person
2. Assistant Professor Miće Jakić, Ph. D. – member
3. Assistant Professor Danijela Skroza, Ph. D. – supervisor

Defense date: 9th July 2021

Printed and electronic (pdf format) version of thesis is deposited in Library of Faculty of Chemistry and Technology Split, Ruđera Boškovića 35.

Završni rad je izrađen u Zavodu za prehrambenu tehnologiju i biotehnologiju, Kemijsko-tehnološkog fakulteta u Splitu pod mentorstvom doc. dr. sc. Danijele Skroza u razdoblju od travnja do srpnja 2021.godine.

ZAHVALA

Prije svega, želim se zahvaliti svojoj mentorici doc. dr. sc. Danijeli Skroza na velikoj pomoći, ukazanom povjerenju te savjetima i strpljenju tijekom izrade ovog završnog rada. Zahvaljujem se svojoj obitelji na potpori i razumijevanju tijekom moga studiranja. Također se zahvaljujem i prijateljima na ogromnoj podršci.

ZADATAK ZAVRŠNOG RADA

Koristeći dostupnu literaturu provesti pregled istraživanja biološkog potencijala ekstrakata kupine i njenih nusproizvoda uz poseban naglasak na mogućnost primjene u prehrambenoj industriji.

SAŽETAK

Cilj ovoga rada bilo je istražiti biološki potencijal kupine i njenih nusproizvoda. Bogat kemijski i nutritivnim sastav ovog bobičastog voća ukazuje na brojna pozitivna biološka svojstva i vrlo važnu ulogu u prehrambenoj industriji. Zbog osjetljivosti plodova i sklonosti kvarenju, kupine se prerađuju u različite proizvode, a tijekom proizvodnje zaostaju jako vrijedni nusproizvodi kao što su trop, lišće i korijen. Brojne znanstvene studije ukazuju na mogućnost primjene nusproizvoda kupine za obogaćivanje drugih proizvoda ili pak kao zamjena za sintetske antioksidanse. Pregledom dostupne literature i dosadašnjih istraživanja biološkog potencijala kupine i njenih nusproizvoda, možemo potvrditi opravdanost njihove moguće primjene u prehrambenoj industriji.

Ključne riječi: kupina, kemijski sastav, biološki potencijal, nusproizvodi, polifenoli, antioksidacija

SUMMARY

The aim of this study was to investigate the biological potential of blackberries and their by-products. The rich chemical and nutritional composition of this berry fruit indicates its numerous biological properties and a very important role in the food industry. Due to the sensitivity of the fruit and its perishability, blackberries are processed into various products and during production, valuable by-products such as trop, leaves and roots remain. Numerous scientific studies indicate the possibility of using blackberry by-products to enrich other products or as a substitute for synthetic antioxidants. By reviewing the available literature and previous research on the biological potential of blackberries and its by-products, we can confirm the justification of their possible application in the food industry.

Keywords: Blackberry, chemical composition, biological potential, by-products, polyphenols, antioxidation

SADRŽAJ

| | |
|---|----|
| UVOD | 1 |
| 1. OPĆI DIO | 2 |
| 1.1. Kupina | 2 |
| 1.1.1. Kemijski i nutritivni sastav kupine | 3 |
| 1.1.1.1 Fenolni sastav kupine..... | 5 |
| 1.1.2. Biološki potencijal kupine | 7 |
| 1.1.3. Proizvodi i nusproizvodi kupine | 9 |
| 1.1.3.1. Kupinovo vino | 9 |
| 1.1.3.2. Trop kupine | 10 |
| 1.1.3.3. List kupine..... | 11 |
| 2. EKSPERIMENTALNI DIO | 13 |
| 2.1. Pregled znanstvene literature | 13 |
| 3. REZULTATI I RASPRAVA | 16 |
| 4. ZAKLJUČCI | 18 |
| 5. LITERATURA | 19 |

UVOD

Kupina je vrlo rasprostranjeno voće koje je ujedno i nutritivno vrlo važna namirnica zbog svog bogatog kemijskog sastava i odličnih organoleptičkih svojstava koja se očituju u visokom sadržaju polifenola, vitamina, minerala te ostalih komponenti koje bez sumnje pozitivno utječu na ljudsko zdravlje. Polifenolni spojevi u kupini su samo jedna od brojnih biološki aktivnih molekula kojima se u posljednje vrijeme posvećuje sve više važnosti, a čija su pozitivna djelovanja potvrđena u velikom broju istraživanja. Ovo voće sadrži antioksidante koji sudjeluju u borbi sa slobodnim radikalima, usporavaju starenje te štite kardiovaskularni i živčani sustav.

Zbog svoje kvarljivosti plodovi kupine se prerađuju u različite proizvode kao što su vino, sokovi, džemovi. Pri tome u proizvodnji zaostaju jako vrijedni nusproizvodi kao što su trop, lišće, korijen. Svi ovi nusproizvodi obzirom na bogat kemijski sastav mogu poslužiti kao izvrsna sirovina u prehrambenoj industriji za obogaćivanje drugih proizvoda poput vina, soka i sl. ili pak kao prirodni konzervansi u svrhu produljenja roka trajnosti hrane te sprječavanje oksidacijskih promjena na istima.

U tu svrhu u ovom radu će se korištenjem dostupne literature provesti pregled dosadašnjih istraživanja biološkog potencijala kupine i njenih nusproizvoda, kao i opravdanost njihove moguće primjene u prehrambenoj industriji.

1. OPĆI DIO

1.1. Kupina

Rubus fruticosus je zajednički naziv za veliki broj srodnih vrsta roda *Rubus*. Kupina je uspravni, kvrgavi, višegodišnji listopadni grm poznat po aromatičnom i slatkom plodu, koji ima ljekovitu, kozmetičku i hranjivu vrijednost. Plodovi su bogat izvor vrijednih hranjivih sastojaka, kao i bioaktivnih spojeva od terapijskog interesa zbog se ova biljka smatra funkcionalnom hranom. Kupina sadrži vitamine, steroide i lipide u ulju sjemenki, te minerale, flavonoide, glikozide, terpene, kiseline i tanine u nadzemnim dijelovima.(1)

Biljka cvjeta krajem proljeća i početkom ljeta. Cvjetovi imaju više prašnika. Nakon opadanja latica, voće razvija zbirne plodove koji su u ranoj fazi zelene boje dok kasnije tijekom zrenja prelaze preko crvene u crnu boju. Boja ovisi o prirodnim pigmentima koji su prisutni u kupini te o čimbenicima kao što su sorta, agronomska praksa korištena pri uzgoju, klimatski uvjeti, enzimska aktivnost i mikrobiološka kontaminacija. List kupine je s gornje strane tamno-zelen dok je donja strana svjetlija. (1)



Slika 1. Plod kupine (2)

1.1.1. Kemijski i nutritivni sastav kupine

Kemijski sastav kupine varira ovisno o sorti, uvjetima uzgoja, stadiju zrelosti, te berbi i uvjetima skladištenja. Ovo voće je zanimljivo zbog visokog sadržaja antocijana i elagitanina kao i drugih fenolnih spojeva koji doprinose njegovom velikom antioksidacijskom kapacitetu. Uz vrijedne polifenolne spojeve, kupina sadrži ugljikohidrate te nekoliko esencijalnih vitamina i minerala. (3)

Kupina je također vrlo dobar i cijenjen izvor masnih kiselina. Glavne masne kiseline sadržane u sjemenkama kupine su linolna i linoleinska, koje kupinu čine izvrsnim izvorom nezasićenih masnih kiselina. (4) Prema *National Nutrient Database for Standard Reference* (2016), sadržaj ukupnih masnih kiselina u 100 g svježeg ploda kupine iznosi 0,014 g, sadržaj mononezasićenih 0,047 g i polinezasićenih masnih kiselina 0,280 g. Profil masnih kiselina ekstrahirane iz sjemenki kupine čini 50-70% linolne kiseline, 1–32% linoleinske, 9–20% oleinske, 2–5% palmitinske i 1–3% stearinske. (4,5)

Tablica 1. Prosječni kemijski sastav kupine.(3)

| Nutrijenti | | Vitaminski / 100g ploda | | Minerali / 100g ploda | |
|-------------------|-------|--------------------------|-------|-----------------------|-------|
| Voda /g | 88,20 | Askorbinska kiselina /mg | 21,00 | Kalcij /mg | 29,0 |
| Energija /g | 43,0 | Tiamin /mg | 0,02 | Željezo /mg | 0,62 |
| Proteini /g | 1,39 | Riboflavin /mg | 0,03 | Magnezij /mg | 20,0 |
| Ukupni lipidi /g | 0,49 | Niacin /mg | 0,65 | Fosfor /mg | 22,00 |
| Pepeo /g | 0,37 | Pantotenska kiselina /mg | 0,28 | Kalij /mg | 162,0 |
| Ugljikohidrati /g | 9,61 | Vitamin B6 /mg | 0,03 | Natrij /mg | 1,0 |
| Ukupna vlakna /g | 5,30 | Ukupni folati / μ g | 25,00 | Cink /mg | 0,53 |
| Ukupni šećeri /g | 4,88 | Vitamin B12 / μ g | - | Bakar /mg | 0,17 |
| Saharoza /g | 0,07 | Vitamin A /IU | 214,0 | Mangan /mg | 0,65 |
| Glukoza /g | 2,31 | α – tokoferol /mg | 1,17 | Selen /mg | 0,40 |
| Fruktoza /g | 2,40 | β – tokoferol /mg | 0,04 | | |
| Maltoza /g | 0,07 | γ – tokoferol /mg | 1,34 | | |
| Galaktoza /g | 0,03 | Δ – tokoferol | 0,90 | | |
| Škrob /g | - | Vitamin K / μ g | 19,8 | | |

Kvalitetu kupine i njenih hibrida određuju dvije najzastupljenije grupe spojeva, a to su šećeri i organske kiseline. (6)

Sadržaj ukupnih šećera u plodu kupine se kreće od 6,68 do 10,22%, a glavni šećeri koje nalazimo su glukoza, fruktoza i saharoza. Glukoza ima pozitivan utjecaj na sadržaj antocijana, jer sprječava njihovu degradaciju tokom čuvanja dok je visok sadržaj fruktoze poželjan kao izvrsna organoleptička karakteristika voća koja je zaslužna za slatkoću ploda. (1,4) Saharoza je važan disaharid u voću, jer osim što je dobar energetski izvor, tradicionalno se koristi i kao konzervans kako bi se spriječilo mikrobiološko kvarenje proizvoda od voća. (7) U divljim sortama kupine, saharoza je prisutna u znatno manjim količinama, u odnosu na druge šećere, zbog prelaska u invertne šećere tijekom zrenja. (4)

Od polisaharida u kupini možemo pronaći pektin i celulozu. Celulozu ima najviše u pokožici voća, a dijelom i u kori i sjemenkama dok se pektin razlaže tijekom sazrijevanja što doprinosi mekšanju ploda. (4)

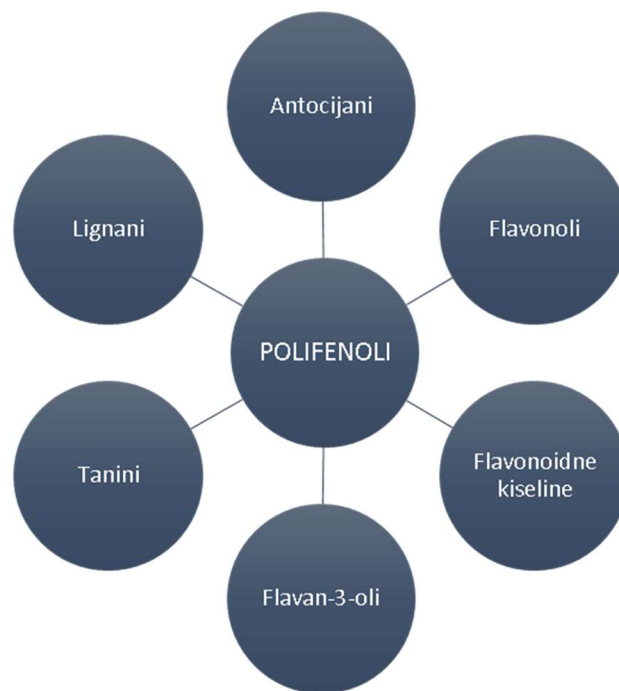
Trpkost kupine potječe od nehlapljivih organskih kiselina, uključujući askorbinsku kiselinu (vitamin C), limunsku kiselinu, laktoizokitričnu kiselinu te jabučnu, fumarnu i jantarnu kiselinu. Ove organske kiseline u kupini važne su za stabilizaciju antocijana te produljenje roka trajanja svježih i prerađenih bobica. (6)

Kupine nisu samo niskoenergetske namirnice, već su i bogat izvor vitamina. U svježem plodu kupine nalazimo različite vitamine, i to vitamin A, E, B1, B2, B3, B5, B6, B9 i C. Vitamin C (askorbinska kiselina) sudjeluje u različitim metaboličkim reakcijama te ima sposobnost regeneracije drugih bioloških važnih antioksidanata, poput glutationa i vitamina E. Vitamin E je prepoznat kao lipidni antioksidant jer sprječava oksidaciju nezasićenih masnih kiselina stupajući sam u reakcije sa slobodnim radikalima. Unos većih količina vitamina E u prehrani štiti stanice od utjecaja slobodnih radikala, kontrolira zgrušavanje krvi te sprječava srčani udar. Vrlo je važna uloga vitamina C kod neutralizacije reaktivnih vrsta kisika u vodenoj fazi prije početka peroksidacije lipida. Utjecaj askorbinske kiseline je važan u sprječavanju tamnjenja i obezbojavanja plodova, kao i u povećanju njihove trajnosti tako što askorbinska kiselina zaustavlja fiziološke procese koji umanjuju kvalitetu plodova tokom čuvanja. Vitamini B skupine su neophodni za pretvaranje ugljikohidrata, masti i proteina u energiju kao i za njihovo korištenje za izgradnju i obnavljanje tjelesnih tkiva. (4)

Sadržaj mineralnih tvari u plodovima kupine je u velikoj mjeri uvjetovan tipom zemljišta, klimatskim uvjetima, te sortom. (8) Različiti minerali imaju različite uloge kod biljaka, pa tako kalcij u plodu ima značajnu ulogu kod održavanja integriteta i propusnosti stanične stijenke. (9) Bakar je pak neophodan za sintezu klorofila i služi kao aktivator fotosintetskih enzima. Cink ima pozitivan utjecaj na sintezu i degradaciju ugljikohidrata i sudjeluje u biokemijskim reakcijama koje uključuju šećere. Minerali kao što su kalcij, kalij i fosfor, u kombinaciji sa organskim kiselinama utječu na puferski kapacitet i na osnovu toga doprinose opažanju kiselosti voća. (4)

1.1.1.1 Fenolni sastav kupine

Kupine su bogat izvor polifenola uključujući antocijane, flavonole, flavan-3-ole, flavonoidne kiseline, tanine te malu količinu lignana (slika 2). (3)



Slika 2. Polifenolni sastav kupine (Autor)

Otpriblike 90% antocijana koji se nalaze u kupini su monoglikozidi, dok su 10% diglikozidi. Antocijani su uglavnom derivati cijanidina s ostacima glukoze, rutinoze, ksiloze povezani na C3 ugljikov atom. U antocijane kupine ubrajamo cijanidin-3-

glukozid, cijanidin-3-arabinozid i mnoge druge. Cijanidin-3-dioksaloilglukozid je jedinstven jer ga ima samo u kupinama. Antocijani se sintetiziraju tijekom dozrijevanja kupine što rezultira razvojem tamnoljubičaste boje. (3)

Struktura flavonola podrazumijeva dvostruku vezu između C2 i C3, hidroksilnu skupinu na C3 atomu te ketonsku grupu na C4 atomu. Kvercetin, miricetin i kempferol su najčešće identificirani flavonoli u plodovima kupine. (3)

Kupine sadrže znatne količine flavonola pronađenih isključivo u mesnatom dijelu bobice i pronađeni su uglavnom u glikozidnom obliku. Sadržaj flavonola znatno ovisi o količini svjetla te uvjetima čuvanja. (4,10)

Kupine imaju složen profil flavonola zbog pojave devet derivata kvercetina, tri derivata kempferola, kao i dva acilirana spoja izvedena iz kvercetina. Dokazano je da razina flavonola u tropskim planinskim kupinama opada kako voće sazrijeva. (3)

Najznačajniji predstavnici flavan-3-ola su katehin i epikatehin. Ova grupa spojeva pretežno je zastupljena u sjemenu jagodičastog voća. Tako na primjer sjeme kupine sadrži i do četiri puta veću količinu epikatehina u usporedbi sa cijelim plodom. (11)

Fenolne kiseline koje nalazimo u kupinama su uglavnom hidroksibenzojeve i hidroksicimetne kiseline. Te se kiseline javljaju u konjugiranim oblicima estera i glikozida, a rijetko kao slobodne kiseline. Esteri čine 53,1% ukupnih fenolnih kiselina, dok glikozidi i slobodne kiseline čine 43,6%, odnosno 3,3%. Jedna od važnijih kiselina je elaginska kiselina koja spada u hidroksibenzojeve kiseline, ali se ona u kupinama pojavljuje u obliku elagitanina, koji spadaju u drugu skupinu fenola. (3)

Tanini su skupina polifenolnih spojeva koji se nalaze u brojnom bobičastom voću i sadrže oligomerne i polimerne jedinice. Poznato je da su tanini antinutritivni jer se vežu za NH₂ skupinu proteina, talože ih i sprječavaju njihovu hidrolizu u želudcu. Tanini se svrstavaju u dvije grupe temeljem njihove strukture pa razlikujemo kondenzirane tanine, odnosno proantocijanidine, i tanine koji se mogu hidrolizirati, odnosno elagitanine i galotanine. Proantocijanidini su oligomeri i polimeri flavonoida, dok su tanini koji se mogu hidrolizirati polimeri galne kiseline. Tanine koji hidroliziraju, posebno elagitanine nalazimo u kupinama u značajnim količinama. (3)

Elagitanini su složeni spojevi velike molekulske mase i široke raznolikosti, što predstavlja izazov u njihovoj karakterizaciji. Sjeme kupine sadrži najveće količine elagitanina i elagične kiseline u odnosu na druge dijelove biljke. (3)

Zadnja skupina fenola koju nalazimo u kupinama su lignani. To su spojevi koji su prepoznati kao fitoestrogeni te igraju važnu ulogu u prevenciji karcinoma, poput raka dojke. (3)

1.1.2. Biološki potencijal kupine

Posljednjih godina, zbog sve veće brige za zdravlje, ljudi posvećuju veliku pažnju ulozi antocijana u prevenciji tumora i terapiji raka zbog njihovog opsežnog djelovanja i niske citotoksičnosti. Smatra se da prisustvo antocijana kupine ima veliki utjecaj u suzbijanju rasta stanica raka na način da mijenja signalizaciju staničnih puteva aktiviranog proteina i nuklearnog faktora koji reguliraju proliferaciju stanica kao i stanični ciklus. (4,12)

Hrana bogata antocijanima može spriječiti pojavu antimutagenih učinaka uslijed djelovanja slobodnih radikala, inhibicijom točkastih mutacija na somatskim stanicama te se na taj način pruža zaštita od nastajanja malignih mutacija. (4)

Brojna istraživanja ukazuju da polifenolni spojevi imaju antitumorske i protuupalne učinke te sposobnost inhibicije metastaza kod stanica raka. Vjeruje se da se ovaj učinak može pripisati visokoj koncentraciji flavonoida. (4,13,14)

Osim što djeluju kao potencijalni hvatači slobodnih radikala, flavonoidi inhibiraju agregaciju trombocita te imaju antibakterijsko, antivirusno, protuupalno i antialergijsko djelovanje. (4,15,16) Kvercetin, polifenolni spoj sadržan u kupini, opisan je kao zaštitnik jetre od oksidativnog stresa inhibirajući proliferaciju stanica i inducirajući apoptazu. (4)

Osim toga utvrđen je i utjecaj ekstrakta kupine na efekt apoptoze prema staničnoj liniji adenokarcinoma debelog crijeva, gdje je nakon određenog vremena uočeno smanjenje broja stanica raka. (4)

Sve veći broj epidemioloških istraživanja pokazuje da prehrana bogata namirnicama sa visokom udjelom fitokemikalija i polifenolnih spojeva može imati veliku ulogu u smanjenju rizika od nastanka dijabetesa. (17) Dokazano je da prehrana bogata polifenolima snižava nivo glukoze u krvi, povećavajući rano izlučivanje inzulina i osjetljivost na inzulin. (4,18,19)

Antimikrobna aktivnost kupine ponajviše ovisi o sadržaju polifenolnih spojeva, osobito antocijana i elagitanina. (20,21) Krstić (2018) u svome radu navodi da kupine u usporedbi sa ostalim vrstama voća iz porodice *Rosaceae* (maline, trešnje, višnje) su najdjelotvorniji prema najvećem broju ispitivanih mikroorganizama. (22)

Rad koji su objavili Riaz i suradnici (2011) ukazuje da minimalna doza ekstrakta lišća ima inhibicijsko djelovanje prema *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* i *Proteus mirabilis*. Ekstrakt stabljike kupine pokazao je najjači učinak te je najviše inhibirao rast *P. mirabilis*, dok Jazić (2019) navodi kako su ekstrakti ploda imali najjači inhibitorni učinak prema (G^-) soju *E. coli*. (4,23)

Antioksidacijsko djelovanje različitih vrsta voća se svakim danom sve više istražuje. Pretpostavlja se da postoji povezanost između hrane bogate antioksidantima i smanjenja oksidacijskog oštećenja DNA. U *in vitro* eksperimentima dokazano je da ekstrakti kupine imaju različita bioaktivna svojstva uključujući zaštitu od krvožilnih bolesti te disfunkcije endotela. Većina radova ukazuje na bolji antioksidacijski potencijal divljih kupina u odnosu na kultivirane vrste. Dokazana je visoka povezanost između antioksidacijske aktivnosti i sadržaja polifenolnih spojeva u soku kupine. Ignat (2011) navodi da su flavonoidi vrlo važni antioksidanti zbog svog visokog redoks potencijala koji omogućava doniranje vodikovog atoma te hvatanje elektrona slobodnih radikala i vezanju iona metala. Tim djelovanjem se štiti organizam od raznih kardiovaskularnih i degenerativnih bolesti. (24)

1.1.3. Proizvodi i nusproizvodi kupine

Kupine se zbog visokog sadržaja bioaktivnih spojeva mogu smatrati funkcionalnom hranom. Međutim, manipulacija ovim voćem predstavlja niz izazova. Jedna od mana je ta što bobice nemaju zaštitnu koru i vrlo su sklone kvarenju, uglavnom zbog svoje izražene osjetljivosti na mehanička oštećenja te gubitak vode. (4)

Upravo iz navedenih razloga kupina se odmah nakon branja zamrzava ili prerađuje. U industriji se od kupina dobivaju poluproizvodi (pulpa, kaša, sirovi voćni sok) i gotovi proizvodi (žele, džem, marmelada, kompot, voćne salate), a proizvode se još i specijalna vina te brojni drugi proizvodi. Najveće količine kupina se u industriji koriste za prerađivanje u koncentrirane voćne sokove, marmeladu, džemove i vino. (25)

Tijekom proizvodnje navedenih proizvoda zaostaju i određeni nusproizvodi za koje se smatra da također mogu predstavljati bogat izvor biološki aktivnih spojeva. Primjena nusproizvoda prehrambene industrije posljednjih godina postala je iznimno zanimljiva brojnim znanstvenicima i na tu temu svakim danom raste broj istraživanja. (4)

1.1.3.1. Kupinovo vino

Kupinovo vino je proizvod fermentacije kvasaca prirodnih saharida prisutnih u soku kupine. Ovo popularno voćno vino služi se kao desertno vino, a uživa se uz obroke u umjerenim količinama. Svakodnevna konzumacija kupinovog vina u preporučenim količinama (oko 250 ml) je izvor mnogih fitokemikalija koje mogu imati važnu ulogu u promicanju zdravlja i prevenciji bolesti. (26)

Polifenolni spojevi predstavljaju jedan od najvažnijih parametara kvalitete vina, jer doprinose njegovim organoleptičkim svojstvima, posebno boji, okusu, te gorčini. Na koncentraciju ukupnih polifenola u vinu kupine mogu snažno utjecati ne samo sorte kupine i uzgoj, već i način njihove ekstrakcije iz bobica tijekom postupka proizvodnje vina, transporta i skladištenja. Nadalje, tijekom procesa odležavanja na količinu ukupnih polifenola prisutnih u vinu, posebno antocijana, može izravno utjecati nekoliko čimbenika uključujući pH, svjetlost, temperaturu, enzime, kisik, te sumporni dioksid. (26)

U Hrvatskoj se kupinovo vino naziva još i „željezno vino“ zbog visokog sadržaja željeza i vrijednih spojeva poput askorbinske, limunske i jabučne kiseline, karotenoida, fruktoze i alkohola koji pojačavaju apsorpciju željeza. (26)



Slika 3. Kupinovo vino (27)

1.1.3.2. Trop kupine

Tijekom prerade kupine u industrijskim pogonima zaostaju značajne količine tropa, u prosjeku 20-30%, posebno tokom proizvodnje matičnog soka i vina. (4,24,28)

Trop, koji zaostaje kao otpad, sastoji se uglavnom od sjemenki, pokožice i vlakana, i kao takav je potencijalni izvor biološki aktivnih spojeva. (4)

Prehrambena industrija, kao i neki manji prerađivači pokazuju sve više interesa za iskorištavanjem zaostalog biljnog materijala (tropa). Sukladno tome, ekstrakcijom tropa kupine bi se dobio proizvod čija bi upotreba bila dobra u obogaćivanju prehrambenih proizvoda (vino, sokovi, voćni jogurt). (4)

Da bi se trop mogao iskoristiti potrebno je posebnu pažnju obratiti na temperature sušenja tropa, karakteristike otapala i temperaturu pri kojoj se vrši ekstrakcija, kako bi se što više očuvala kvaliteta i sadržaj polifenolnih spojeva. (4) Za ekstrakciju se koriste uglavnom organska otapala koja moraju zadovoljiti određene uvjete vodeći računa i o njihovoj selektivnosti, sposobnosti razdvajanja, toksičnosti i toplinskoj stabilnosti.

Pregledom literature pronađen je podatak da je glavni fenolni spoj koji zaostaje u tropu kupine katehin. Istraživanje provedeno na nekoliko vrsta divljih i kultiviranih kupina u

Srbiji te je dokazan značajno veći sadržaj antocijana u tropu nego u plodu kupine. U istom radu je navedeno kako su ekstrakti tropa pokazali snažniju aktivnost prema slobodnim radikalima u usporedbi sa ekstraktima ploda i soka kupine. Ekstrakti tropa su pokazali sjajno inhibicijsko djelovanje prema Gram pozitivnom soju *Staphylococcus aureus* i prema gljivici *Aspergillus niger*. Zanimljivo je da kod uzoraka soka kupine nisu identificirane sve komponente kao u ekstraktima, što upućuje na to da većina polifenolnih spojeva tijekom izdvajanja soka se ipak ne izdvaja u sok i zaostaje u tropu. (4)

1.1.3.3. List kupine

List je nusproizvod koji zaostaje u uzgoju kupine. Znanstveni interes za sastav i svojstva lišća kupine sve više raste. Općenito, lišće kupine bogato je taninima, a sadrži i značajnu količinu flavonoida, fenolnih kiselina, mineralnih soli te vitamina C. Analiza hidroliziranog ekstrakta lišća kupine tekućinskom kromatografijom pokazala je da se sadržaj ukupnih flavonoida u listu kupine kreće od 0,14-0,31% suhe tvari, dok se ukupni sadržaj elaginske kiseline kreće od 2,93-4,32% suhe tvari. Gore navedene komponente ukazuju da list kupine ima dobra antioksidacijska i protuupalna djelovanja. U istraživanju Ozmianki i suradnici (2015) je opsežno analiziran fenolni sastav 26 različitih uzoraka divlje kupine te su detektirana 33 različita spoja, među kojima je dominirao elagitanin. List kupine sadrži veće količine hidroksibenzojevih kiselina te umjerenu količinu hidroksicimetnih kiselina. U pogledu djelovanja na ljudsko zdravlje listovi su pokazali izvrsnu djelotvornost u liječenju proljeva, menstrualnih bolova, čireva i u jačanju zubnog mesa. (29)

Pokazalo se da lišće kupine posjeduje bolje antimikrobno djelovanje u odnosu na plod i to protiv nekoliko različitih bakterija kao što su *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Micrococcus luteus*, *Bacillus subtilis* te *Pseudomonas aeruginosa*. Međutim, ekstrakti lišća su nisu pokazali antifungalni potencijal u testiranju na devet patogenih sojeva gljivica. (29)

Jedan od bitnih djelovanja ekstrakata lišća je i antidijabetički učinak. Čaj od lišća kupine značajno je smanjio dijabetičke simptome, prvenstveno hiperglikemiju. (29)

Zaboravljeni listovi bobičastog voća dobivaju sve širu primjenu te se mogu promatrati kao izvori vrijednih bioaktivnih spojeva čija svojstva utječu na zdravlje i prevenciju bolesti. (29)



Slika 4. a) List kupine; b) Čaj od lista kupine

2. EKSPERIMENTALNI DIO

2.1. Pregled znanstvene literature

Kroz opći dio ovog završnog rada već je naglašeno da je kupina bogata polifenolima, uključujući antocijane. Pretpostavlja se da polifenoli imaju biološke aktivnosti koje mogu pozitivno utjecati na ljudsko zdravlje. Pregledom znanstvene literature pronađena su brojna istraživanja i radovi kojima je cilj dokazati prisutnost pojedinih spojeva u kupini te njihovo djelovanje i primjenu u prehrambenoj industriji. Autori su ispitivali utjecaj različitih parametara na stabilnost polifenola u kupini, međutim većina autora bazirala se uglavnom samo na antocijane. Kao primjer možemo uzeti istraživanje koje su proveli Souzu i sur. (2015) koji su u svom radu naveli rezultate u kojima su došli do zaključaka da svjetlost, kisik, pH, sadržaj šećera te utjecaj metala imaju značajnu ulogu u destabilizaciji antocijana. U tom istom radu također se pokazalo da grijanje pulpe utječe na destabilizaciju antocijana 8-80%, dok tijekom sušenja i liofilizacije bobičastog voća dolazi do velikog gubitka antocijana i vitamina C, i to preko 90%. (32,33)

Jedan od vrlo bitnih parametara koji utječe na razinu polifenolnih spojeva u kupini je i temperatura. Znanstvenici još uvijek vode brojne diskusije kako utjecaj temperature, osobito niske, utječe na sadržaj polifenola. Jedno od zanimljivih istraživanja provedenih na nekoliko uzoraka andskih kupina ubranih u svijetloj i tamnocrvenoj fazi zrelosti dalo je zanimljive rezultate i zaključke. Sadržaj antocijana se povećao nakon 10 dana skladištenja na temperaturi od 8 °C. Također je utvrđeno da čuvanje voća u hladnjači smanjuje gubitke na težini i čvrstoći plodova, dok je rast mikroba odgođen u usporedbi sa skladištenjem na sobnoj temperaturi. Štoviše, voće koje se nalazilo u hladnjaku, pokazalo je bolje rezultate u provedenoj senzorskoj analizi. Međutim, Joo i sur. (2011) navode drugačija opažanja. U njihovom istraživanju dolazi do smanjenja ukupne količine antocijana nakon 18 dana skladištenja na temperaturi od 3 °C. (34)

Osim sadržaja različitih spojeva u pojedinim dijelovima voća, znanstvenicima je od iznimne koristi istražiti i djelovanja tih spojeva na ljudsko zdravlje i prevenciju bolesti. Zasižno najvažnija aktivnost je antioksidativna, odnosno zaštita od utjecaja slobodnih radikala. Istraživanje antioksidacijskog kapaciteta kupine provedeno je u Kentuckyju i za potrebe ovog istraživanja korišten je ekstrakt tropa kupine. U *in vitro* eksperimentima na staničnim kulturama dokazano je da ekstrakt kupine sprječava rast tumora HT-29

debelog crijeva inhibirajući rast tumorskih stanica i do 66% tijekom 72 sata. Također korištenjem ukupne koncentracije antocijana u rasponu od 0-40 g/ml izvršeno je oslobađanje interleukina iz dendritičnih stanica dobivenih iz koštane srži miša. Ovi rezultati upućuju na činjenicu da ekstrakt kupine ima snažno antioksidacijsko, antitumorsko i protuupalno djelovanje te da proizvodi sa dodatkom ekstrakta kupine mogu imati veliki potencijal za liječenje i prevenciju raka te drugih upalnih bolesti. Još jedno istraživanje na kupini i njenim ekstraktima utvrdilo je antioksidacijsku aktivnost koristeći ORAC testove (eng. *Oxygen radical absorbance capacity*) pomoću kojih je dokazan visok stupanj povezanosti između antioksidacijske aktivnosti i sadržaja polifenola, antocijana i ukupne kiselosti. (35)

Pregledom literature ističe se i utjecaju sastojaka kupine na dijabetes. Kaume i sur. (2012) su objavili rezultate istraživanja o zaštitnom učinku antocijana na krvožilni sustav dijabetičara. Kao posljedica dijabetesa ubrzava se generiranje reaktivnih vrsta kisika i slobodnih radikala. Upravo zbog toga, sposobnost polifenola iz kupine da inhibira slobodne radikale može biti od velike važnosti za minimaliziranje posljedica izazvanih dijabetesom. (3,4)

Osim navedenih djelovanja, intenzivno se proučava i antimikrobno djelovanje biljnih fenola. Istražuje se njihova aktivnost protiv različitih patogenih bakterija kako bi se okarakterizirali i razvili novi, zdravi sastojci hrane, medicinski spojevi te farmaceutski proizvodi. Mnoge Gram negativne bakterije prepoznate su kao teški zagađivači hrane, stoga je njihova kontrola u namirnicama i proizvodnji hrane od velike važnosti. Dokazano je da određeni terpenoidni i fenolni spojevi koji se nalaze u biljkama uzrokuju raspadanje vanjske membrane mikroorganizama, te je zabilježen njihov inhibicijski rast i antimikrobno djelovanje. Poseban naglasak je stavljen na procjenu učinka temperature smrzavanja na stabilnost ekstrakata bobica i njihovo antimikrobno djelovanje. Nakon provedenih eksperimenata dokazana je stabilnost antimikrobnog djelovanja fenolnih ekstrakata tijekom dugotrajnog smrzavanja bobica, što je preduvjet za industrijsku primjenu. Iako brojni autori zaključuju kako su za antimikrobno djelovanje zaslužni kemijski složeni spojevi i njihovi različiti mehanizmi djelovanja, potrebna su daljnja istraživanja u uvjetima koja oponašaju fiziološka stanja kako bi se provjerili mehanizmi navedenog djelovanja. (36)

Kao sekundarni biljni metaboliti, polifenolni spojevi su široko rasprostranjeni u voću i proizvodima na bazi voća, povećavajući tako njihov nutritivni potencijal i funkcionalna svojstva. Razvoj novih funkcionalnih proizvoda koji sadrže veću količinu bioaktivnih spojeva (polifenoli), osim što imaju hranjivu vrijednost, pokazuju i pozitivne zdravstvene učinke. Iznimno zanimanje za ovu vrstu proizvoda dovelo je do razvoja određenih kvalitativnih i kvantitativnih metoda analize bioaktivnih spojeva u produktima dobivenim iz kupine, poput voćnog vina. Kao što je ranije navedeno, kupinovo vino je prirodni izvor minerala i mnogih bioaktivnih fitokemikalija, poput polifenola koji imaju visok antioksidacijski potencijal i mogu igrati ključnu ulogu u prevenciji bolesti i zaštiti ljudskog zdravlja. Tijekom posljednjih nekoliko godina velik broj radova je posvećen utvrđivanju utjecaja umjerene konzumacije kupinovog vina na zdravlje. Istraživanja su uglavnom temeljena na otkrivanju zaštitnog učinka bioaktivnih spojeva kod razvoja različitih bolesti, poput kardiovaskularnih, neurodegenerativnih, te karcinoma i dr. Općenito je prihvaćeno da različiti oksidacijski procesi igraju značajnu ulogu tijekom prvih koraka razvoja navedenih bolesti. Kupinovo vino bogato je antioksidantima te je samim time i očekivana snažna antioksidacijska aktivnost. Međutim, na sadržaj i specifični fenolni profil kupinovog vina može utjecati nekoliko čimbenika. To su vrsta i sorta voća, uvjeti i tehnike uzgoja kupine, tehnološki postupak proizvodnje vina, sazrijevanje te uvjeti skladištenja. Istraživanje koje je rađeno na kupinovom vinu iz tri različite regije u Hrvatskoj pokazalo je vrlo širok spektar koncentracija bioaktivnih spojeva, poput ukupnih polifenola, tanina, antocijana. To bi mogao biti rezultat različitih kvaliteta polazne sirovine, ali i postupaka vinifikacije koje pojedini proizvođači primjenjuju. Na kraju znanstvenici pozivaju na standardizaciju tehnološkog postupka proizvodnje kupinovog vina kako bi se uravnotežio sastav i poboljšala kvaliteta i utjecaj konačnog proizvoda na zdravlje. (37)

3. REZULTATI I RASPRAVA

Pregledom dostupne literature može se uočiti kako su nusproizvodi u uzgoju i preradi kupine nedovoljno istraženi i neiskorišteni. Nekoliko studija ukazuje na mogućnost primjene ekstrakta plodova kupine kao prirodnih antioksidansa.

Lorenzo i suradnici (2017) su u svojem istraživanju potvrdili teoriju o mogućoj primjeni ekstrakata plodova kupine kao zamjene za sintetske aditive. Rezultati ove studije ukazuju na činjenicu da antioksidanti iz bobičastog voća inhibiraju oksidaciju lipida i proteina u mesu i mesnim prerađevinama, budući da je meso vrlo osjetljivo na oksidaciju. Istraživanjem su se ispitali različiti parametri. Pljeskavice od svinjskog mesa obogaćene ekstraktima kupine testirane su na oksidaciju mišićnih proteina i to tijekom 12 dana nakon kuhanja. Utvrđeno je da je dodatak ekstrakta kupine značajno inhibirao stvaranje karbonila tijekom kuhanja i hlađenja. Dobro je poznato da su oksidacija lipida i proteina glavni uzrok kvarenja mesa, odnosno, nakupljanje malondialdehida, produkta oksidacije lipida, predstavlja štetni spoj koji je povezan sa mutagenim i toksičnim učinkom. Paralelno s tim proučavana je oksidacija lipida u svinjskim pljeskavicama mjerenjem vrijednosti hlapivih tvari dobivenih iz lipida. U odnosu na kontrolnu skupinu hrane sadržaj heksanala (nositelj mirisa po užeglosti nastao oksidacijom) bio je niži u svinjskim pljeskavicama obogaćenima ekstraktima kupine. Što je veći udio hlapivih sastojaka u namirnici to je njena kvaliteta manja, a istraživanjem je utvrđeno da je tijekom hlađenja došlo do povećanja količine svih hlapivih sastojaka u oba ispitivana uzorka. Međutim, hlapive tvari dobivene iz lipida bile su prisutne u većoj koncentraciji u kontrolnim uzorcima u odnosu na pljeskavice s ekstraktom kupine. Stoga, dobiveni rezultati ukazuju na smanjenje oksidacije proteina i lipida dodatkom ekstrakta kupine sirovom i/ili prerađenom mesu. Međutim, daljnja bi istraživanja trebala razjasniti biokemijske mehanizme djelovanja ekstrakata kupine na oksidaciju te njihov učinak tijekom probave. Ipak na osnovu svega navedenog može se zaključiti kako je upotreba kupine i njenih ekstrakata opravdana u prehrambenoj industriji u svrhu zamjene za sintetske antioksidanse i konzervanse. (38)

Uz plod, lišće, trop i sjeme kupine također sadrži vrlo vrijednu količinu određenih polifenolnih spojeva. Istraživanja su potvrdila kako je od 11 vrsta elagitanina koji se nalaze u kupini, većina prisutna u sjemenkama, dok je samo nekolicina identificirana u samom plodu. Značajan gubitak elagitanina primijećen tijekom proizvodnje kupinovog vina i to u prosjeku od 70-82% u odnosu na koncentracije koje su prisutne u svježem plodu. Kao razlog tome navodi se filtracija koja se provodi i tijekom koje dolazi do odvajanja sjemenki koje su bogate ovim vrijednim spojevima. (39) Neki znanstvenici su posvetili svoje radove proučavajući utjecaj ekstrakata sjemenja. Jedni od autora proveli su hladnu ekstrakciju sjemenog brašna pomoću 50%-tnog acetona te je među trinaest identificiranih komponenti potvrđena visoka razina elaginske kiseline. Prisutnost elagitanina i elaginske kiseline u brašnu sjemenki kupine te njihov biološki potencijal ukazuju na potencijalnu upotrebu brašna kao funkcionalne hrane. (40)

Nusproizvodi, koji se trenutno koriste kao hrana za životinje ili se odbacuju, mogu biti korisni izvori prirodnih antioksidansa. U novije vrijeme ekstrakcija antioksidanata iz kome kupine dobiva sve više na važnosti te se vrše eksperimenti za procjenu njihove učinkovitosti. Istraživanje koje su proveli Santos i suradnici (2017) imalo je za cilj izvući antioksidante iz kome kupine pomoću dva otapala, mikrokapsulirati ih raspršivanjem te procijeniti njihovu stabilnost pri različitim pH. Dva čista ekstrakta (vodeni i hidroalkoholni) i dva mikrokapsulirana s maltodekstrinom (prehrambeni aditiv) osušeni su i analizirani na stabilnost pod različitim pH s obzirom na boju, antocijane, ukupne fenolne spojeve, antioksidacijsku aktivnost. Što se tiče boje, mikrokapsule su zaštitile uzorke. U odnosu na morfologiju, također je uočeno da nekapsulirani ekstrakti imaju amorfni i nepravilni oblik od mikrokapsuliranih, što znači da je materijal koji je kapsuliran zapravo zaštićen. Mikrokapsulacija s maltodekstrinom bila je učinkovita u smanjenju antocijana tijekom povišenog pH. Također, uočena je veća stabilnost inkapsuliranih uzoraka pri nižim pH, kao i duži poluživot antocijana i to 2 do 7 puta veći u odnosu na čiste ekstrakte. Ovakva vrsta proizvoda bi mogla imati obećavajuću primjenu u prehrambenoj industriji kao prirodni pigment u kreiranju funkcionalnih proizvoda, pružajući ne samo atraktivnu boju već i koristan utjecaj na zdravlje. Daljnje studije bi se trebale posvetiti procjeni kontroliranog otpuštanja i stabilnosti skladištenja dobivenih mikrokapsula. (41,42)

4. ZAKLJUČCI

Pregledom dostupne literature utvrđeno je da je kupina i ekstrakti nusproizvoda kupine, kao što su ekstrakti lišća i tropa, vrlo vrijedni izvor bioaktivnih spojeva koji pozitivno utječu na ljudsko zdravlje. Ekstrakti kupine mogli bi se koristiti kao potencijalni dodatci proizvodima u prehrambenoj i farmaceutskoj industriji, čime bi se osim pozitivnog utjecaja na zdravlje, produžio rok trajanja i poboljšao izgled namirnica. Iskorištenjem tropa kupine kao sirovine, značajno bi se smanjila količina biološkog otpada koji danas uzrokuje velike ekološke probleme i troškove. Također, može se zaključiti da su ekstrakti kupine i njenih nusproizvoda odlična zamjena za sintetske aditive, zbog dokazanog antioksidacijskog i antimikrobnog djelovanja.

5. LITERATURA

1. Zia-UI-Haq M, Riaz M, De Feo V, Jaafar H, Moga M. Rubus Fructiosus L.: Constituents, Biological Activities and Health Related Uses. *Molecules*. 2014; 19(8): 10998-11029.
doi: 10.3390/molecules190810998
2. <https://zdravlje.avaz.ba/zdravlje/516911/cudotvorna-kupina-prava-riznica-zdravlja> (Preuzeto 30.06.2021.)
3. Kaume L, Howard LR, Devareddy L. The Blackberry Fruit: A Review on Its Composition and Chemistry, Metabolism and Bioavailability, and Health Benefits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2011; 60(23): 5716-5727.
doi: 10.1021/jf203318p
4. Jazić M. Hemijski sastav i biološki potencijal ploda, soka i trupa kultivisane i divlje kupine (*Rubus fruticosus* L.), Doktorska disertacija, Tehnološki fakultet, Novi Sad; 2019.
5. Fang L, Wu W, Zhao H, Iv L, Li W. Characteristics of Seed Oils from Four Blackberries, Varieties (*Rubus* L.). *Applied Mechanics and Materials*. 2011; 140: 273-277.
doi: 10.4028/www.scientific.net/AMM.140.273
6. Lee J. Blackberry fruit quality components, composition and potential health benefits, Hall H, Funt R, urednici. *Blackberries and Their Hybrids*. Idaho, USA. 2017. 49-62.
7. Jašić M. Biološki aktivni sastojci hrane, Doktorska disertacija, Tehnološki fakultet, Tuzla; 2010.
8. Nour V, Trandafir I, Ionica ME. Ascorbic acid, anthocyanins, organic acids and mineral content of some black and red currant cultivars. *Fruits*. 2011; 66(5): 353-362.
doi: 10.1051/fruits/2011049
9. Guedes MNS, Abreu CMP, Maro LAC, Pio R, Abreu JR, Oliveira JO. Chemical characterization and mineral levels in the fruits of blackberry cultivars grown in a tropical climate at an elevation. *Acta Scientiarum Agronomy*. 2013; 35(2): 191-196.

10. Caridi D, Trenerry V, Rochfort S, Doung S, Laughher D, Jones R. Profiling and Quantifying quercetin glucosides in onion (*Allium cepa* L.) varieties using capillary zone electrophoresis and high performance liquid chromatography. *Food Chemistry*. 2007; 105(2): 691-699.
doi: 10.1016/j.foodchem.2006.12.063
11. Siriwoharn T, Wrolstad RE, Finn CE, Pereira CB. Influence of cultivar, maturity and sampling on blackberry (*Rubus* L. hybrids) anthocyanins, polyphenolics, and antioxidant properties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2004; 52(26): 8021-8030.
doi:10.1021/jf048619y
12. Četojević-Simin DD, Velićanski AS, Cvetković DD, Markov SL, Četković GS, Tumbas Šaponjac VT i sur. Bioactivity of Meeker and willamette raspberry (*Rubus idaeus* L.) pomace extracts. *Food Chemistry*. 2015; 166: 407-413.
doi: 10.1016/j.foodchem.2014.06.063
13. Dai J, Gupte A, Gates L, Mumper RJ. A comprehensive study of anthocyanin-containing extracts from selected blackberry cultivars: extraction methods, stability, anticancer properties and mechanisms. *Food and Chemical Toxicology*. 2009; 47(4): 837-847.
doi: 10.1016/j.fct.2009.01.016
14. Araújo JR, Gonçalves P, Martel F. Chemopreventive effect of dietary polyphenols in colorectal cancer cell lines. *Nutrition Research*. 2011; 31(2): 77-87.
doi: 10.1016/j.nutres.2011.01.006
15. Liu RH. Dietary bioactive compounds and their health implications. *Journal of Food Science*. 2013; 78(S1): A18-25
doi:10.1111/1750-3841.12101
16. Yang J., Liu RH. Synergistic effect of apple extracts and quercetin 3-beta-d-glucoside combination on antiproliferative activity in MCF-7 human breast cancer cells in vitro. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. 2009; 57: 8581-8586.
doi:10.1021/jf8039796
17. Bahadoran Z, Mirmiran P, Azizi F. Dietary polyphenols as potential nutraceuticals in management of diabetes: a review. *Journal of Diabetes and Metabolic Disorders*. 2013; 2(1): 43.
doi: 10.1186/2251-6581-12-43

18. Williamson G. Possible effects of dietary polyphenols on sugar absorption and digestion. *Molecular nutrition & food research*. 2013; 57: 48-57.
doi: 10.1002/mnfr.201200511
19. Xiao JB, Högger P. Dietary polyphenols and type 2 diabetes: current insights and future perspectives. *Current medicinal chemistry*. 2015; 22(1): 23-38.
doi: 10.2174/0929867321666140706130807
20. Gonzáles OA, Escamilla C, Danaher RJ, Dai J, Ebersole JL, Mumper RJ i sur. Antibacterial effects of blackberry extract target periodontopathogens. *Journal of Periodontal Research*. 2013; 48(1): 80-86.
doi: 10.1111/j.1600-0765.2012.01506.x
21. Lipińska L, Klewicka E, Sójka M. The structure, occurrence and biological activity of ellagitannins: a general review. *Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria*. 2014; 13(3), 289-99.
doi: 10.17306/j.afs.2014.3.7
22. Krstić T. Antimikrobno dejstvo ceđenih sokova i ekstrakata plodova odabranog voća porodice Rosaceae. Doktorska disertacija, Medicinski fakultet, Novi Sad; 2018.
23. Riaz M, Ahmad M, Rahman N. Antimicrobial screening of fruit, leaves, root and stem of *Rubus fruticosus* L. *Journal of Medical Plants Research*. 2011; 5(24): 5920-5924.
24. Ignat I, Volf I, Popa VI. A critical review of methods for characterization of polyphenolic compounds in fruits and vegetables. *Food Chemistry*. 2011; 126: 1821-35.
doi: 10.1016/j.foodchem.2010.12.026
25. Zhao Y. *Berry A Reviwe of: „Berry Fruit: Value-Added Products for Health Promotion“*. Boca Ration, FL: CRC Press: 448; 2007.
26. Amidžić Klarić D, Klarić I, Mornar A. Polyphenol content and antioxidant activity of commercial blackberry wines from Croatia: Application of multivariate analysis for geographic origin differentiation. *Journal of Food and Nutrition Research*. 2011; 4(50): 199-209.
27. <https://www.halooglasi.com/poljoprivreda/vino/domace-kupinovo-vino/5425634536716?kid=1&sid=1551312005768> (Preuzeto: 01.07.2021.)

28. Struck S, Plaza M, Turner C, Rohm H. Berry pomace-a review of processing and chemical analysis of its polyphenols. *International Journal of Food Science and Technology*. 2016; 51(6): 1305-1318.
29. Ferlemi AV, Lamari F. Berry Leaves: An Alternative Source of Bioactive Natural Products of Nutritional and Medicinal Value. *Antioxidants*. 2016; 5(2): 17.
doi: 10.3390/antiox5020017
30. https://www.kupindo.com/Prirodni-preparati/61382681_Kupina-list
(Preuzeto:1.7.2021.)
31. <https://www.suban.hr/trgovina/pojedinacno-bilje/kupina-list-suban/> (Preuzeto 1.7.2021.)
32. Souza VR, Pereira PAP, Teixeira TR, Silva TLT, Pio R, Queiroz F. Influence of processing on the antioxidant capacity and bioactive compounds in jellies from different blackberry cultivars. *International Journal of Food Science and Technology*. 2015; 50(7): 1658-1665.
33. Sadowska K, Andrzejewska J, Klóska Ł. Influence of freezing, lyophilisation and air-drying on the total monomeric anthocyanins, vitamin C and antioxidant capacity of selected berries. *International Journal of Food Science & Technology*. 2017; 52(5): 1246-1251.
doi: <https://doi.org/10.1111/ijfs.13391>
34. Horvitz S. Postharvest Handling of berries. *Postharvest Handling*. 2017; 107-123.
doi: 10.5772/intechopen.69073
35. Reyes-Carmona J, Yousef GG, Martinez-Peniche RA, Lila MA. Antioxidant capacity of fruit extracts of blackberry (*Rubus* sp.) produced in the different climatic regions. *Journal of Food Science*. 2005; 70: 497-503.
doi: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2005.tb11498.x>
36. Nohynek LJ, Alakomi HL, Kähkönen MP, Heionen M, Helander IM, Oksman-Caldentey KM i sur. Berry Phenolics: Antimicrobial Properties and Mechanisms of Action Against Severe Human Pathogens. *Nutrition and Cancer*. 2006; 54(1): 18-32.
doi:10.1207/s15327914nc5401_4
37. Amidžić Klarić D, Klarić I, Mornar A, Velić N, Velić D. Assessment of Bioactive Phenolic Compounds and Antioxidant Activity of Blackberry Wines. *Foods*. 2020.; 9(11): 1623.
doi:10.3390/foods9111623

38. Lorenzo JM, Pateiro M, Dominguez R, Barba FJ, Putnik P, Kovačević DB i sur. Berries extracts as natural antioxidants in meat products: A review. *Food Research International*. 2018; 106: 1095-1104.
doi:10.1016/j.foodres.2017.12.005
39. Hager TJ, Howard LR, Liyanage R, Lay JO, Prior RL. Ellagitannin Composition of Blackberry As Determined by HPLC-ESI-MS and MALDI-TOF-MS. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2008; 56(3): 661-669.
doi:10.1021/jf071990b
40. Choe U, Li Y, Yu L, Gao B, Wang TTY, Sun J i sur. Chemical composition of cold pressed blackberry seed flour extract and its potential health-beneficial properties. *Food Science & Nutrition*. 2019; 1-11.
doi: 10.1002/fsn3.1410
41. Santos SS, Rodrigues LM, Costa SC, Madrona GS. Antioxidant compounds from blackberry (*Rubus fruticosus*) pomace: Microencapsulation by spray-dryer and pH stability evaluation. *Food Packaging and Shelf Life*.
doi:10.1016/j.fpsl.2017.12.001
42. Yamashita C, Song Chung MM, Dos Santos C, Mayer CRM, Moraes ICF, Branco IG. Microencapsulation o fan anthocyanin-rich blackberry (*Rubus spp.*) by-product extract by freeze-drying. *Food Science and Technology*. 2017; 84: 256-262.