

# Utjecaj disaharida na fenole i hlapljive komponente u punilima na bazi kupina

---

Dundović, Ana Marija

Master's thesis / Diplomski rad

2020

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, FACULTY OF FOOD TECHNOLOGY / Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:109:778618>

Rights / Prava: [Attribution-NonCommercial-NoDerivatives 4.0 International/Imenovanje-Nekomercijalno-Bez prerada 4.0 međunarodna](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2025-03-05**

REPOZITORIJ

PTF OS

PREHRAMBENO-TEHNOLOŠKI FAKULTET OSIJEK

dabar  
DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJ

Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of Food Technology Osijek](#)



**SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU  
PREHRAMBENO-TEHNOLOŠKI FAKULTET OSIJEK**

**Ana Marija Dundović**

**UTJECAJ DISAHARIDA NA FENOLE I HLAPLJIVE KOMPONENTE U  
PUNILIMA NA BAZI KUPINA**

DIPLOMSKI RAD

Osijek, listopad, 2020.

**SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU  
PREHRAMBENO-TEHNOLOŠKI FAKULTET OSIJEK**

**Ana Marija Dundović**

**UTJECAJ DISAHARIDA NA FENOLE I HLAPLJIVE KOMPONENTE U  
PUNILIMA NA BAZI KUPINA**

DIPLOMSKI RAD

Osijek, listopad, 2020.

## TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

DIPLOMSKI RAD

Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku  
Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek  
Zavod za prehrambene tehnologije  
Katedra za prehrambeno inženjerstvo  
Franje Kuhača 20, 31000 Osijek, Hrvatska

### Diplomski sveučilišni studij Prehrambeno inženjerstvo

**Znanstveno područje:** Biotehničke znanosti

**Znanstveno polje:** Prehrambena tehnologija

**Nastavni predmet:** Razvoj proizvoda u prehrambenoj industriji

**Tema rada** je prihvaćena na IX redovitoj sjednici Fakultetskog vijeća Prehrambeno-tehnološkog fakulteta Osijek u akademskoj godini (npr. 2010./2011.) održanoj 20. srpnja 2020..

**Mentor:** prof. dr. sc. *Mirela Kopjar*

### Utjecaj disaharida na fenole i hlapljive komponente u punilima na bazi kupina

*Ana Marija Dundović, 0149219179*

#### Sažetak:

Punila na bazi kupina su pripremljena od citrus vlakna, soka kupine i disaharida. Disaharidi koji su korišteni su saharoza, maltoza i trehaloza u udjelu od 50%. Punilima je određen udio fenola, proantocijanidina, antioksidacijska aktivnost, udio hlapljivih komponenata i parametri boje, nakon pripreme i nakon skladištenja. Dobiveni rezultati ukazuju da tip šećera utječe na ispitivane parametre. Najveći udio fenola imalo je punilo s trehalozom a najmanji punilo sa saharozom te je ovaj trend zadržan i nakon skladištenja. Punilo s maltozom imalo je najveći udio proantocijanidina, a punilo sa saharozom najmanji. Od hlapljivih komponenata, terpeni i aldehidi i ketoni su određeni u najvećoj koncentraciji, s time da terpena ima najviše u punilu s trehalozom a aldehida i ketona u punilu sa saharozom. Nakon skladištenja udio hlapljivih komponenata se je smanjio, a najveću koncentraciju terpena imala su punila s trehalozom i maltozom, a aldehida i ketona punila sa saharozom.

**Ključne riječi:** *kupina, citrus vlakna, disaharidi, polifenoli, hlapljive komponente,*

**Rad sadrži:** 51 stranica  
16 slika  
12 tablica  
0 priloga  
47 literaturnih referenci

**Jezik izvornika:** hrvatski

#### Sastav Povjerenstva za ocjenu i obranu diplomskog rada i diplomskog ispita:

- |  |               |
|--|---------------|
| 1. izv. prof. dr. sc. <i>Anita Pichler</i> | predsjednik   |
| 2. prof. dr. sc. <i>Mirela Kopjar</i>      | član - mentor |
| 3. prof. dr. sc. <i>Nela Nedić Tiban</i>   | član          |
| 4. doc. dr. sc. <i>Ante Lončarić</i>       | zamjena člana |

**Datum obrane:** 28. listopada 2020.

Rad je u tiskanom i elektroničkom (pdf format) obliku pohranjen u Knjižnici Prehrambeno-tehnološkog fakulteta Osijek, Franje Kuhača 20, Osijek.

#### BASIC DOCUMENTATION CARD

GRADUATE THESIS

**University Josip Juraj Strossmayer in Osijek**  
**Faculty of Food Technology Osijek**  
**Department of Food Technology Osijek**  
**Subdepartment of Food Engineering**  
Franje Kuhača 20, HR-31000 Osijek, Croatia

#### Graduate program Food Engineering

**Scientific area:** Biotechnical sciences

**Scientific field:** Food technology

**Course title:** Product development in food industry

**Thesis subject** was approved by the Faculty of Food Technology Osijek Council at its session no. IX held on July 20, 2020.

**Mentor:** *Mirela Kopjar*, PhD, prof.

#### Influence of disaccharide type on phenolics and volatiles of blackberry cream fillings

*Ana Marija Dundović*, 0149219179

#### Summary:

Blackberry cream fillings were prepared from citrus fiber, blackberry juice and disaccharides. The disaccharides that were used were sucrose, maltose and trehalose in amount of 50%. The content of phenols, proanthocyanidins, antioxidant activity, the content of volatile components and color parameters were determined in the prepared fillings. Obtained results revealed that disaccharides type had an effect on investigated parameters. The highest phenol content had fillings with trehalose and the lowest fillings with sucrose. The same tendency was observed after storage. Fillings with maltose had the highest proanthocyanidin content while fillings with sucrose had the lowest amount of this compounds. Regarding volatile compounds, terpenes and aldehydes and ketones were evaluated in the highest concentration. Terpenes were determined in the highest concentration in fillings with trehalose, while aldehydes and ketones in fillings with sucrose. After storage, concentration of volatiles decreased. The highest concentration of terpenes were determined in fillings with trehalose and maltose, while aldehydes and ketones in fillings with sucrose.

**Key words:** *Blackberries, citrus fiber, disaccharides phenols, volatile compounds*

**Thesis contains:** 51 pages  
16 figures  
12 tables  
0 supplements  
47 references

**Original in:** Croatian

#### Defense committee:

- |  |              |
|--|--------------|
| 1. <i>Anita Pichler</i> , PhD, associate prof. | chair person |
| 2. <i>Mirela Kopjar</i> , PhD, prof.           | supervisor   |
| 3. <i>Nela Nedić Tiban</i> , PhD, prof.        | member       |
| 4. <i>Ante Lončarić</i> , PhD, assistant prof. | stand-in     |

**Defense date:** October 28, 2020

**Printed and electronic (pdf format) version of thesis is deposited in** Library of the Faculty of Food Technology Osijek, Franje Kuhača 20, Osijek.

Zahvaljujem svojoj mentorici profesorici Kopjar na uloženom trudu i ulaganju u moje znanje.

Također hvala svim mojim prijateljicama koje su bile uz mene i učinile da studiranje bude jedno predivno i zabavno razdoblje u mom životu. Veliko hvala mojim sestrama Ivani, Valentini, Kristini i zaručniku Danku koji su bili uz mene.

Posebno i najveće hvala mojim roditeljima koji su bili moj najveći oslonac u teškim i sretnim trenucima bez kojih ovo ništa ne bi bilo moguće.

Veliko HVALA svima!

## Sadržaj

<b>1. Uvod</b> .....	<b>1</b>
<b>2. Teorijski dio</b> .....	<b>3</b>
<b>2.1. KUPINA</b> .....	<b>4</b>
<b>2.2. POLIFENOLI</b> .....	<b>7</b>
2.2.1. Flavonoidi .....	7
2.2.2. Polifenoli u hrani.....	9
2.2.3. Fenoli kupine .....	11
2.2.4. Antioksidacijska aktivnost .....	12
<b>2.3. VLAKNA</b> .....	<b>14</b>
2.3.1. Netopljiva biljna vlakna .....	14
2.3.2. Topljiva biljna vlakna .....	15
2.3.3. Upotreba vlakna u prehrambenoj industriji .....	16
2.3.4. Optimalan unos prehrambenih vlakana, koristi i nedostaci.....	17
<b>2.4. ŠEĆERI</b> .....	<b>19</b>
2.4.1. Saharozna .....	19
2.4.2. Maltoza .....	21
2.4.3. Trehaloza .....	22
<b>3. Eksperimentalni dio</b> .....	<b>23</b>
<b>3.1. Zadatak</b> .....	<b>24</b>
<b>3.2. Materijali</b> .....	<b>25</b>
3.2.1. Priprema punila na bazi kupina .....	25
<b>3.3. Metode</b> .....	<b>25</b>
3.3.1. Ekstrakcija uzoraka .....	25
3.3.2. Određivanje ukupnih fenola .....	25
3.3.3. Određivanje proantocijanidina .....	26
3.3.4. Određivanje antioksidacijske aktivnosti .....	26
3.3.5. Određivanje parametara boje .....	27
3.3.6. Određivanje hlapljivih komponenata .....	29
3.3.7. Statistička analiza podataka .....	30
<b>4. Rezultati i rasprava</b> .....	<b>31</b>
<b>4.1. FENOLI I PROANTOCIJANIDINI U PUNILIMA NA BAZI KUPINA</b> .....	<b>32</b>
<b>4.2. ANTIOKSIDACIJSKA AKTIVNOST PUNILA NA BAZI KUPINA</b> .....	<b>33</b>
<b>4.3. PARAMETRI BOJE PUNILA NA BAZI KUPINA</b> .....	<b>35</b>
<b>4.4. HLAPLJIVE KOMPONENTE U PUNILIMA NA BAZI KUPINA</b> .....	<b>37</b>
<b>5. Zaključci</b> .....	<b>43</b>
<b>6. Literatura</b> .....	<b>47</b>

## Popis oznaka, kratica i simbola

ND	Nije detektirano
QD	Kvalitativni podaci
CPK_S	Punila na bazi kupina s dodatkom saharoze
CPK_M	Punila na bazi kupina s dodatkom maltoze
CPK_T	Punila na bazi kupina s dodatkom trehaloze



## **1. UVOD**

U posljednje vrijeme sve se više promovira upotreba prirodnih sastojaka kako bi se očuvala bioaktivnost spojeva i hranjivi sastojci (Komes, 2013). Biološki aktivni spojevi su spojevi koji u malim količinama pozitivno utječu na zdravlje (Jašić, 2010). Dokazano je da prehrana koja obiluje voćem i povrćem smanjuje rizik od karcinoma i bolesti vezanih za srce (Aaby i sur., 2007). Po kemijskom sastavu voće sadrži velik broj vitamina i minerala, osim vitamina i minerala voće sadrži i spojeve koji blagotvorno djeluju na ljudski organizam iako nisu esencijalni za ljudsko zdravlje. Polifenoli su jedna od skupina koja pripada u te spojeve (Jakobek i sur., 2008). Kako bi razumjeli povezanost između korisnih učinaka bioaktivnih spojeva na zdravlje i različitih sastojaka hrane potrebno je identificirati o kojim bioaktivnim spojevima se radi, dok njihova dodana količina u prehrambene proizvode omogućuje stručnjacima razlikovanje obogaćenih proizvoda od onih koji nisu obogaćeni (Luthria, 2006).

Na temelju kemijskog sastava kupine vidljivo je da je ona bogat izvor minerala, vitamina, a isto tako i polifenolnih spojeva (Velić i sur., 2019). Polifenolni spojevi koje se nalaze u najvećoj količini u kupini su antocijani, proantocijanidi, flavonoli i flavan-3-oli (Jakobek i sur., 2008). Ujedno su poznati i po svom antioksidacijskom djelovanju. Antioksidansi u ljudskom organizmu suzbijaju negativan utjecaj slobodnih radikala koji dovode do ozbiljnih zdravstvenih problema (Repaić, 2019).

Citrus vlakna su biljna vlakna koja doprinose također sprječavanju nastanka dijabetesa, karcinoma, gojaznosti, prevencija su u digestivnim poremećajima i smanjuju kolesterol. Ona organizmu ne daju energiju ali su odličan izvor vitamina i minerala (Jašić, 2010).

Cilj ovog rada je bio pripremiti punila na bazi kupina. Za proizvodnju punila koristili smo citrus vlakna, sok kupine i disaharide. Tri su korištena disaharida: saharoza, maltoza i trehaloza. Osim toga u ovom radu je ispitivan i utjecaj pojedinog disaharida na fenole i hlapljive komponente. Punilima na bazi kupine su određeni polifenoli, proantocijanidini, antioksidacijska aktivnost (DPPH, ABTS, FRAP i CUPRAC metode), parametri boje i udio hlapljivih komponenti. Punila su skladištena na sobnoj temperaturi te su nakon skladištenja ponovno određeni definirani parametri.

## **2. TEORIJSKI DIO**

## 2.1. KUPINA

Kupina je biljka iz porodice *Rosaceae* i spada u red *Rubus L.* Pogodna je za uzgoj u toplim i hladnim predjelima, a postoje i vrste pogodne za tropska područja. Divlja kupina je uobičajena pojava na rubovima šuma ili na zapuštenim površinama, također se koristi za ukrašavanje plaža i za zaštitu zemlje kao pokrovno bilje (Volčević, 2005).



**Slika 1** Kupina (Web izvor 1)

Kupina je svrstana u grupu jagodastog voća. Višegodišnja je biljka koja može živjeti preko 20 godina. Sadrži podzemne i nadzemne dijelove koji se nalaze u obliku žbunja (frutex) ili manjeg žbunja (subfrutex). Ona posjeduje (Mratinić, 2015):

- vegetativne organe: korijen, stablo i list i
- generativne organe: cvijet, plod i sjeme.

Stabljika može biti uspravna ili pognuta, vanjska površina stabljike je bodljikava ili dlakava, a prema položaju ona se penje ili puže. Na njoj se nalaze perasto izgrađeni listovi s polistićima koji su troslojni. Bijeli ili ružičasti cvjetovi su dvospolni kategorizirani u grozdove ili metličaste cvasti. Na zajedničkom cvjetištu cvijeta nalazi se (Volčević, 2005):

- 5 (moguće 3 ili 7) listića čašice,
- 5 ovalnih listića cvjeta te
- veše prašnika.

Vrste kupina (Volčević, 2005):

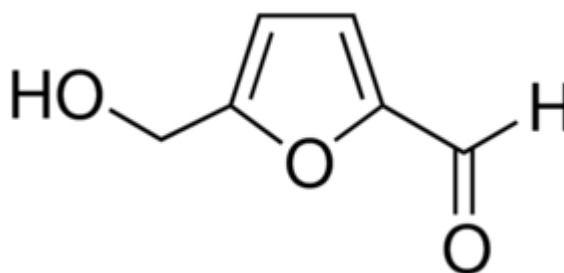
- prirodne kupine: europska crna kupina, kupina kamenjača, primorska zimzelena kupina, korijenolisna kupina, siva kupina, divlja kupina, pustena kupina, *R. argutus*, *R. floridus* Tratt., četinarska kupina i plava kupina,
- pitome (kultivirane) kupine.

U industriji se koriste za preradu u sokove, kompote, sirupe, žele i dr. Pogodne su vrste: Himalaja, Bojsen, Bejli, Tornifri, Smutsen i dr. (Mratinić, 2015).

Plod je crne boje, okusom je slatko-kiselkast. Njegova hranjiva, zaštitna i ljekovita vrijednost ovisi o sorti, količini ploda, stupnju zrelosti i primjeni poljoprivrednih tehnika.

U prosjeku plod sadrži 15 - 21% suhe tvari, od čega je 7,54 - 9,85% ukupnih šećera, a od toga 6,13 - 9,15% reducirajućih šećera i 0,57 - 1,41% saharoze. Bjelančevina ima oko 12%, a masti oko 1,0%. Također sadrži 0,87 - 1,30% ukupnih kiselina i 0,30 - 0,585% mineralnih tvari koje reguliraju pH krvi, pozitivno utječu na krvnu sliku i smanjuju krvni tlak. Pektini kojih ima 0,39 - 0,66% štite od ateroskleroze i infarkta. Sadržaj celuloze koja poboljšava probavu ima oko 4,0%. Osim toga sadrži pigmente, vitamin C, provitamin A i manje količine vitamina B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, B<sub>6</sub> i dr. Vitamini imaju funkciju osnaživanja otpornosti organizma (Mratinić, 2015).

Kupina sadrži i značajnu količinu fenola, o koji će biti detaljnije obrađeni u slijedećem poglavlju. Kupina je prepoznatljiva i po svojoj aromi. Aroma je bitan pokazatelj kvalitete bilo da se radi o svježoj ili prerađenoj kupini. Blag okus voća, koje daju hlapljivi spojevi, je povezan s ravnotežom šećera i vrlo je osjetljiv na promjene sastava. Formira se tijekom sazrijevanja kupine, te berbe i skladištenja (Turemis i sur., 2003). Najzastupljeniji aromatski spojevi su furani (Georgilopoulos i sur., 1988) čija ukupna aroma ovisi o sorti kupine. 5-hidroksimetilfurfural je najvažnija komponenta furana, a ujedno i najzastupljenija s udjelom 79,7 - 97,1% ukupne arome. **Slika 2** prikazuje 5-hidroksimetilfurfural. Zatim slijedi 2,3-dihidro-3,5-dihidroksi-6-metil-4H-piran s 5,7 - 9,8%. Okus komercijalne esencijalne kupine čine 23 spoja, a samo 3,4-dimetoksialilbenzen daje karakterističan okus kupine (Turemis i sur., 2003).



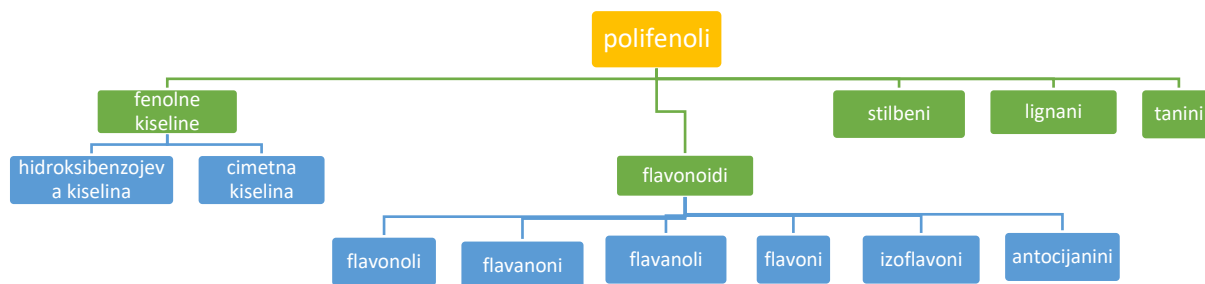
**Slika 2** Molekula 5-hidroksimetilfurfural (Web izvor 2)

Prilikom industrijske obrade toplinom na aromu utječu nastali heterolitički spojevi u prvom redu furanski derivati dajući specifičnu aroma soka koji je zagrijan. Mirisni profil od 21% čine aldehidi i alkoholi. Zagrijavanjem soka kupine dolazi do opadanja koncentracije 2-heptanola i porasta 3-metil-1-butanola i 2-metil-1-propanola (Georgilopoulos i sur., 1988). Određeno je 70 hlapljivih spojeva u dvije vrste kupina „Black Diamond“ koja nema trnja i „Marion“, pri čemu su koncentracije nekih komponenti jako varirale. Razlika između „Marion“ i „Black Diomond“ je ta što „Marion“ sadrži više arome bobičastog voća, a „Black Diomond“ više cvjetne arome. Obje sorte kupina imaju visok sadržaj furaneola, terpenoida, malu količinu aldehida, ketona, estera i mliječnih kiselina, dok su alkoholi komponente koje su najhlapljivije (Du i sur., 2009).

## 2.2. POLIFENOLI

Polifenoli su mikronutrijenti i sastavni su dijelovi aktivnih tvari koje se nalaze u biljkama. Biološki aktivni spojevi nalaze se u različitim organima biljaka: listu, cvijetu, sjemenu, korijenu, plodu (Kurtagić, 2017). Postoji nekoliko tisuća polifenola, a tek nekoliko stotina se nalazi u jestivim biljkama i predstavljaju sekundarne metabolite. Biljke ih prvenstveno koriste u zaštiti od patogena ili ultraljubičastog zračenja, ali imaju i važnu ulogu u rastu, razmnožavanju i pigmentaciji (Manach i sur., 2004). U namirnicama doprinose boji, mirisu, okusu, oštrini, gorčini i oksidativnoj stabilnosti namirnice. Polifenoli uz vitamine i minerale imaju bitnu ulogu u antikancerogenom, protuupalnom i protualergijskom djelovanju. Kao snažni antioksidansi koji imaju veću antioksidacijsku aktivnost i od vitamina C i E pokazali su se pojedini spojevi iz skupine flavonoida (Berend i sur., 2008).

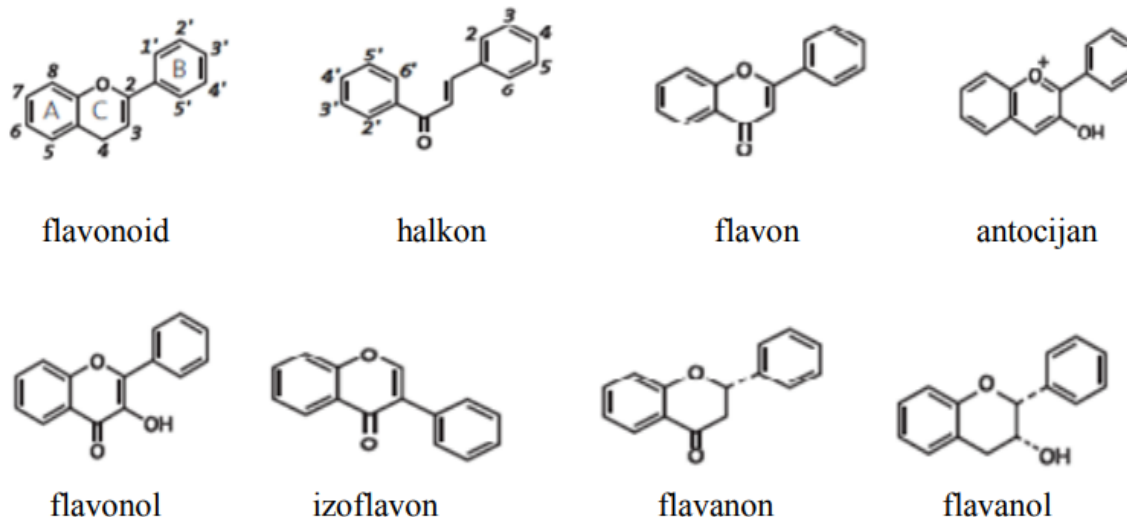
Polifenoli se sastoje od fenolnih prstenova i nekoliko hidroksilnih skupina. Ovisno o broju fenolnih prstenova i strukturi elementa koji se vežu na polifenolni prsten moguće je napraviti podjelu polifenole. **Slika 3** prikazuje podjelu polifenola (Manach i sur., 2004).



**Slika 3** Podjela polifenola (Hardman, 2014)

### 2.2.1. Flavonoidi

Grupa spojeva koja u svojoj strukturi ima C6 – C3 – C6 vezu, tj. fenilbenzopiransku strukturu naziva se „flavonoid“ što prevedeno s latinskog znači žuto (Kurtagić, 2017).



**Slika 4** Flavonoid i kemijske strukture različitih subklasa flavonoida (Kurtagić, 2017)

Flavonoidi se dijele na (Manach i sur., 2004):

- flavonole - nastaju biosintezom koja je stimulirana svjetlošću, a koncentriraju se u koži i lišću te njihova koncentracija stoga ovisi o izloženosti sunčevoj svjetlosti,
- flavone - sastoje se od glikozida luteolina i apigenin,
- izoflavone - tijekom industrijske prerade zbog osjetljivosti na toplinu hidroliziraju do glikozida,
- flavanone - na položaju 7 su glikozilirani disaharidom što rezultira gorkim okusom, najčešće su koncentrirani u bijeli spužvasti dijelovima i membrane agruma,
- flavanole - koji se nalaze u obliku monomera su katehini, a oni u obliku polimera su proantocijanidini koji se nazivaju i kondenzirani tanini,
- antocijanidine - nalaze se otopljeni u soku vakuole, oni daju ljubičastu, plavu, crvenu i ružičastu boju, a u biljkama su otporni na oksidacijske uvijete, svjetlost i pH.

Tanini su polifenolni spojevi koje karakterizira velika molekularna težina i velika sposobnost vezanja s polimerima kao što su proteini i ugljikohidrati. Nalaze su u dva oblika: hidroliziranom i kondenziranom. Hidrolizirani tanini se sastoje od slobodne ili esterificirane galne kiseline (Escarpa i sur., 2010). U hidrolizirane tanine ubrajamo galotanine i elagitanine. Osnovna razlika između galotanina i elagitanina je u građi. Osnovna jedinica galotanina je galna kiselina, a



elagitanina uz galnu kiselinu u strukturi se nalazi i heksahidroksidifenol (Rauf i sur., 2019). Kondenzirani tanini ili proantocijanidini su polimeri koji se sastoje od jedinica flavon-3-ola. Monomerne jedinice flavan-3-ola su katehin i epikatehin koji su također osnova proantocijanida podijeljenih u B1, B2, B3, B4 proantocijanide (Escarpa i sur., 2010). Oni daju kiselost, slatkoću, gorčinu, trpkost i boju namirnice (Rauf i sur., 2019).

### 2.2.2. Polifenoli u hrani

Iz **Tablice 1** vidljivo je da su flavonoli najzastupljeniji u luku, kelju, poriluku, brokuli i borovnici. Predstavnici jestivih namirnica koje sadrže flavone su peršin i celer, dok se flavanoni nalaze u velikim koncentracijama u soku od grejpa, naranče i limuna. Monomerne flavanole sadrže čokolada, mnoge vrste voća, zeleni čaj i crno vino. Specifična hrana u kojoj se nalaze izoflavoni je soja, a floridizin jabuka. Antocijanidi u ljudskoj prehrani najzastupljeniji su u voću, crvenom vinu, određenim sortama žitarica, te određenom lisnatom i korjenastom povrću (Manach i sur., 2004).

**Tablica 1** Polifenoli u hrani (Manach i sur., 2004)

Fenoli	veličina posluživanja	sadržaj polifenola	
		mg/kg (ili mg/L)	mg/posluživanje
Hidroksibenzojeve kiseline	Kupina (100 g)	80 - 270	8 - 27
Protokatehnička kiselina	Malina (100 g)	60 - 100	6 - 10
Galna kiselina	Crna ribizla (100 g)	40 - 130	4 - 13
p-hidroksibenzojeva kiselina	Jagode (200 g)	20 - 90	4 - 18
Hidroksicinaminska kiselina	Borovnica (100 g)	2000 - 2200	200 - 220
Kafeinska kiselina	Kivi (100 g)	600 - 1000	60 - 100
Klorogena kiselina	Trešnja (200 g)	180 - 1150	36 - 230
Kumarinska kiselina	Šljiva (200 g)	140 - 1150	28 - 230
Ferulinska kiselina	Patlidžan (200 g)	600 - 660	120 - 132
Sinapinska kiselina	Jabuka (200 g)	50 - 600	10 - 120
	Kruška (200 g)	15 - 600	3 - 120
	Radič (200 g)	200 - 500	40 - 100
	Artičoka (100 g)	450	45
	Krumpir (200 g)	100 - 190	20 - 38
	Kukuruzno brašno (75 g)	310	23
	Brašno: pšenica, riža, zob (75 g)	70 - 90	5 - 7
	Jabukovača (200 mL)	10 - 500	2 - 100
Kava (200 mL)	350 - 1750	70 - 350	
Antocijani	Patlidžan (200 g)	7500	1500

Cijanidin	Kupina (100 g)	1000 - 4000	100 - 400
Pelargonidin	Crna ribizla (100 g)	1300 - 4000	130 - 400
Peonidin	Borovnica (100 g)	250 - 5000	25 - 500
Delfinidin	Crno grožđe (200 g)	300 - 7500	60 - 1500
Malvidin	Trešnja (200 g)	350 - 4500	70 - 900
	Rabarbara (100 g)	2000	200
	Jagode (200 g)	150 - 750	30 - 150
	Crveno vino (100 mL)	200 - 350	20 - 35
	Šljiva (200 g)	20 - 250	4 - 50
	Crveni kupus (200 g)	250	50
Flavonoli	Žuti luk (100 g)	350 - 1200	35 - 120
Kvercetin	Kelj (200 g)	300 - 600	60 - 120
Kaempferol	Poriluk (200 g)	30 - 225	6 - 45
Miricetina	Cherry rajčica (200 g)	15 - 200	3 - 40
	Brokula (200 g)	40 - 100	8 - 20
	Borovnica (100 g)	30 - 160	3 - 16
	Crna ribizla (100 g)	30 - 70	3,7
	Marelice (200 g)	25 - 50	5 - 10
	Jabuka (200 g)	20 - 40	4 - 8
	Grah, zeleni ili bijeli (200 g)	10 - 50	2 - 10
	Crno grožđe (200 g)	15 - 40	3 - 8
	Rajčica (200 g)	2 - 15	0,4 - 3,0
	Infuzija crnog čaja (200 mL)	30 - 45	6 - 9
	Infuzija zelenog čaja (200 mL)	20 - 35	4 - 7
	Crveno vino (100 mL)	2 - 30	0,2 - 3
Flavone	Peršin (5 g)	240 - 1850	1,2 - 9,2
Apigenin	Celer (200 g)	20 - 140	4 - 28
Luteolin	Paprika od kapsica (100 g)	5 - 10	0,5 - 1
Flavanoni	Narančin sok (200 mL)	215 - 685	40 - 140
Hesperetin	Sok od grejpa (200 mL)	100 - 650	20 - 130
Naringeninom	Limunov sok (200 mL)	50 - 300	10 - 60
Izoflavoni	Sojino brašno (75 g)	800 - 1800	60 - 135
Daidzeiin	Soja, kuhana (200 g)	200 - 900	40 - 180
Genistein	Miso (100 g)	250 - 900	25 - 90
Glicitein	Tofu (100 g)	80 - 700	8 - 70
	Tempeh (100 g)	430 - 530	43 - 53
	Sojino mlijeko (200 mL)	30 - 175	6 - 35
Monomerni flavanoli	Čokolada (50 g)	460 - 610	23 - 30
Katehin	Grah (200 g)	350 - 550	70 - 110
Epikatehin	Marelice (200 g)	100 - 250	20 - 50
	Trešnja (200 g)	50 - 220	10-44
	Grožđe (200 g)	30 - 175	6 - 35
	Breskva (200 g)	50 - 140	28 / 10
	Kupina (100 g)	130	13
	Jabuka (200 g)	20 - 120	4 - 24
	Zeleni čaj (200 mL)	100 - 800	20 - 160
	Crni čaj (200 mL)	60 - 500	12 - 100
	Crveno vino (100 mL)	80 - 300	8 - 30
	Jabukovača (200 mL)	40	8

Sastav polifenola u namirnicama varira i ovisi o sortama, zrelosti u vrijeme berbe, obradi, skladištenju i čimbenicima okoliša. Prilikom skladištenja potrebno je paziti da ne dođe do oksidacije polifenola jer ova reakcija izazvati promjenu organoleptičkih svojstava a samim time i kvalitetu hrane (Manach i sur., 2016).

### 2.2.3. Fenoli kupine

Fenolni spojevi u kupini su antocijani, flavonoli, elagitanini, galotonini, proantocijanidini i fenolne kiseline (Tomić i sur., 2016). Ukupna količina fenola je od 142 do 758 mg ekvivalenta galne kiseline/100 g svježe namirnice pri čemu količina fenola ovisi o više čimbenika od tla, klimatskih uvjeta do vrste, sorte i zrenja kupine (Schulz i sur., 2019).

Antocijani pripadaju u skupinu glikoziliranih flavonoida. Pigmenti su koji daju nijanse plave, ljubičaste, crvene i ružičaste boje. Biotički i abiotski stresovi potiču sintezu antocijana, a sunčeva svjetlost povećava njihovu količinu. Suprotno od toga djeluje temperatura koja sprječava sintezu antocijana (Schulz i sur., 2019). Osim toga nestabilnost antocijana uzrokuju pH, enzimi, temperatura, svjetlost, kisik i metalni ioni (Fan i sur., 2018).

U kupini su cijanidini i pelargonidina dva glavna antocijana koji se u prirodi nalaze u obliku glikozida (Amidžić Klarić, 2017). Antocijan koji se nalazi u najvećoj količini je cijanidin-3-glukozid (**Tablica 2**).

**Tablica 2** Fenoli u različitim sortama kupine (mg/kg) (Schulz i sur., 2019)

	<i>R.</i> <i>occidentalis</i>	<i>R.</i> <i>ulmifolius</i>	<i>R.</i> <i>fruticosus</i>	<i>R.</i> <i>adenotrichus</i>	<i>R.</i> <i>glaucus</i>
<b>Antocijanini</b>					
Cijanidin-3-glukozid	30,9 - 282	19,4	91,4 - 107	68,0	50,8
Cijanidin-3-soforozid	80,0 b	-	ND	-	-
Cijanidin-3-rutinozid	58,1 - 250	-	ND	ND	63,0 c
Cijanidin-3-sambubiozid	229 - 929	-	-	-	QD
Pelargonidin-3-glikozid	0 - 44	-	-	-	2,0
Pelargonidin-3-rutinozid	28 - 44	42,3	-	-	QD
Peonidin-3-rutinozid	0 - 25	-	-	-	-
Cijanidin-3-ksilozid	-	-	8,0 - 14,0	-	-
Cijanidin-3-ksilorutinozid	-	-	-	-	QD
Cijanidin-3-dioksaloilglukozid	-	-	QD	-	QD
Cijanidin-3-malonilglukozid	-	-	58,0 - 71,0	-	ND
Cijanidin-3-(60malonil)glukozid	-	-	-	40,0	-
<b>Ostali flavonoidi</b>					
Kvercetin	QD	1,2 - 101	ND - 74,7	1,3 - 57	59,0
Izokvercetin	QD	-	-	-	-

Kaempferol	QD	0,1 - 0,4	ND - 25	2,1 - 7,3	4,0
Katehin	QD	0,2 - 12,1	1,9 - 4,1	-	-
Krizin	-	0,01 - 6,1	-	-	-
Epikatehin	QD	0,3 - 45,9	3,6 - 24,6	5,1	68,0
Epigalokatehin	QD	-	-	-	-
Miricetin	-	-	3,1	-	-
Naringenin	-	0,02 - 0,05	-	-	-
Pinobanksin	-	0,02 - 0,07	-	-	-
Pinocembrin	-	0,1	-	-	-
Rutin	QD	11,6 - 15,4	16,0	-	-
Sinapaldehid	-	0,05	-	-	-
Izokvercitrin	-	2,3 - 23,1	-	-	-
Izorhamnetin	-	0,07	-	-	-
Luteolin	-	0,007	-	-	-
<b>Fenolne kiseline</b>					
3,4-dihidroksibenzoj kiselina	-	0,15 - 1,5	-	-	-
Elaginska kiselina	29,5 b	-	0,15 - 29	0,2 - 1,35	393
Galna kiselina	QD	0,8 - 0,9	138	0,5	49,0
Kofeinska kiselina	QD	0,09	0,3 - 736	-	-
Cimetna kiselina	-	-	-	-	-
Ferulinska kiselina	-	0,5	413 - 757	-	-
Klorogenskaa kiselina	-	-	ND	-	-
p-kumarinska kiselina	-	0,05	0 - 877	-	4,0 c
Protokatehinska kiselina	QD	-	-	-	-
t-kaftarna kiselina	-	-	1,0	-	-
Salicilna kiselina	-	0,2 - 0,8	-	-	-
Sinapinska kiselina	-	0,3	-	-	-
<b>Elagitanini</b>					
Lambertianin	QD	-	38,0 - 47,0	598	520 c
Sanguiin H-2	QD	-	-	-	-
Sanguiin H-6 d	14,8 - 15,4 b	-	-	0,42	2,45 b
Sanguiin H-10	QD	-	-	-	-

ND: nije odetektirano; QD: kvalitativni podaci; b = u suhoj tvari, c = mg/100 g

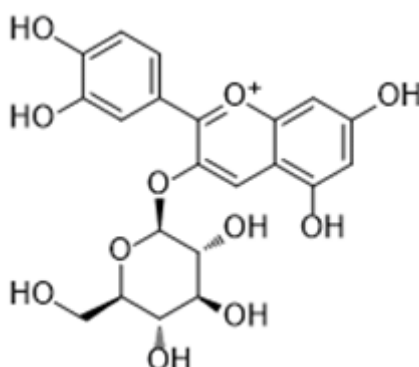
#### 2.2.4. Antioksidacijska aktivnost

Fenolne tvari kupine, kao i sve ostale fenolne komponente, poznate su po antioksidacijskoj aktivnosti. U plodovima kupine nalazi se najveća razina antioksidansa. Količina antioksidansa u plodu kupine iznosi 426,26 mg/100 g svježe namirnice (Okantan, 2020). Fenolni spojevi u svojoj strukturi sadrže aromatski prsten s jednom ili više hidroksilnih skupina. Prstenovi imaju sposobnost da uklone i stabiliziraju slobodne radikale, pa čak i spriječe njihovo nastajanje (Schulz i sur., 2019).

Fenolne tvari djeluju kao inhibitori ili aktivatori enzima, te kao hvatači metala i imaju sposobnost uklanjanja slobodnih kisikovih radikala koji uzrokuju veliku štetu u organizmu i niz bolesti kao što su ateroskleroza, karcinom i kronična upala (Sellappan i sur., 2002). Dokazano je da kupina ima najjači antioksidacijski kapacitet na superoksidni radikalni ion ( $O_2^-$ ), hidroksili radikal ( $\cdot OH$ ), vodikov radikal ( $H_2O_2$ ) (Baby, 2017). Reaktivne vrste kisika mogu uzrokovati oksidativno oštećenje molekula DNA, RNA, proteina i masti (Baby, 2017).

Struktura antocijanida utječe na antioksidacijsku aktivnost, pa tako cijanidin i delfinidin imaju snažni antioksidacijski kapacitet (Zorzi i sur., 2020). Cijanidin glikozida je jak antioksidans kupine, osim toga cijanidin 3-glukozid je cijanidin s velikom ulogom u zaštiti protiv pucanja DNA lanca (**Slika 5**) (Baby, 2017).

Antioksidacijski kapacitet usko je povezan s ukupnim polifenolima, a slabije s ukupnim antocijanidima (Sellappan i sur., 2002). Ukupnom antioksidacijskom kapacitetu kupine doprinose flavonoli koji su jači antioksidansi od antocijana (Zorzi i sur., 2020).

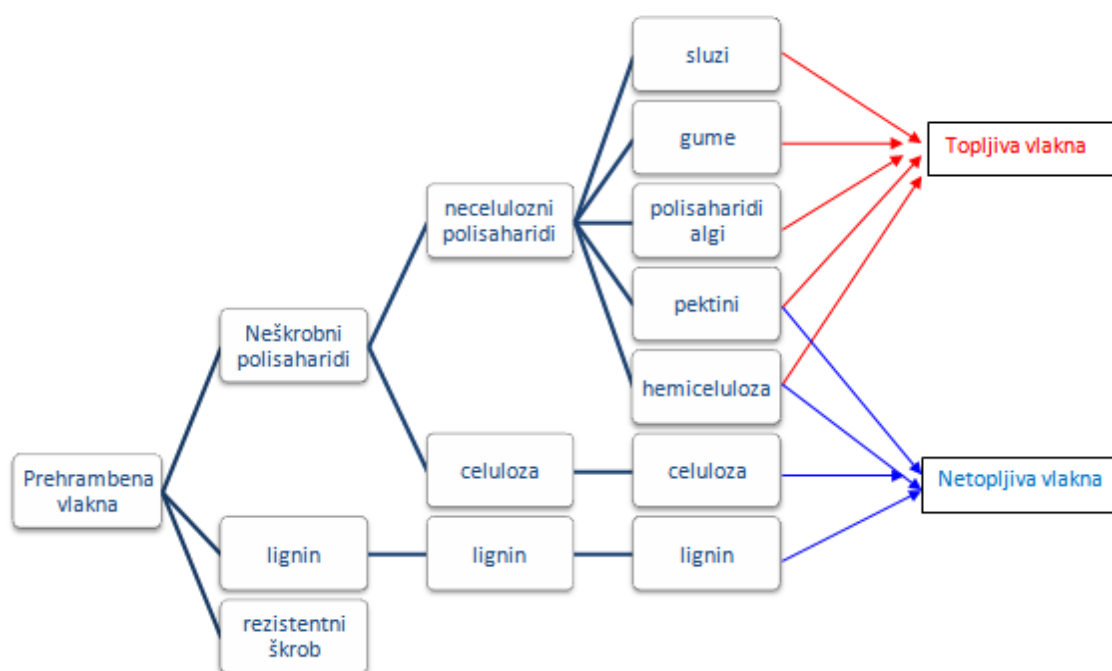


**Slika 5** Struktura cijanidin 3-glukozida (Web izvor 3)

## 2.3. VLAKNA

Prehrambena vlakna se nalaze u biljkama i ona se konzumiraju iako se u tankom crijevu čovjeka pod utjecajem probavnih enzima ne razgrađuju, već se potpuno ili djelomično fermentiraju u debelom crijevu. Ona spadaju u ugljikohidrate, tj. u skupinu oligosaharida, polisaharida i hidrofилnih derivata s iznimkom lignina. Osim biljnih postoje i animalna prehrambena vlakna. Najpoznatija animalna prehrambena vlakna su: citin, citozan, kolagen, kondroitin (Mandić i sur., 2009).

Topljiva prehrambena vlakna i netopljiva prehrambena vlakna čine ukupna prehrambena vlakna (Mandić i sur., 2009). U biljna topljiva prehrambena vlakna ubrajamo pektine, beta-glukane, gume i sluzi, a u netopljiva biljna prehrambena vlakna celulozu, hemicelulozu, lignin, neprobavljivi škrob (Krešić, 2012).



Slika 6 Klasifikacija prehrambenih vlakana (Mandić i sur., 2009).

### 2.3.1. Netopljiva biljna vlakna

Netopljiva biljna vlakna iz probavnog sustava izlaze gotovo nepromijenjena, ipak dio njih podliježe fermentaciji u debelom crijevu uz pomoć bakterija koje se tamo nalaze. Njihova funkcija je da vežu veliku količinu vode pri čemu bubre i povećavaju svoju težinu,

voluminoziraju stolicu, stimuliraju peristaltiku crijeva i sprječavaju zatvor (**Tablica 3**) (Krešić, 2012).

Celuloza je nerazgranati polimer jedinica glukoze povezane  $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 4)-glikozidnim vezama. Sastoji se od 1000 do 1500 jedinica glukoze čija masa se kreće između 100000 i 1000000. Netopljiva je u vodi, bez okusa i ubraja se u nereducirajuće ugljikohidrate. Nalazi se u staničnim stjenkama biljka. Enzim celulaza ju hidrolizira, upravo taj enzim sisavci nemaju pa je zbog toga ne mogu probaviti. Nerazgranati lanci su posloženi u snopove ojačani vodikovim vezama među OH skupinama tvoreći vlakna (Mandić i sur., 2009).

Hemiceluloza okružuje celulozu. Ona je polisaharid koji može biti linearan ili razgranat. najčešće dva ili tri polisaharidna lanca ovijena su jedan oko drugoga i čine uzvojnu prostornu strukturu. Gradivne jedinice glavnih lanaca su: ksiloza, manoz, galaktoza, a pobočnih lanaca su: arabinoza, glukuronska kiselina i galaktoza. Hemiceluloza topljiva u vodi je ona koja u pobočnim lancima sadrži kiselinu. Podjela hemiceluloze se vrši prema: neutralnim i kiselim osobinama, tipu monosaharida od kojeg se sastoji, broju ugljikovih atoma u dominantnom monosaharidu (Mandić i sur., 2009).

Lignin tvore fenil - propanski spojevi. Oni se dobivaju od cimetnog alkohola i od fenilalanina. U biljnoj staničnoj stjenki lignin je kovalentnom vezom vezan na vlaknaste polisaharide stanične stjenke (Mandić i sur., 2009).

**Tablica 3** Izvori i funkcije netopljivih vlakana (Živković, 2000)

Vrsta biljnih vlakana	Izvor	Funkcije
Celuloza	Mekinje, žitarice punog zrna, bijeli dio kore naranče, kora raznog voća itd.	Prave stolicu voluminoznom, sprječavaju apstipaciju, divertikulozu i hemoroide (proširene vene u obliku čvorića na kraju debelog crijeva), navlače vlagu i bubre
Hemiceluloza	Voće, povrće, orasi, punozrnate žitarice, mahunarke	

### 2.3.2. Topljiva biljna vlakna

U procesu probave topljiva biljna vlakna se otapaju i čine viskoznu masu sličnu svojstvima gela. Fermentiraju u debelom crijevu tvoreći kratkolančane masne kiseline koje služe kao izvor energije u organizmu. Osim što služe kao izvor energije ona smanjuju razinu triglicerola, kolesterola i glukoze u krvi, te na taj način doprinose zaštiti od dijabetesa i kardiovaskularnih

bolesti (**Tablica 4**). Najznačajniji izvori topljivih biljnih vlakna su: povrće, voće, cjelovito zrno zobi i riže (Krešić, 2012).

Pektinske tvari imaju molekularnu masu između 30000 i 100000. Galakturonska kiselina, osnovna gradivna jedinica ovih polisaharida, se povezuje  $\alpha$ -(1→4)-glikozidnim vezama. Osim galakturonske kiseline pektinske tvari sadrže i arabinoze, manoze, ksiloze i dr. Pektin i njegove soli spadaju u topljive pektinske tvari, a u pektinske tvari koje nisu topljive ubrajamo: protopektin, pektinsku kiselinu i njezine soli pektate (Mandić i sur., 2009).

Gume su polisaharidi koji su topljivi u vodi te daju gustu i viskoznu masu. Sastoje se od 10000 do 30000 ugljikohidratnih jedinica (glukoza, galaktoza, manoz, arabinoza, ramnoza i njihove uronske kiseline). Dobivaju se ekstrakcijom prirodnih izvora, a koriste se za stabilizaciju namirnica i zgušnjavanje namirnica. Najpoznatije su: arapska guma, tagakant guma, guar guma i guma iz rogača (Mandić i sur., 2009).

Sluzi su sastavljene od velikog broja monosaharida i tragova uronske kiseline. Biljke ih koriste kao sredstvo protiv isušivanja, a pohranjene su u sjemenu i korijenu biljke. Najzastupljenije su u algama i morskoj travi. Upotrebljavaju se u sladoledima i mliječnim proizvodima kao stabilizatori i ugušćivači (Mandić i sur., 2009).

Beta-glukani ( $\beta$ -glukani) predstavljaju ravan nerazgranati polisaharid koji posjeduje dvije vrste veza za povezivanje, a to su povezuje  $\beta$ -(1→4) i  $\beta$ -(1→3)-glikozidne veze. Najzastupljeniji je u gljivama i algama. Lanac je fleksibilan i topljiv zbog glikozidne veze  $\beta$ -(1→3). Značajnija funkcija mu je sniženje kolesterola (Mandić i sur., 2009).

**Tablica 4** Izvori i funkcije topljivih vlakana (Živković, 2000)

Vrsta biljnih vlakana	Izvor	Funkcije
Pektini	Jabuke, kruške, te drugo voće, mahunarke, orasi, te neke vrste povrća	Snižavaju kolesterola u krvi, normaliziraju glukozu u krvi, zgušnjavaju jela u koja su dodana
Gume i sluzi	Alge, morska trava, sjemenje i sekreti raznih biljaka	

### 2.3.3. Upotreba vlakna u prehrambenoj industriji

Prehrambena vlakna koriste se u različitim vrstama proizvoda zbog svojih specifičnih karakteristika. U pekarskim proizvodima izvor prehrambenih vlakana su nerafinirane žitarice, te sve više voće s boljom nutritivnom kvalitetom zbog manje kalorijske vrijednosti, većeg



antioksidacijskog potencijala, višeg nivoa fermentabilnosti i retencije vode. Posljedica dodatka u pekarske proizvode je veća nutritivna kakvoća pekarskih proizvoda zbog smanjenog sadržaja masti. U pićima i napitcima koriste se topljiva prehrambena vlakna jer se dobro raspršuju u vodi i povećavaju stabilnost i viskoznost. Primjer takvih vlakana su: pektini, vlakna iz cikle, polidekstroza, inulin itd. U mliječne proizvode također se dodaju topljiva prehrambena vlakna poput pektina, inulina i guar gume. Njihova primjena u proizvodnji sira smanjuje udio masti bez smanjenja organoleptičkih svojstava, tj. teksture i okusa. U emulzijama poput jogurta i sladoleda topljiva prehrambena vlakna koriste se u svrhu povećanja njihove stabilnosti. U mesnim proizvodima za poboljšanje teksture kobasica, pašteta i salame upotrebljavaju se pektini i celuloza uz istodobno smanjenje udjela masti i prehrambena vlakna se integriraju u tkiva mesa i povećavaju kapacitet zadržavanja vode te se hlapljive komponente arome sporije oslobađaju što rezultira sočnošću mesa. Kod kuhanih mesnih proizvoda koristi se netopljiva prehrambena vlakna, ona na sebe vežu pet puta veću masu ulja od svoje mase, kako bi se sačuvale masti koje se inače gube tijekom kuhanja. U proizvodnji džemova i marmelada prehrambena vlakna od kojih je najznačajniji pektin održava stabilnost gotovog proizvoda. U čokoladama inulin i oligofruktoza su zamjena za šećer (Mandić i sur., 2009).

#### **2.3.4. Optimalan unos prehrambenih vlakana, korist i nedostaci**

Vrsta i količina prehrambenih vlakana razlikuje se od namirnice do namirnice. Glavni izvor prehrambenih vlakana su žitarice (50% ukupnog unosa), povrće (30 – 40% ukupnog unosa), voće (16% ukupnog unosa) i orašasti plodovi (Gaćina, 2014).

Preporuke za dnevno uzimanje PV za odrasle osobe su različite tako prema (Mandić i sur., 2009):

- ADA (American Dietetic Association) je 20 – 30 g/dan
- RDA (Recommended Dietary Allowence) za žene od 19 - 30 godina je 25 g/dan, a za muškarce 19 - 30 godina je 38 g/dan

Za djecu dojenčad i djecu do 2 godine starosti nije definiran unos, dok za djecu stariju od 2 godine unos je jednak zbroju njihovih godine + 5 g na dan (Mandić i sur., 2009).

**Tablica 5** Preporuka za unos prehrambenih vlakana (g/dan) (Mandić i sur., 2009)

Životna dob (godine)	Dojenčad i djeca	Žene	Muškarci
0 - 12	Nije definirano		
1 - 3	19		
4 - 8	25		
9 - 13		26	31
14 - 18		26	38
19 – 50		25	38
50 - 70		21	30
> 70		21	30

Biljna vlakna štite od nastanka karcinoma debelog crijeva i bolesti arterija srca (topljiva prehrambena vlakna snižavaju kolesterol) (Živković, 2000). Snižavaju krvni tlak, reduciraju apsorpciju glukoze što rezultira smanjenim lučenjem inzulina, organizmu daju osjećaj sitosti i dovode do gubitka tjelesne mase, imaju probiotički efekt. Osim što štite od karcinoma debelog crijeva također štite i od karcinoma grudi i prostate, karcinoma jajnika, te poboljšavaju imunološke funkcije (Mandić i sur., 2009)

Povećan unos prehrambenih vlakana ima i negativnih strana. Povećanim unosom prehrambenih vlakana povećava se i unos aktivnih tvari, tj. biljnih polifenola, saponina i glikoalkaloida. Polifenoli smanjuju razgradnju prehrambenih vlakana u debelom crijevu čovjeka. Glikoalkaloidi su toksični stoga se treba držati preporuka za dnevni unos prehrambenih vlakana uz koje ih unosimo. Pektin je još jedno prehrambeno vlakno koje može imati negativni učinak. Ono usporava apsorpciju lijekova i njihovo djelovanje na ljudski organizam zato je potrebno određene lijekove konzumirati poslije jela (Mandić i sur., 2009).

## 2.4. ŠEĆERI

Skupina organskih spojeva s molekulskom formulom  $C_m(H_2O)_n$  su ugljikohidrati. Sastoje se od polihidroksialdehida i ketona i njihovih derivata. S obzirom na broj monosaharidnih jedinica podijeljeni su u 3 skupine (Pine, 1994):

- monosaharide - 1 monosaharidna jedinica koju čine 3 - 9 C atoma
- oligosaharide - 2 ili više monosaharidne jedinice povezane kisikovim mostovima
- polisaharide - više od 10 monosaharidne jedinice povezane kisikovim mostovima.

Ugljikohidrat koji sadrži 2 monosaharida zove se disaharida. Najpoznatiji disaharidi su: maltoza, celubioza, laktoza, saharoza (Morrison, 1979).

Osnovna uloga ugljikohidrata je stvaranje energije, osim toga gradivni su elementi (stanica, krvi i tkivnih tekućina). Ugljikohidrati se hidroliziraju na monosaharide kako bi ih organizam mogao koristiti (Mandić, 2003).

Vrste veza u disaharidima (Wade, 2017):

- 1,4' glukozidna veza - anomerni C - atoma se veže za kisikov atom koji se nalazi na C4 drugog šećera,
- 1,6' glukozidna veza - anomerni C - atom se veže za kisikov atom koji se nalazi na C6 drugog šećera,
- 1,1' glukozidna veza - anomerni C - atoma se veže za kisikov atom se veže za kisik koji se nalazi na anomernom ugljiku drugog šećera.

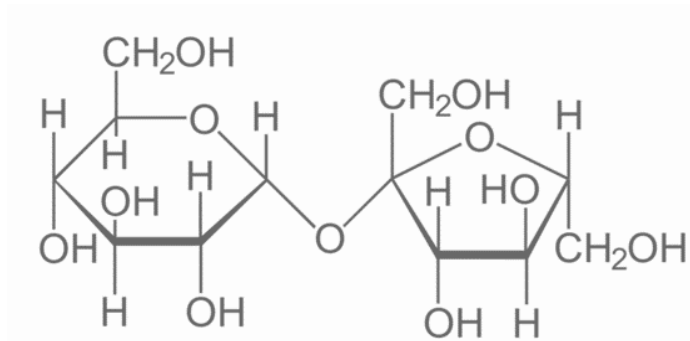
Oznaka (') se odnosi na C4, C6, C1 atom drugog šećera.

1,4' glikozidnom vezom vežu se: celobioza, maltoza i laktoza. Glikozidna veza 1,6' je veza na genciobiozi. A 1,1' glukozidnom vezom vezana je saharoza (Wade, 2017).

### 2.4.1. Saharoza

Saharoza je stolni šećer koja se u najvećim količinama nalazi u čistom obliku. Taj disaharid dobiva se iz šećerne repe i šećerne trske (Morrison i sur., 1979).

Da bi se dobila saharoza iz trske prvo se stabljika mora samljeti, nakon čega se sok preša na valjcima. Alkalizacija vapnom se provodi na soku koji ima oko 15% saharoze kako bi se spriječila hidroliza. Procesom razbistravanja u obliku teške pjene i taloga zagrijavanjem se uklanjaju nečistoće. Dobiven bistar sok se uz snižen tlak koncentrira, a zatim kristalizira. Kristali se odvajaju centrifugiranjem nastao filtrate prilikom centrifugiranja se koncentrira, kristalizira i ponovo se odvajaju kristali saharoze centrifugiranjem. Potom se sirovom šećeru uklanja smeđa boja pranjem, otapanjem u vodi i propuštanjem kroz aktivan ugljen, i vraća se u oblik kristala koncentriranjem i kristalizacijom (Noller, 1973).



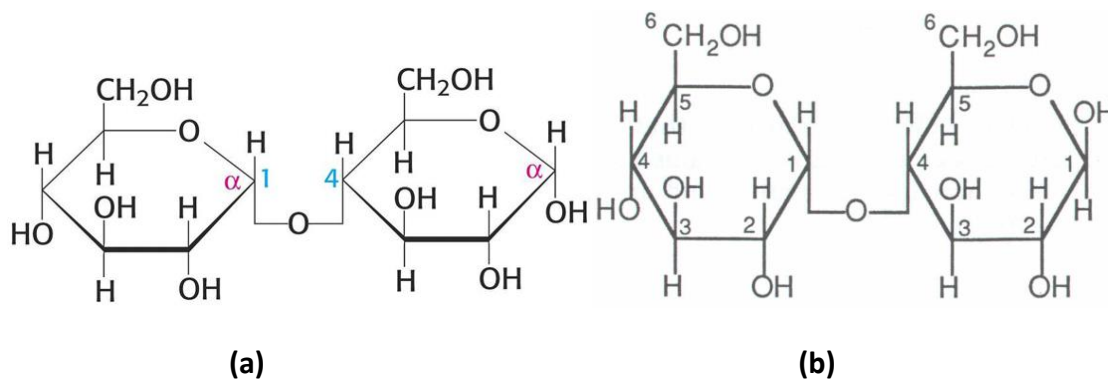
**Slika 7** Kemijska struktura saharoze (Web izvor 4)

Saharoza ima molekularnu formulu  $C_{12}H_{22}O_{11}$ . Sastoji se od D-glukoze i D-fruktoze povezane 1,2-glikozidnom vezom koja nastaje između C-1 glukoze i C-2 fruktoze. Nereducirajući je šećer koji nema slobodnu aldehidnu ili keto skupinu, te ne reducira Tollensov i Fehlingov reagens, ne daje osazon, ne nalazi se u anomernim oblicima i ne mutarotira u otopini (Morrison i sur., 1979). Nereducirajući šećer saharoza je dobar konzervans jer se ne oksidira lako. Hidrolizom saharoze koju provodi enzim invertaza nastaje invertni šećer. Invertni šećer je smjesa glukoze i fruktoze koja zaokreće polariziranu svjetlost (Wade, 2017). To je objašnjeno na način da saharoza zaokreće polariziranu svjetlost  $+66,5^\circ$ , smjesa glukoze i fruktoze ima negativno specifično zakretanje jer je veće specifično zakretanje D-fruktoze  $-92,4^\circ$ , dok je specifično zakretanje D-glukoze  $+52,7^\circ$  (Morrison i sur., 1979).

Slatkoća invertnog šećera je ista kao i saharoze, razlika je u kristalizaciji. Invertni šećer teže kristalizira, zbog toga se koristi u proizvodnji sirupa (Noller, 1973).

### 2.4.2. Maltoza

Disaharid maltoza je reducirajući šećer s molekularnom formulom  $C_{12}H_{22}O_{11}$ . Egzistira u alfa ( $[\alpha] = +168^\circ$ ) i beta ( $[\alpha] = +112^\circ$ ) obliku koji mogu mutarotirati (Morrison i sur., 1979).

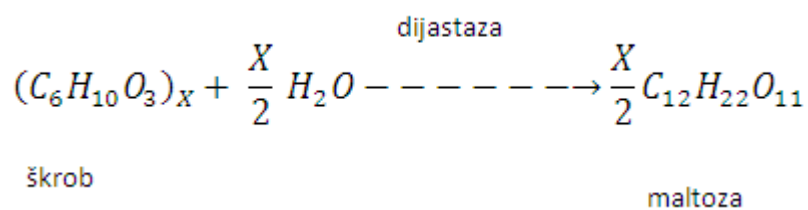


**Slika 8** Kemijska struktura  $\alpha$ -maltoza (a) i  $\beta$ -maltoza (b) (Web izvor 5 i Web izvor 6)

Iz **slike 8** je vidljivo da se  $\alpha$ -maltoza i  $\beta$ -maltoza anomeri sastoje od dvije jedinice glukoze povezane (1 $\rightarrow$ 4)-glikozidnom vezom.

Maltoza se dobiva (Morrison i sur., 1979):

- pri nepotpunoj hidrolizi škroba s razblaženom kiselinom,
- kao međuprodukt pri fermentaciji škroba u alkohol - ova reakcija je katalizirana enzimom dijastaze, a ona se nalazi u proklijalom ječmu (**Slika 9**).

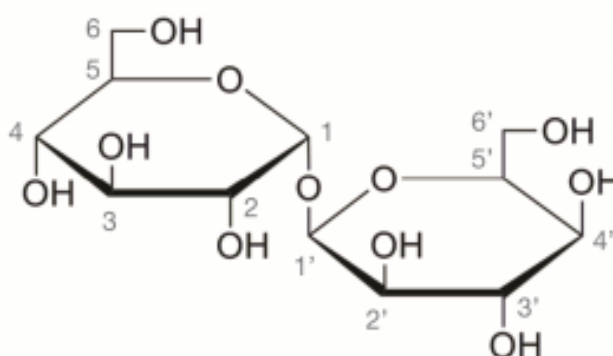


**Slika 9** Nastanak maltoze iz škroba (Noller, 1973)

### 2.4.3. Trehaloza

Trehaloza je nereducirajući šećer koji se pojavljuje u gljivama, u biljci *Selaginella lepidophylla* (Noller, 1973). Također je izvor energije kod kukaca i rezervni ugljikohidrat u njihovim jajima, ličinkama i kukuljicama (Pine, 1994).

Njezina formula je  $C_{12}H_{22}O_{11}$ . Hidrolizom trehaloze nastaju 2 mola glukoze. Veza između glukoza je 1,1' između 2 anomerna C atoma. Trehalozom se Fehlingova otopina ne reducira, ne nastaje ozon, ne potvrđuje mutarotaciju, ne nastaju metilglikozidi,  $\alpha$  i  $\beta$ -acetat (Noller, 1973).



**Slika 10** Kemijska struktura  $\alpha$ - $\alpha$  trehaloze (Web izvor 7)

Trehaloza pokazuje iznimnu stabilnost i obično se nalazi u obliku dihidrata koju karakterizira niska higroskopsnost. Prednost u odnosu na ostale šećere je što teško upija vodu, a to rezultira manjom ljepljivošću i većom stabilnošću. Temperatura taljenja se jako razlikuje jer trehaloza može postojati kao bezvodna (na 210 °C) ili u obliku hidrata:  $\alpha$ ,  $\beta$  i  $\gamma$  oblik (na 97 °C).

Ona ima velik broj ekvivalentnih skupina koje jačaju interakciju s vodom. Jake i snaže vodikove veze trehaloze utječu na difuziju (niži koeficijent difuzije) i viskoznost (viša viskoznost). (Ohtake i sur., 2011).

### **3. EKSPERIMENTALNI DIO**

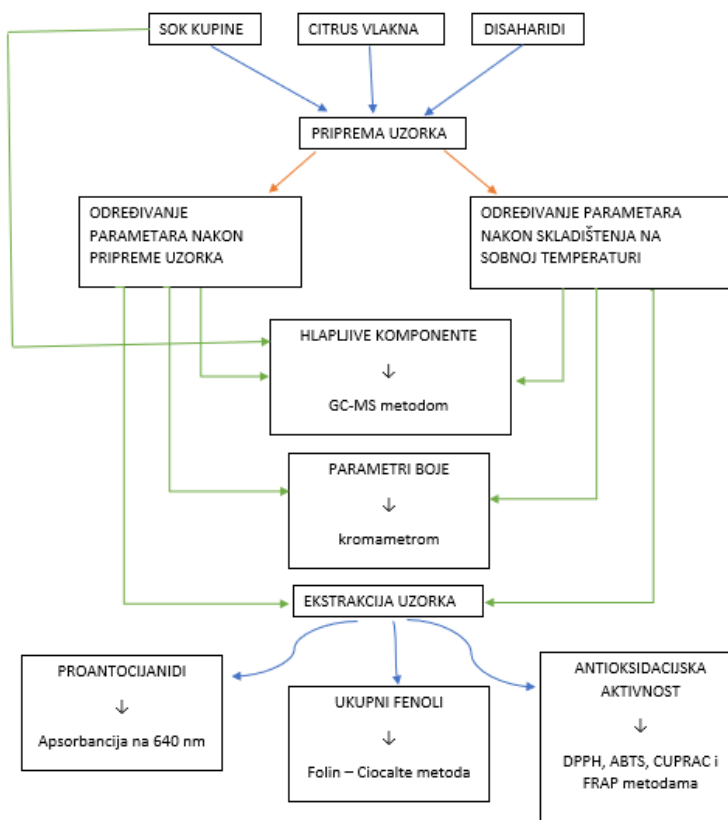
### 3.1. ZADATAK

Zadatak ovog diplomskog rada bio je pripremiti punila na bazi kupina. Punila su se pripremala iz soka kupine, citrus vlakna te disaharida (saharoze, trehaloze i maltoze).

U sklopu diplomskog rada:

- Pripremljena su tri tipa punila na bazi kupina koja su se međusobno razlikovala po tipu dodanog disaharida;
- Određeni su ukupni fenoli;
- Određeni su proantocijanidini;
- Određena je antioksidacijska aktivnost primjenom DPPH, ABTS, FRAP i CUPRAC metoda;
- Određeni su parametri boje ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ,  $^{\circ}h$ ,  $C^*$ ,  $\Delta E$ );
- Određene su hlapljive komponente;
- Utvrđen je utjecaja tipa disaharida na ispitivane parametre.

Uzorci su skladišteni 3 mjeseca na sobnoj temperaturi te su evaluirani svi prethodno navedeni parametri kako bi se utvrdile promjene tijekom skladištenja.



Slika 11 Shematski prikaz rada



## 3.2. MATERIJALI

Klorovodična kiselina, octena kiselina, metanol, natrij karbonat, željezo klorid, amonij acetat Folin-Ciocalteu reagens su nabavljeni od proizvođača Kemika (Zagreb). Trolox je nabavljen od proizvođača Sigma (Njemačka). 2,2'-azinobis (3-etilbenzotiazolin-sulfonska kiselina) (ABTS) i 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) su nabavljeni od proizvođača Fluka (Njemačka). 2,4,6-tri(2-piridil)-s-triazin (TPTZ), galna kiselina, procijanidin B2, mirtenol su nabavljeni od proizvođača Sigma, Njemačka. Neokuproin, bakar klorid su proizvodi Gram-mola (Hrvatska). Saharoza je nabavljena od Gram-mola (Hrvatska), a maltoza i trehaloza su dobiveni od Hayashibara doo (Nagase group, Japan). Citrus vlakna su nabavljeni od Biesterfeld AG (Hrvatska).

### 3.2.1. Priprema punila na bazi kupina

Na zagrijanoj magnetskoj miješalici najprije se je miješala smjesa soka kupine i citrus vlakna (5%), a zatim nakon što se je smjesa dobro homogenizirala dodan je disaharid u količini od 50% (saharoza, trehaloza ili maltoza). Temperatura tijekom pripreme je iznosila 80 °C, a sama priprema je trajala 20 minuta dok nije dobiven proizvod odgovarajuće konzistencije. Vruća smjesa se je prelila u zagrijane staklenke od 40 mL i zatvorila. Jedan set uzoraka je korišten za određivanje definiranih parametara odmah nakon pripreme, a drugi set uzoraka se je skladištio 3 mjeseca na sobnoj temperaturi zbog utvrđivanja promjena tijekom skladištenja.

## 3.3. METODE

### 3.3.1. Ekstrakcija uzoraka

Za određivanje ukupnih fenola, proantocijanidina i antioksidacijske aktivnosti punila su ekstrahirana. Za ekstrakciju je odvagano 2 g uzorka te je dodano 20 mL zakiseljenog metanola na sobnoj temperaturi. Nakon 24 sata smjesa se je profiltrirala te se je dobiveni ekstrakt koristio u daljnjim analizama.

### 3.3.2. Određivanje ukupnih fenola

Udio ukupnih fenola određen je Folin-Ciocalteu metodom. Rezultat se preračuna iz kalibracijske krivulje galne kiseline.

Postupak: otpipetira se 0,2 mL uzorka, 1,8 mL destilirane vode, 10 mL Folin-Ciocalteu (1:10) reagensa i 8 mL otopine natrijevog karbonata u epruvetu, promućka se i ostavi da stoji 2 sata na tamnom mjestu pri sobnoj temperaturi. Apsorbancija se određuje na spektrofotometru pri 765 nm. Slijepa proba se pripravi sa destiliranom vodom (2 mL). Mjerenja su provedena u tri paralele.

### **3.3.3. Određivanje proantocijanidina**

Postupak: otpipetira se 0,1 mL uzorka te se doda 1 mL otopine 4-dimetil-amino-cinamaldehida. Reakcijska smjesa se ostavi stajati 30 minuta te se mjeri apsorbancija na 640 nm. Rezultat se preračuna iz kalibracijske krivulje za procijanidin B2. Mjerenja su provedena u tri paralele.

### **3.3.4. Određivanje antioksidacijske aktivnosti**

Za određivanje mjerenje antioksidacijske aktivnosti korištene su četiri metode; DPPH, ABTS, CUPRAC i FRAP.

#### *DPPH metoda*

Postupak: otpipetira se 0,2 mL uzorka, 3 mL otopine DPPH, dobro promiješa i reakcijska smjesa se ostavi stajati 15 minuta. Nakon toga mjeri se apsorbancija pri 517 nm. Rezultat se preračuna iz kalibracijske krivulje za trolox. Mjerenja su provedena u tri paralele.

#### *ABTS metoda*

Postupak: otpipetira se 0,2 mL uzorka te se doda 3,2 mL otopine ABTS, dobro promiješa i smjesa se ostavi reagirati 1h i 35 min u mraku. Nakon toga mjeri se apsorbancija pri 734 nm. Rezultat se preračuna iz kalibracijske krivulje za trolox. Mjerenja su provedena u tri paralele.

#### *CUPRAC metoda*

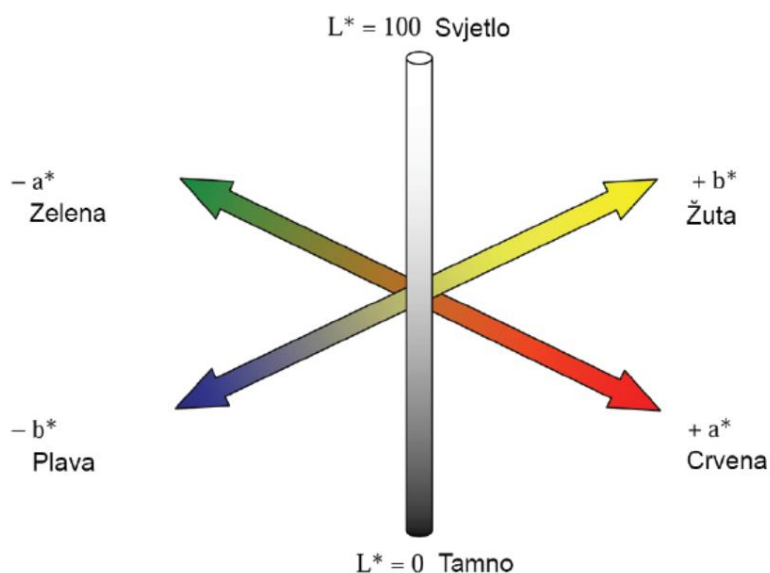
Postupak: otpipetira se 1 mL otopine bakar klorida, 1 mL otopine neokuproina, 1 mL amonij acetata, 0,2 mL uzorka te 0,9 mL vode. Smjesa se homogenizira te ostavi stajati 30 minuta. Nakon inkubacije mjeri se absorbanca na 450 nm. Rezultat se preračuna iz kalibracijske krivulje za trolox. Mjerenja su provedena u tri paralele.

#### *FRAP metoda*

Postupak: otpipetira se 0,2 mL uzorka, 3 mL FRAP otopine, dobro promiješa i reakcijska smjesa se ostavi stajati 30 minuta. Nakon toga se mjeri apsorbanacija pri 593 nm. Rezultat se preračuna iz kalibracijske krivulje za trolox. Mjerenja su provedena u tri paralele.

### 3.3.5. Određivanje parametara boje

Mjerenje boje kao i promjena boje praćeni su kromametrom (Minolta CR-400). Ovaj tip kromametra mjeri reflektiranu svjetlost s površine predmeta. Svjetlost se reflektira, te takvu svjetlost mjeri šest jako osjetljivih silikonskih fotoćelija. Podatke zapisuje računalo i izražava ih u pet različitih sustava (X, Y, Z; Yxy; LCH; Lab; Hunter Lab). U radu je korišten Lab sustav koji daje približne vrijednosti kao i ljudsko oko (**Slika 12**).



**Slika 12** Prikaz CIE LAB prostora boja

Pomoću  $L^*$  vrijednosti određuje se je li neki predmet taman ili svijetao. Ako je  $L^* = 0$  tada je predmet taman, a ako je  $L^* = 100$  predmet je svijetao.  $a^*$  vrijednost određuje je li neki predmet crvene ili zelene boje. Ako je  $a^*$  pozitivan predmet je crvene boje, a ako je  $a^*$  negativan predmet je zelen.  $b^*$  vrijednost određuje je li neki predmet žute ili plave boje. Ako je  $b^*$  pozitivan predmet je žute boje, a ako je  $b^*$  negativan predmet je plav.

Osim  $L^*$ ,  $a^*$  i  $b^*$  vrijednosti na kromametru su određeni i zasićenje ( $C^*$ ) i ton boje ( $^{\circ}h$ ). Ton boje ( $^{\circ}h$ ) definira vizualni doživljaj na temelju kojeg točno definiramo pojedinu boju npr. crvenu, plavu, zelenu itd. ovisno o dominantnoj valnoj duljini. Zasićenje ( $C^*$ ) definira udio čiste boje u ukupnom vizualnom doživljaju boje tj. udio pojedinih valnih duljina u ukupnom tonu

boje. Svjetlina ( $L^*$ ) opisuje sličnost boje s nizom akromatskih boja od crne preko sive do bijele odnosno udio crne u nekom tonu boje.



**Slika 13** Prikaz ovisnosti tona boje ( $^{\circ}h$ ) i boje

Udaljenost između dvije točke u koordinatnom sustavu boje se izražava kao promjena boje odnosno  $\Delta E$ . Promjena boje izračunava se na temelju  $L^*$ ,  $a^*$  i  $b^*$  vrijednosti prema slijedećoj formuli

$$\Delta E = [(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2]^{0,5}$$

$$\Delta L^* = L^*_k - L^*_u$$

$$\Delta a^* = a^*_k - a^*_u$$

$$\Delta b^* = b^*_k - b^*_u$$

(k – kontrolni uzorak; u – uspoređivani uzorak)

Veza između izračunate promjene boje ( $\Delta E$ ) i ljudske percepcije boje dana je u **Tablici 6**.

**Tablica 6** Veza između izračunate promjene boje ( $\Delta E$ ) i ljudske percepcije boje

$\Delta E$	Vidljivost razlike ljudskim okom
< 0,2	Razlika boja se ne vidi
0,2 - 1	Razlika boja se primjećuje
1 - 3	Razlika boja se vidi
3 - 6	Razlika boja se dobro vidi
> 6	Očigledna odstupanja boja

### 3.3.6. Određivanje hlapljivih komponenata

Za određivanje hlapljivih komponenata korišten je plinski kromatoraf s masenim detektorom (GC-MS). Za pripremu uzorka korištena je tehnika mikroekstrakcije na čvrstoj fazi (SPME) za koju je neophodna SPME aparatura. Polimerna stacionarna faza (unutar igle) bila je polidimetilsiloksana-divinilbenzen. U bočicu od 10 mL odvaži se 5 g uzorka te doda 1 g NaCl. U bočicu se ubaci magnet te se hermetički zatvori teflonskim čepom. Bočica se postavi u posudu s vodom te se, uz stalno miješanje uzorka magnetskom miješalicom, hlapljivi sastojci adsorbiraju na polimernu stacionarnu fazu. Prije samog ispuštanja igle u nadprostor uzorka, uzorak se 10 minuta miješa na vodenoj kupelji (40 °C) radi zasićenja nadprostora sa svrhom što bolje adsorpcije aromatičnih sastojaka. Adsorpcija se provodi na temperaturi od 40 °C (vodena kupelj) u trajanju od 45 minuta. Po završetku adsorpcije igla s adsorbiranim sastojcima odmah se stavlja u injektor plinskog kromatografa te slijedi njihova toplinska desorpcija. Određivanje kvantitativnog udjela hlapljivih sastojaka uzoraka provedeno je primjenom instrumentalne plinske kromatografije. U radu je korišten plinski kromatograf Agilent 7890B s masenim spektrometrom Agilent 5977A (Agilent Technologies, CA, USA)

Uvjeti uzorkovanje SPME metodom:

- vlakno divinilbenzen/karboksen/polidimetilsiloksan (DVB/CAR/PDMS), 50/30  $\mu\text{m}$ , Supelco, USA;
- adsorpcija: 45 min, 40 °C, 300 rpm;
- desorpcija: 7 min, 250 °C, splitless mod

Uvjeti plinskog kromatografa i masenog spektrometra:

- kolona: HP-5MS (30 m x 0,25 mm x 0,25  $\mu\text{m}$ );
- temperature: od 40 °C (10 min) do 120 °C (3 °C/min), zatim do 250 °C (10 °C/min);
- plin nosioc: helij (čistoće 5.0), protok 1 mL/min;

- temperatura injektora: 250 °C;
- temperatura detektora: 280 °C;
- $m/z$ : 40 do 400, 70 eV.

Količina hlapljivih komponenata je izražena preko mirtenola kao internog standarda.

### 3.3.7. Statistička analiza podataka

Statistička analiza rezultata je provedena pomoću ANOVA testa uz statističku značajnost od  $P < 0,5$ .

## **4. REZULTATI I RASPRAVA**

U ovom diplomskom radu pripremljena su punila na bazi kupine. Punila su pripremljena od soka kupine, citrus vlakna i disaharida (saharoze, maltoze i trehaloze). Uobičajen način pripreme punila je da se punila pripremaju dodatkom pektina ili nekog drugog hidrokoloida, ali u ovom radu se je željelo utvrditi postoji li mogućnost pripreme punila s dodatkom citrus vlakna kako bi konačan proizvod bio obogaćen vlaknima za koja je znanstveno dokazano da imaju pozitivan utjecaj na zdravlje. Na temelju preliminarnih istraživanja utvrđeno je da je potrebna količina citrus vlakna 5%, kako bi se pripremio proizvod odgovarajuće konzistencije. Citrus vlakna osim što sadrže različite tipove pektina, sadrže i druge polisaharide poput celuloze. Uz citrus vlakna korišteni su disaharidi, saharoza, maltoza i trehaloza, kako bi se utvrdio njihov utjecaj na kvalitetu proizvoda. U punilima na bazi kupine određeni su ukupni fenoli, proantocijanidini, antioksidacijska aktivnost, parametri boje i hlapljive komponente.

#### 4.1. FENOLI I PROANTOCIJANIDINI U PUNILIMA NA BAZI KUPINA

U **Tablici 7** dan je prikaz ukupnih fenola i proantocijanidina u punilima na bazi kupina nakon njihove pripreme i skladištenja od 3 mjeseca na sobnoj temperaturi. Iz rezultata se može utvrditi da je tip šećera imao utjecaj na udio fenola i proantocijanidina ali i na gubitak odnosno zadržavanje spomenutih komponenti tijekom skladištenja. Najveći udio fenola imao je uzorak s dodatkom trehaloze (4,977 g/100 g), zatim uzorak s dodatkom maltoze (4,495 g/100 g) a najmanji uzorak s dodatkom saharoze (4,249 g/100 g). Tijekom skladištenja došlo je do gubitka fenol te su vrijednosti nakon skladištenja manje ali je zadržan isti tren odnosno uzorak s trehalozom je imao najveći udio fenola (4,758 g/100 g), zatim uzorak s maltozom (4,152 g/100 g) i najmanji udio fenola imao je uzorak s dodatkom saharoze (3,715 g/100 g). Tijekom skladištenja do najvećeg gubitka fenola došlo je u uzorcima s dodatkom saharoze (12,6%) a najmanje u uzorcima s dodatkom trehaloze (4,4%) (**Slika 14**). Proantocijanidini nisu slijedili trend fenola. Najveći udio proantocijanidina imao je uzorak s dodatkom maltoze (473,05 mg/100 g), zatim uzorak s dodatkom trehaloze (422,40 mg/100 g) a najmanji udio uzorak s dodatkom saharoze (299,93 mg/100 g). Tijekom skladištenja došlo je do degradacije proantocijanidina kao i fenola ali u znatno većoj mjeri. Gubitak proantocijanidina je bio najmanji za uzorak s dodatkom saharoze (76%), a za uzorak s dodatkom maltoze i trehaloze je iznosio 85% odnosno 81%. Uspoređujući udjele fenola, nakon skladištenja imao je uzorak s



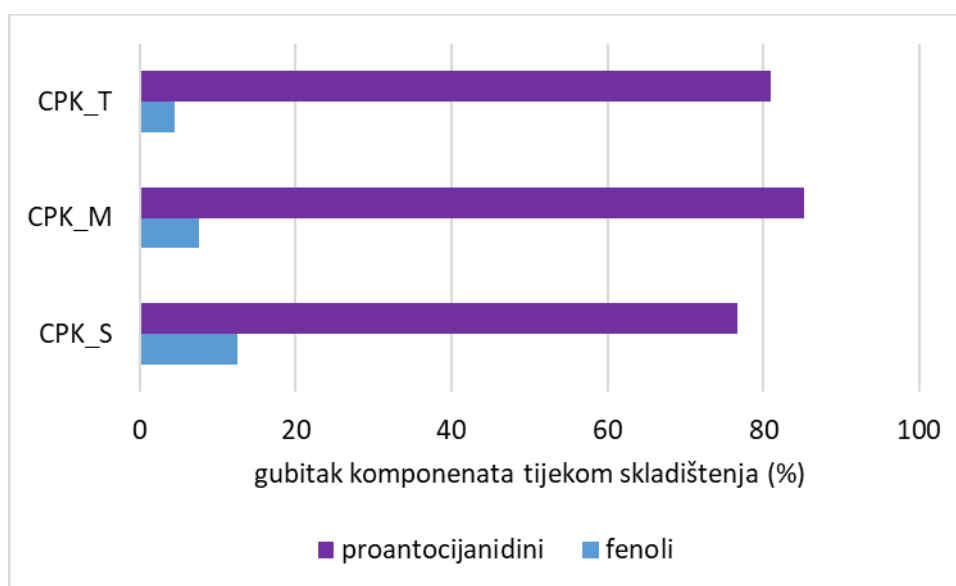
dodatkom trehaloze (80,221 mg/100 g) dok su preostala dva uzorka imala jednaki udio ovih komponenata (70 mg/100 g).

**Tablica 7** Udio ukupnih fenola i proantocijanidina u punilima na bazi kupine nakon pripreme i nakon skladištenja

Uzorci	Fenoli (g/100 g)	Proantocijanidini (mg/100 g)
Nakon pripreme		
CPK_S	4,249±0,015 <sup>c</sup>	299,93±8,72 <sup>c</sup>
CPK_M	4,495±0,029 <sup>b</sup>	473,05±8,72 <sup>a</sup>
CPK_T	4,977±0,006 <sup>a</sup>	422,40±6,54 <sup>b</sup>
Nakon skladištenja		
CPK_S	3,715±0,018 <sup>e</sup>	69,511±0,584 <sup>e</sup>
CPK_M	4,152±0,011 <sup>d</sup>	70,164±0,693 <sup>e</sup>
CPK_T	4,758±0,019 <sup>d</sup>	80,221±0,507 <sup>d</sup>

Vrijednosti u istom stupcu označene različitim slovima su statistički različite.

CPK\_S – punila na bazi kupina s dodatkom saharoze; CPK\_M – punila na bazi kupina s dodatkom maltoze; CPK\_T – punila na bazi kupina s dodatkom trehaloze



**Slika 14** Prikaz gubitka (%) fenola i proantocijanidina nakon skladištenja

#### 4.2. ANTIOKSIDACIJSKA AKTIVNOST PUNILA NA BAZI KUPINA

Antioksidacijska aktivnost je određena primjenom DPPH, ABTS, FRAP i CUPRAC metoda. Metode se razlikuju prema mehanizmu određivanja antioksidacijske aktivnosti. DPPH i ABTS metode se baziraju na blokiranju slobodnih radikala dok se FRAP i CUPRAC baziraju na inaktivaciji metala. Antioksidacijska aktivnost punila na bazi kupina nakon pripreme i nakon skladištenja prikazana je u **Tablici 8**. Antioksidacijska aktivnost utvrđena primjenom DPPH

metode najveća je u uzorku s dodatkom maltoze (170,95 nmol TE/100 g), zatim trehaloze (168,22 nmol TE/100 g) a uzorak sa saharozom je imao najmanju vrijednost antioksidacijske aktivnosti (164,30 nmol TE/100 g). Nakon skladištenja, trend se je promijenio te je uzorak s trehalozom imao značajno veću (153,30 nmol TE/100 g) antioksidacijsku aktivnost od preostala dva uzorka (139 nmol TE/100 g). ABTS metodom, najveću antioksidacijsku aktivnost imao je uzorak sa saharozom (2,786  $\mu$ mol TE/100 g) dok su preostala dva uzorka imala jednaku antioksidacijsku aktivnost (2,58  $\mu$ mol TE/100 g). tijekom skladištenja došlo je do promjene antioksidacijske aktivnosti odnosno smanjenja. Uzorak s trehalozom je imao najmanju (0,828  $\mu$ mol TE/100 g) antioksidacijsku aktivnost dok su preostala dva uzorka imala jednaku i veću u odnosu na uzorak s trehalozom (1,115  $\mu$ mol TE/100 g). Primjenom FRAP metode, uzorci s saharozom i maltozom imali su jednaku (224 nmol TE/100 g) antioksidacijsku aktivnost i veću u odnosu na uzorak s trehalozom (219,69 nmol TE/100 g). Nakon skladištenja, utvrđene su niže vrijednosti u odnosu na početne uzorke, te je uzorak sa saharozom imao najveću (194,19 nmol TE/100 g) antioksidacijsku aktivnost a uzorak s trehalozom najmanju (178,07 nmol TE/100 g). Antioksidacijska aktivnost CUPRAC metodom je slijedila slijedeći redoslijed saharoza – trehaloza – maltoza gdje je saharoza imala najveću (181,34 nmol TE/100 g) antioksidacijsku aktivnost a maltoza najmanju (169,58 nmol TE/100 g). Nakon skladištenja došlo je do promjene trenda te je uzorak sa saharozom imao najmanju (110,43 nmol TE/100 g) antioksidacijsku aktivnost a uzorak s trehalozom najveću (127,52 nmol TE/100 g).

**Tablica 8** Antioksidacijska aktivnost punila na bazi kupina nakon pripreme i nakon skladištenja

Uzorci	DPPH (nmol TE/100 g)	ABTS ( $\mu$ mol TE/100 g)	FRAP (nmol TE/100 g)	CUPRAC (nmol TE/100 g)
Nakon pripreme				
CPK_S	164,30 $\pm$ 0,37 <sup>c</sup>	2,786 $\pm$ 0,029 <sup>a</sup>	224,49 $\pm$ 0,68 <sup>a</sup>	181,34 $\pm$ 1,88 <sup>a</sup>
CPK_M	170,95 $\pm$ 0,21 <sup>a</sup>	2,564 $\pm$ 0,018 <sup>b</sup>	223,94 $\pm$ 0,78 <sup>a</sup>	169,58 $\pm$ 1,42 <sup>c</sup>
CPK_T	168,22 $\pm$ 0,13 <sup>b</sup>	2,597 $\pm$ 0,054 <sup>b</sup>	219,69 $\pm$ 0,50 <sup>b</sup>	173,01 $\pm$ 1,24 <sup>b</sup>
Nakon skladištenja				
CPK_S	139,32 $\pm$ 0,61 <sup>e</sup>	1,114 $\pm$ 0,037 <sup>c</sup>	194,19 $\pm$ 0,86 <sup>c</sup>	110,43 $\pm$ 0,91 <sup>f</sup>
CPK_M	138,83 $\pm$ 0,54 <sup>e</sup>	1,118 $\pm$ 0,043 <sup>c</sup>	180,48 $\pm$ 0,49 <sup>d</sup>	120,11 $\pm$ 0,83 <sup>e</sup>
CPK_T	153,30 $\pm$ 0,47 <sup>d</sup>	0,828 $\pm$ 0,027 <sup>d</sup>	178,07 $\pm$ 0,25 <sup>e</sup>	127,52 $\pm$ 0,77 <sup>c</sup>

Vrijednosti u istom stupcu označene različitim slovima su statistički različite.

CPK\_S – punila na bazi kupina s dodatkom saharoze; CPK\_M – punila na bazi kupina s dodatkom maltoze; CPK\_T – punila na bazi kupina s dodatkom trehaloze

### 4.3. PARAMETRI BOJE PUNILA NA BAZI KUPINA

Pomoću  $L^*$  vrijednosti utvrđuje se da li je neki predmet taman ili svijetao. Sva tri uzorka imaju niže  $L^*$  vrijednosti tako da su relativno tamni. Između uzoraka s dodatkom saharoze i trehaloze ne postoji razlika, dok je uzorak s dodatkom maltoze nešto tamniji u odnosu na već spomenuta dva uzorka. Tijekom skladištenja došlo je do promjene  $L^*$  vrijednosti odnosno do povećanja tako da su uzorci posvijetlili.  $L^*$  vrijednost raste u smjeru saharoza - maltoza - trehaloza odnosno punilo s dodatkom saharoze je najtamnije a punilo s dodatkom trehaloze najsvjetlije. Parametar  $a^*$  koji definira crvenu boju, nakon pripreme uzoraka raste u smjeru saharoza - maltoza - trehaloza odnosno punilo s dodatkom saharoze je ima najmanje izraženu crvenu boju a punilo s dodatkom trehaloze najviše. Tijekom skladištenja došlo je značajnog opadanja  $a^*$  vrijednosti, odnosno gubitka crvene boje, što je bilo i vidljivo okom. Nakon skladištenja uzorci s dodatkom saharoze i trehaloze imali su podjednake  $a^*$  vrijednosti, ali veće u odnosu na uzorak pripremljen s dodatkom maltoze.  $b^*$  vrijednost definira žutu boju, i svi uzorci imaju pozitivnu vrijednost. Nakon pripreme uzoraka  $b^*$  vrijednost raste u smjeru saharoza - maltoza - trehaloza odnosno punilo s dodatkom saharoze ima najmanje izraženu žutu boju a punilo s dodatkom trehaloze najviše. Nakon skladištenja, mijenja se trend tako da uzorak s dodatkom maltoze ima najveću  $b^*$  vrijednost (a najmanju  $a^*$ ) a uzorci s dodatkom saharoze i trehaloze manju  $b^*$  vrijednost (a veću  $a^*$ ). Na temelju  $L^*$ ,  $a^*$  i  $b^*$  vrijednosti izračunata je i ukupna promjena boje nakon skladištenja. Kod svih uzoraka utvrđena je ukupna promjena boje u vrijednostima koje potvrđuju da je promjena boje vidljiva okom (**Tablica 9**). Najveća ukupna promjena boje utvrđena je za punilo pripremljeno s maltozom (7,61) a najmanja za punilo s dodatkom saharoze (6,19). Obzirom da se saharoza uobičajeno koristi u prehrambenoj industriji za pripremu proizvoda na bazi gela, za razliku od maltoze i trehaloze, izračunata je i ukupna promjena boje uzoraka s ovim disaharidima u odnosu na uzorak sa saharozom. Ova ukupna promjena boje je vrlo mala. Za uzorak s dodatkom trehaloze iznosi 0,99 a za uzorak s maltozom iznosi 0,60. Nakon skladištenja utvrđen je drugačiji trend, odnosno promjena boje za uzorak s dodatkom trehaloze iznosio je 0,88 a za uzorak s dodatkom maltoze 1,13.

Osim  $L^*$ ,  $a^*$  i  $b^*$  vrijednosti na kromametri su određeni i zasićenje ( $C^*$ ) i ton boje ( $^{\circ}h$ ). Nakon pripreme uzoraka  $C^*$  vrijednost raste u smjeru saharoza - maltoza - trehaloza odnosno punilo s dodatkom saharoze ima najmanje vrijednost a punilo s dodatkom trehaloze najveću. Tijekom skladištenja  $C^*$  opada, a najveću vrijednost je imao uzorak s dodatkom maltoze a najmanju

uzorak s dodatkom trehaloze. Ton boje odnosno °h vrijednost najveća je za uzorak s dodatkom trehaloze a najmanja za uzorak s dodatkom saharoze. Tijekom skladištenja došlo je do značajne promjene tona boje, odnosno vrijednosti su značajno porasle. Najveći porast vrijednosti °h utvrđen je za uzorak s dodatkom maltoze (48,18) dok su uzorci s dodatkom trhaloze i saharoze imali znatno niže vrijednosti tona boje (40,8).

**Tablica 9** Parametri boje (L\*, a\* i b\*) punila na bazi kupina i ukupna promjena boje nakon pripreme i nakon skladištenja

Uzorci	L*	a*	b*	ΔE	ΔEs
Nakon pripreme					
CPK_S	28,64±0,02 <sup>a</sup>	9,47±0,05 <sup>a</sup>	2,35±0,05 <sup>a</sup>		
CPK_M	28,36±0,03 <sup>b</sup>	9,94±0,02 <sup>b</sup>	2,59±0,02 <sup>b</sup>		0,60
CPK_T	28,67±0,01 <sup>a</sup>	10,39±0,01 <sup>c</sup>	2,72±0,02 <sup>c</sup>		0,99
Nakon skladištenja					
CPK_S	32,10±0,08 <sup>c</sup>	4,60±0,07 <sup>d</sup>	3,97±0,06 <sup>d</sup>	6,19	
CPK_M	32,87±0,02 <sup>d</sup>	4,17±0,04 <sup>e</sup>	4,66±0,06 <sup>e</sup>	7,61	1,13
CPK_T	32,96±0,08 <sup>d</sup>	4,46±0,05 <sup>d</sup>	3,88±0,06 <sup>d</sup>	7,41	0,88

Vrijednosti u istom stupcu označene različitim slovima su statistički različite.

CPK\_S – punila na bazi kupina s dodatkom saharoze; CPK\_M – punila na bazi kupina s dodatkom maltoze; CPK\_T – punila na bazi kupina s dodatkom trehaloze; ΔE – ukupna promjena boje skladištenih uzoraka u odnosu na početne uzorke; ΔEs – ukupna promjena boje uzoraka s trehalozom i maltozom u odnosu na uzorak sasaharozom

**Tablica 10** Parametri boje (°h i C\*) punila na bazi kupina nakon pripreme i nakon skladištenja

Uzorci	°h	C*
Nakon pripreme		
CPK_S	13,95±0,21 <sup>d</sup>	9,76±0,06 <sup>c</sup>
CPK_M	14,60±0,11 <sup>c</sup>	10,27±0,02 <sup>b</sup>
CPK_T	14,68±0,11 <sup>c</sup>	10,74±0,01 <sup>a</sup>
Nakon skladištenja		
CPK_S	40,76±0,29 <sup>b</sup>	6,07±0,02 <sup>e</sup>
CPK_M	48,18±0,15 <sup>a</sup>	6,25±0,07 <sup>d</sup>
CPK_T	40,97±0,13 <sup>b</sup>	5,91±0,07 <sup>f</sup>

Vrijednosti u istom stupcu označene različitim slovima su statistički različite.

CPK\_S – punila na bazi kupina s dodatkom saharoze; CPK\_M – punila na bazi kupina s dodatkom maltoze; CPK\_T – punila na bazi kupina s dodatkom trehaloze

#### 4.4. HLAPLJIVE KOMPONENTE U PUNILIMA NA BAZI KUPINA

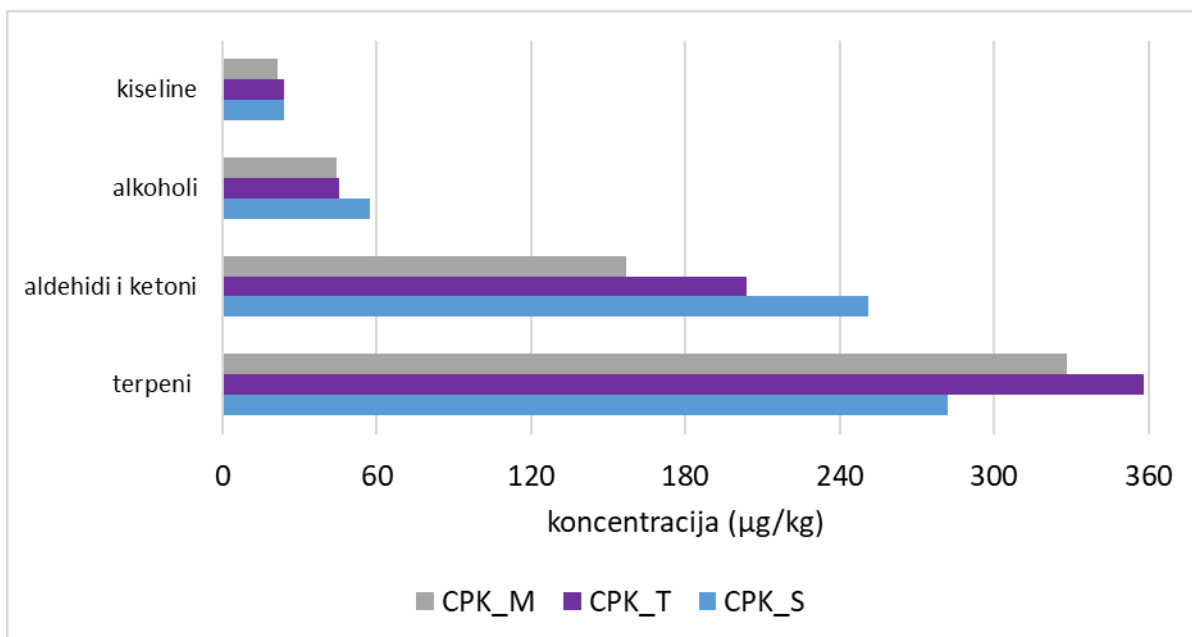
U **Tablici 11** prikazane su identificirane hlapljive komponente u soku kupine i u punilima na bazi kupine. U soku je identificirano 19 hlapljivih komponenata a u punilima 28, odnosno jedan dio komponenata u punilima potječe od citrus vlakna. Komponente su podijeljene u 4 skupine: alkohole, kiseline, aldehide i ketone te terpene te su na Slikama 15 i 16 prikazane koncentracije hlapljivih komponenata prema navedenim skupinama.

**Tablica 11** Prikaz hlapljivih komponenata identificiranih u soku kupine i u punilima na bazi kupine

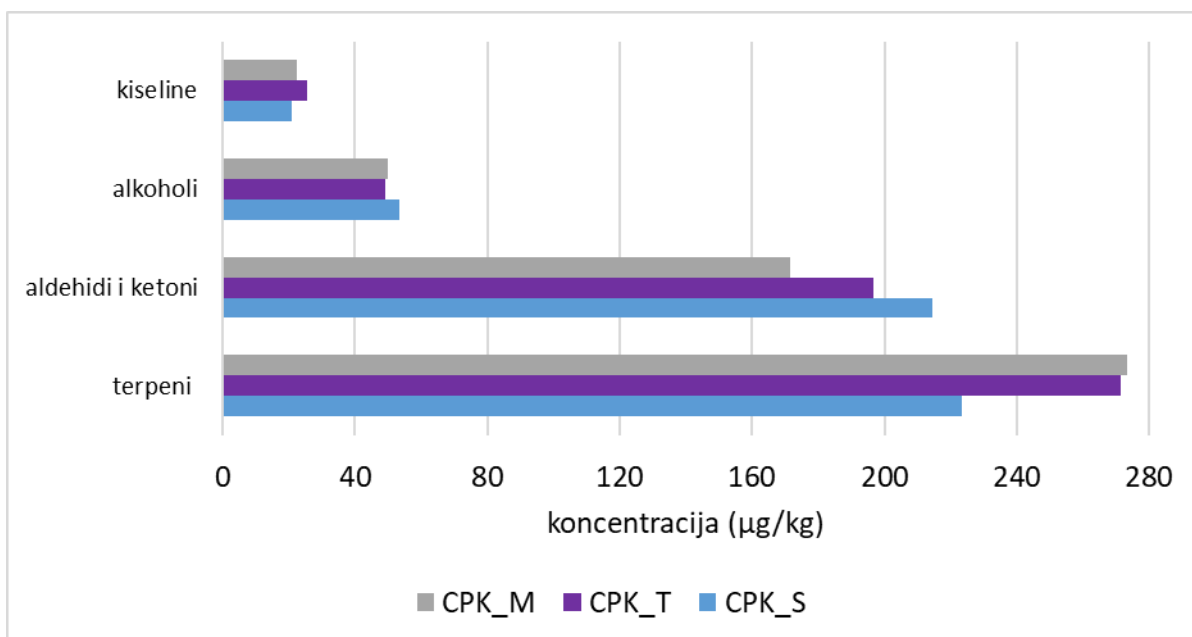
Komponente	Sok	Punila	RT	RI
2-etil heksanol	+	+	19,96	1030
Benzil alkohol	-	+	20,11	1037
1-oktanol	+	+	22,48	1071
Fenetil alkohol	+	+	24,6	1103
Perilil alkohol	+	+	33,93	1290
Heksanska kiselina	-	+	18,54	1005
Nonanska kiselina	+	+	33,49	1281
Heksanal	-	+	5,13	800
Heptanal	+	+	10,76	897
1-okten-3-on	-	+	16,46	982
6-metil-5-hepten-2-on	-	+	17,11	987
Oktanal	-	+	18,08	998
2-oktenal	+	+	21,49	1054
2-nonenal	-	+	27,11	1155
Dekanal	-	+	29,50	1200
2,4-nonadienal	+	+	29,86	1205
2-dekenal	+	+	32,23	1255
Geranil aceton	+	+	39,598	1448
Lili aldehid	+	+	41,15	1519
D-limonen	+	+	19,41	1018
Gvajakol	+	+	23,17	1080
Linalool	+	+	23,96	1096
Trans-verbenol	+	+	25,72	1129
Nerol	+	+	30,63	1222
Felandral	-	+	32,61	1264
$\alpha$ -jonon	+	+	38,95	1420
$\gamma$ -jonon	+	+	40,18	1473
$\beta$ -jonon	+	+	40,34	1480

Terpeni te aldehidi i ketoni su bili najzastupljenije skupine komponenata u uzorcima. Uzorak s trehalozom je imao najveću koncentraciju terpena (358,1  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ), dok je uzorak sa saharozom

imao najmanji udio ovih spojeva (281,9 µg/kg). Najveću koncentraciju aldehida i ketona imao je uzorak sa saharozom (250,9 µg/kg), dok je uzorak s maltozom imao najmanji udio ovih spojeva (157 µg/kg). Također je uzorak sa saharozom imao i najveću koncentraciju alkohola (57 µg/kg) dok su preostala dva uzorka imala podjednaku koncentraciju ovih komponenata (45 µg/kg). Što se tiče kiselina, uzorci s trehalozom i saharozom su imali jednake koncentracije (24 µg/kg) dok je uzorak s maltozom imao nešto nižu koncentraciju kiselina (21 µg/kg). Nakon skladištenja došlo je do promjene koncentracije hlapljivih komponenata. Uzorci s trehalozom i maltozom imali su jednake koncentracije terpena (272 µg/kg) dok je uzorak sa saharozom imao manju koncentraciju (223 µg/kg). Što se tiče aldehida i ketona, oni su utvrđeni u najvećoj koncentraciji u uzorku sa saharozom (214,4 µg/kg) a u najmanjoj u uzorku s maltozom (171,7 µg/kg). Uzorak sa saharozom imao je najveću koncentraciju alkohola (53,5 µg/kg) dok su preostala dva uzorka imala podjednaku koncentraciju ovih komponenata (49 µg/kg). Kiselina je utvrđeno u najvećoj koncentraciji u uzorku s trehalozom (25,6 µg/kg) a u najmanjoj u uzorku sa saharozom (20,9 µg/kg). Sveukupno gledajući, uzorak s trehalozom je imao najveću koncentraciju ukupne arome a uzorak s maltozom najmanju. Nakon skladištenja koncentracija ukupne arome se je smanjila ali uzorak s trehalozom je i dalje imao najveću koncentraciju ukupne arome, dok su preostala dva uzorka imala podjednaku koncentraciju. Izračunom doprinosa pojedinih skupina ukupnoj aromi, utvrđeno je da u svim uzorcima najveći doprinos imaju terpeni samo u različitim omjerima. U uzorcima s maltozom njihov doprinos je 60%, u uzorcima s trehalozom 57% a u uzorcima sa saharozom 46%. Aldehidi i ketoni također imaju visok doprinos ukupnoj aromi. Njihov doprinos najveći je u uzorcima sa saharozom (41%), zatim trehalozom (38%) a najmanji u uzorcima s maltozom (28%). Alkoholi su u svim uzorcima bili zastupljeni u ukupnoj aromi s oko 8% a kiseline s 4%. Nakon skladištenja udio terpena u ukupnoj aromi se je smanjio kod sva tri uzorka, a udio aldehida i ketona povećao. U uzorcima s maltozom njihov doprinos je 53%, u uzorcima s trehalozom 50% a u uzorcima sa saharozom 44%. Doprinos aldehida i ketona bio je najveći u uzorcima sa saharozom (42%), zatim trehalozom (36%) a najmanji u uzorcima s maltozom (33%). Alkoholi su u svim uzorcima bili zastupljeni u ukupnoj aromi s oko 10% a kiseline s 5%, nešto više nego nakon pripreme uzoraka.



**Slika 15** Koncentracija hlapljivih komponenata po skupinama u punilima na bazi kupina nakon pripreme



**Slika 16** Koncentracija hlapljivih komponenata po skupinama u punilima na bazi kupina nakon skladištenja

U **Tablici 12** prikazani su rezultati određivanja terpena (skupine komponenata koja je određena u najvećoj koncentraciji u punilima) nakon pripreme i nakon skladištenja, a ujedno su prikazani rezultati navedenih terpena u soku kupine. D-limonen je terpen koji se nalazi u najvećoj koncentraciji u punilima, i u odnosu na druge terpeene, njegova koncentracija je značajno veća. Također je iz prikazanih rezultat vidljivo, da je koncentracija ovog terpena

značajno veća u odnosu na sok što znači da vjerojatno najveći dio limonena potječe s citrus vlakana. Usporedbom punila vidljivo je da koncentracija limonena opada u smjeru trehaloza > maltoza > saharoza. Nakon skladištenja, došlo je do smanjenja koncentracije limonena te punila s trehalozom i maltozom imaju podjednaku koncentraciju a punilo sa saharozom manju koncentraciju limonena. Felandral je terpen koji nije identificiran u soku ali je identificiran u punilima. Nešto veća koncentracija ovog terpena utvrđena je u punilu sa saharozom, dok su preostala dva punila imala jednaku koncentraciju. Nakon skladištenja došlo je do smanjenja koncentracije ovog terpena a najveću koncentraciju su imala punila sa saharozom i trehalozom. Svi ostali terpeni su utvrđeni u većoj koncentraciji u soku kupine nego u punilima. Koncentracija gvajakola opada u smjeru saharoza > trehaloza > maltoza. Nakon skladištenja došlo je do smanjenje koncentracije gvajakola ali razlika između punila nije utvrđena. Koncentracija linalola nakon pripreme i nakon skladištenja punila prati trend gvajakola. Trans-verbenol je utvrđen u najvećoj koncentraciji u punilu sa saharozom dok su preostala dva punila imala jednaku koncentraciju. Utvrđeno je da je ovaj terpen relativno stabilan tijekom skladištenja. Koncentracija nerola opada u smjeru saharoza > trehaloza > maltoza te je nakon skladištenja zadržan isti trend.  $\alpha$ -jonon i  $\beta$ -jonon su nakon pripreme punila imali isti trend odnosno najveća koncentracija je utvrđena u punilima s dodatkom saharoze i trehaloze, dok je nakon skladištenja utvrđen drugačiji trend. Koncentracija  $\alpha$ -jonona je u svim uzorcima bila jednaka, a koncentracija  $\beta$ -jonona se je smanjivala u smjeru trehaloza > saharoza > maltoza. Nakon pripreme punila, koncentracija  $\gamma$ -jonona bila je nešto veća u punilu sa saharozom, dok su preostala dva uzorka imala jednaku koncentraciju. Nakon skladištenja punilo s trehalozom je imalo najveću koncentraciju ovog terpena.



**Tablica 12** Koncentracije pojedinih terpena u soku kupine i punilima na bazi kupina nakon pripreme i nakon skladištenja

Terpeni	Sok	Nakon pripreme		
		CPK_S	CPK_M	CPK_T
D-limonen	7,37±0,13	240,29±0,89 <sup>c</sup>	293,81±1,47 <sup>b</sup>	320,03±7,46 <sup>a</sup>
Gvajakol	104,17±1,80	6,97±0,06 <sup>a</sup>	5,30±0,10 <sup>c</sup>	6,09±0,10 <sup>b</sup>
Linalool	23,39±0,42	16,26±0,07 <sup>a</sup>	14,78±0,03 <sup>c</sup>	15,63±0,02 <sup>b</sup>
Trans-verbenol	43,40±0,46	3,41±0,12 <sup>a</sup>	2,58±0,04 <sup>b</sup>	2,68±0,03 <sup>b</sup>
Nerol	20,25±0,61	3,42±0,18 <sup>a</sup>	2,60±0,16 <sup>c</sup>	2,89±0,20 <sup>b,c</sup>
Felandral	-	4,99±0,04 <sup>a</sup>	4,14±0,03 <sup>b</sup>	4,39±0,18 <sup>b</sup>
α-jonon	13,10±0,44	1,62±0,03 <sup>a</sup>	0,83±0,01 <sup>b</sup>	1,68±0,01 <sup>a</sup>
γ-jonon	4,18±0,43	2,80±0,13 <sup>a</sup>	2,52±0,05 <sup>a</sup>	2,56±0,01 <sup>a</sup>
β-jonon	2,58±0,11	2,15±0,03 <sup>a</sup>	1,83±0,02 <sup>b</sup>	2,10±0,01 <sup>a</sup>
		Nakon skladištenja		
D-limonen		189,56±5,68 <sup>b</sup>	241,51±3,95 <sup>a</sup>	237,80±2,60 <sup>a</sup>
Gvajakol		5,22±0,21 <sup>a</sup>	5,21±0,37 <sup>a</sup>	5,72±0,19 <sup>a</sup>
Linalool		13,83±0,24 <sup>a</sup>	13,73±0,16 <sup>a</sup>	13,47±0,04 <sup>a</sup>
Trans-verbenol		3,12±0,03 <sup>a</sup>	2,69±0,02 <sup>b</sup>	2,35±0,01 <sup>c</sup>
Nerol		3,00±0,10 <sup>a</sup>	2,30±0,08 <sup>c</sup>	2,79±0,01 <sup>b</sup>
Felandral		3,48±0,19 <sup>a</sup>	3,08±0,03 <sup>b</sup>	3,35±0,01 <sup>a</sup>
α-jonon		1,37±0,02 <sup>a</sup>	1,33±0,02 <sup>a</sup>	1,38±0,00 <sup>a</sup>
γ-jonon		2,42±0,19 <sup>b</sup>	2,41±0,03 <sup>b</sup>	2,91±0,14 <sup>a</sup>
β-jonon		1,43±0,02 <sup>b</sup>	1,25±0,00 <sup>c</sup>	1,65±0,01 <sup>a</sup>

CPK – punilo na bazi citrus vlakna i kupine; S – dodatak saharoze; M – dodatak maltoze; T – dodatak trehaloze.

Vrijednosti u istom stupcu označene različitim slovima su statistički različite.

## **5. ZAKLJUČCI**

Na osnovi rezultata istraživanja provedenih u ovom radu, mogu se izvesti sljedeći zaključci:

1. Tip šećera utječe na količinu ukupnih fenola i proantocijanidina u punilima na bazi kupina, ali i na njihovo zadržavanje tijekom skladištenja. Najviše ukupnih fenola i prije i nakon skladištenja nalazi se u punilima pripremljenim s trehalozom. Najviše proantocijanidina prije skladištenja se nalazi u uzorku s maltozom, a nakon skladištenja u uzorku sa trehalozom. Tijekom skladištenja dolazi do gubitka fenola i proantocijanidina. Najveći gubitak fenola vidljiv je u punilu pripremljenom s saharozom, najmanji gubitak proantocijanidina je u uzorku sa saharozom.
2. DPPH, ABTS, FRAP i CUPRAC metode su korištene za određivanje antioksidacijske aktivnosti. Veću antioksidacijsku aktivnost imali su uzorci sa saharozom. ABTS, FRAP, CUPRAC metode pokazale su da najveću antioksidacijsku aktivnost prije skladištenja imaju uzorci sa saharozom, a prema DPPH metodi najveću antioksidacijsku aktivnost ima uzorak s maltozom. Nakon skladištenja najveću antioksidacijsku aktivnost prema DPPH i CUPRAC imaju uzorci sa trehalozom, a uzorci sa saharozom prema FRAP metodi ima najveću antioksidacijsku aktivnost, dok ABTS metoda pokazuje da je to uzorak sa maltozom i onaj sa saharozom.
3. Parametri su utvrđeni na kromametri. Prije skladištenja najtamnije je punilo s dodatkom maltoze, crvena boja je najizraženija kod uzorka s saharozom, žuta boja, zasićenje i porast tona boje je najveće kod punila sa trehalozom. Nakon skladištenja najtamnije je punilo s dodatkom saharoze, crvena boja je najizraženija kod uzorka s saharozom i s trehalozom, žuta boja, zasićenje i porast tona boje je najveće kod punila sa maltozom.
4. Hlapljive komponente koje potječu iz soka, punila i citrusa svrstane su u nekoliko kategorija: kiseline, alkohole, terpene i aldehide i ketone. Prije skladištenja u punilima sa saharozom najzastupljeniji spojevi su alkoholi i aldehidi i ketoni, a u punilima s trehalozom terpeni. Kiseline su najzastupljenije u punilima sa trehalozom i u punilima s saharozom. Nakon skladištenja u punilima s trehalozom najzastupljenije su kiseline, u punilima sa maltozom najzastupljeniji su terpeni, a u punilima sa saharozom najzastupljeniji su alkoholi i aldehidi i ketoni. Aromi najviše doprinose terpeni, zatim aldehidi i ketoni pa alkoholi. Prije i nakon skladištenja najveću ukupnu aromu imaju punila sa trehalozom. Najmanju ukupnu

aromu prije skladištenja ima punilo s maltozom, a nakon skladištenja uzorak s najmanju ukupnu aromu imaju podjednako uzorci s maltozom i sa saharozom.

## **6. LITERATURA**

- Aaby K, Wrolstad RE, Ekeberg D, Skrede G: Polyphenol composition and antioxidant activity in strawberry purees; impact of achene level and storage. *Journal of Agricultural Food Chemistry* 55: 5156–5166, 2007.
- Amidžić Klarić D, Klarić I, Velić D, Velić N, Marček T: Evaluation of quercetin content, colour and selected physico-chemical quality parameters of Croatian blackberry wines. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences* 67(1): 75–83, 2017.
- Baby B, Antony P, Vijayan R: Antioxidant and anticancer properties of berries. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 58(15): 2491-2507, 2017.
- Berend S, Grabarić Z: Određivanje polifenola u namirnicama metodom ubrizgavanja u protok, *Arhiv za higijenu rada i toksikologiju* 59:205-212, 2008.
- Du X, Finn CE, Qian MC: Volatile composition and odour-activity value of thornless 'Black Diamond' and 'Marion' blackberries. *Food Chemistry* 119(3): 1127-1134, 2010F.
- Fan L, Wang Y, Xie P, Zhang L, Li Y, Zhou J: Copigmentation effects of phenolics on color enhancement and stability of blackberry wine residue anthocyanins: chromaticity, kinetics and structural simulation. *Food Chemistry* 275: 299-308, 2019.
- Gaćina N: Alternativne sirovine prehrambenih vlakana. *Stručni rad*, Veleučilište u Šibeniku, Šibenik, 2014.
- Escarpa A, Gonzalez MC: an overview of analytical chemistry of phenolic compounds in foods, *Critical Reviews in Analytical Chemistry* 31(2): 57-139, 2010.
- Hardman WE: Diet components can suppress inflammation and reduce cancer risk. *Nutrition Research and Practice* 8(3): 233 - 240, 2014.
- Georgilopoulos DN, Gallois AN: Flavour compounds of a commercial concentrated blackberry juice. *Food Chem & try* 2: 141 - 148, 1988.
- Jakobek L: Karakterizacija polifenola u voću i njihov utjecaj na antioksidacijsku aktivnost voća. *Doktorski rad*, Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek, 2007.
- Jakobek L, Šeruga M, Novak I, Medvidović-Kosanović M, Lukačević I: Antioksidacijska aktivnost polifenola iz borovnice i jagode. *Pomologija Croatica* 14(1): 13 - 26, 2008.

- Jašić M: *Materijali uz predavanja na kolegiju „Uvod u biološki aktivne komponente hrane“*, Tehnološki fakultet, Tuzla, 2010.
- Komes D, Belščak – Cvitanović A, Škrabal S, Vojvodić A, Bušić A: The influence of dried fruits enrichment on sensory properties of bitter and milk chocolates and bioactive content of their extracts affected by different solvents. *LWT Food Science and Technology* 53: 360 – 369, 2013.
- Krešić G: *Trendovi u prehrani*. Fakultet za menadžment u turizmu i ugostiteljstvu, Opatija, 2012.
- Krivak P: Utjecaj različitih skupina polifenolnih spojeva prisutnih u aroniji na njezinu antiradikalnu aktivnost. *Diplomski rad*, PTF, 2010.
- Kurtagić H: Polifenoli i flavonoidi u medu, Hrana u zdravlju i bolesti. *Znanstveno-stručni časopis za nutricionizam i dijetetiku* 6(1): 28-35, 2017.
- Luthria DL: Perspective significance of sample preparation in developing analytical methodologies for accurate estimation of bioactive compounds in functional foods. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 86: 2266 – 2272, 2006.
- Manach C, Scalbert A, Morand C, Rémésy C, Jiménez L: Polyphenols: Food sources and bioavailability. *The American Journal of Clinical Nutrition* 79: 727-747, 2004.
- Mandić ML: *Znanost o prehrani*. Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek, Osijek, 2003.
- Mandić M i Nosić M: *Funkcionalna svojstva prehrambenih vlakana*. Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek, Osijek, 2009.
- Morrison RT, Boyd RN: *Organska kemija*. Sveučilišna naklada Liber, Zagreb, 1979.
- Mratinić E: *Kupina*. Partenon, Beograd, 2015.
- Noller CR: *Kemija organskih spojeva*. Tehnička knjiga, Zagreb, 1973.
- Ohtake S, Wang YJ : Trehalose: current use and future applications. *Journal of Pharmaceutical Sciences* 100(6): 2020-2053, 2011.
- Okantan V: Antioxidant properties and phenolic profile of the most widely appreciated cultivated berry species: a comparative study. *Folia Horticulturae* 32(1): 79-85, 2020.
- Pine SH : *Organska kemija*. Školska knjiga, Zagreb, 1994.

- Raufa A, Imranb M, Abu-Izneidc T, Ul-Haqd I, Patele S, Panf X, Nazg S, Sanches Silvah A, Saeedi F, Suleria HAR: Proanthocyanidins: a comprehensive review. *Biomedicine & Pharmacotherapy* 116: 108999, 2019.
- Repajić M, Markov K, Frece J, Vujević P, Ćurić D, Levaj B: Studija kvalitete plodova više vrsta jagodastog voća tijekom skladištenja. *Glasnik Zaštite Bilja* 42(4): 68-81, 2019.
- Schulz M, Freitas JC: Nutritional and bioactive value of rubus berries. *Food Bioscience* volume 31, 100438, 2019.
- Sellappan S, Akoh CC, Krewer G: Phenolic compounds and antioxidant capacity of georgia-grown blueberries and blackberries. *Journal od Agricultural Food Chemistry* 50: 2432–2438, 2002.
- Šatalić Z, Sorić M, Mišigoj-Duraković M: *Sportska prehrana*. Znanje, Zagreb, 2016.
- Tomić A, Puhelek I, Mihaljević Žulj M, Jeromel A: Senzorna svojstva voćnih vina proizvedenih od kupina sorte Thornfree. *Glasnik zaštite bilja* 39(3): 38-43, 2016.
- Turemis N, Kafkas E, Kafkas S, Kurkcuoglu M i Baser KHC: Determination of aroma compounds in blackberry by gc/ms analysis. *Chemistry of Natural Compounds* 39(2): 174-176, 2003.
- Velić D, Velić N, Amidžić Klarić D, Petravić Tominac V, Klarić I, Banović M: Reinventing the traditional products - the case of blackberry wine. *Food in Health and Disease, scientific-professional journal of nutrition and dietetics* 8(1): 58-66, 2019.
- Volčević B: *Jagoda, malina, kupina*. Neron, Bjelovar, 2005.
- Wade LG: *Organska kemija*. Školska knjiga, Zagreb, 2017.
- Webb GP: *Dietary supplements and functional foods*. Blackwell Publishing, 2006.  
[https://www.academia.edu/8554057/Dietary\\_Supplements\\_and\\_Functional\\_Foods](https://www.academia.edu/8554057/Dietary_Supplements_and_Functional_Foods)  
[7.9.2020.]
- Web izvor 1: <http://www.urbangarden.rs/proizvod/rubus-in-varieta-kupina/> [7.9.2020.]
- Web izvor 2: <https://blog.vecernji.hr/dodir-prirode/divlje-kupine-divlja-strana-djetinjstva-8507> [7.9.2020.]
- Web izvor 3: <http://ba.bjherbest.com/analytical-standard/flavones/cyanidin-3-o-glucoside-7084-24-4.html> [7.9.2020.]



Web izvor 4: <https://hr.betweenmates.com/difference-between-glucose> [7.9.2020.]

Web izvor 5: <https://maximumportal.com/prehrana/Ogljikovi%20hidrati/1/14/254/1/Oligosaharidi/> [7.9.2020.]

Web izvor 6: <https://gstmo591012.weebly.com/maltoza#> [7.9.2020.]

Web izvor 7: <https://repositorij.unizg.hr/islandora/object/pmf:1768/preview> [7.9.2020.]

Zorzi M, Gai F, Medana C, Aigotti R, Morello S, Peiretti PG: Bioactive compounds and antioxidant capacity of small berries. *Foods* 9(5): 623, 2020.

Živković R: *Hranom do zdravlja*. Medicinska naklada, Zagreb, 2000.