



УНИВЕРЗИТЕТ „СВ. КЛИМЕНТ ОХРИДСКИ“- БИТОЛА
ФАКУЛТЕТ ЗА БИОТЕХНИЧКИ НАУКИ - БИТОЛА



М-р Јовица Момирчески

**„ТЕХНОЛОГИЈА НА ПРОИЗВОДСТВО И
АНТИОКСИДАТИВНА АКТИВНОСТ НА СОРТИТЕ
МАЛИНА PRIMAЛВА И WILLAMETTE“**

- ДОКТОРСКА ДИСЕРТАЦИЈА -

Битола, 2024

МЕНТОР:

Д-р Цулијана Томовска

- редовен професор на Факултет за биотехнички науки – Битола,
Универзитет „Св. Климент Охридски” – Битола

ЧЛЕНОВИ НА РЕЦЕНЗЕНТСКА КОМИСИЈА:

Д-р Мила Арапческа

- редовен професор на Факултетот за биотехнички науки - Битола,
Универзитет „Св. Климент Охридски” – Битола

Д-р Јелена Машковиќ

- вонреден професор на Агрономски факултет - Чачак,
Универзитет во Крагујевац, РСрбија.

Д-р Билјана Трајковска

- вонреден професор на Факултетот за биотехнички науки - Битола,
Универзитет „Св. Климент Охридски” - Битола

Д-р Борче Макаријоски

- вонреден професор на Факултетот за биотехнички науки - Битола,
Универзитет „Св. Климент Охридски” - Битола

ДАТУМ НА ОДБРАНА:

ДАТУМ НА ПРОМОЦИЈА:

НАУЧНА ОБЛАСТ: БИОТЕХНИЧКИ НАУКИ

ИЗЈАВА ЗА ОРИГИНАЛНОСТ НА ТРУДОТ

Јас, М-р Јовица Момирчески, кандидат за одбрана на докторската дисертација со наслов „ТЕХНОЛОГИЈА НА ПРОИЗВОДСТВО И АНТИОКСИДАТИВНА АКТИВНОСТ НА СОРТИТЕ МАЛИНА PRIMAЛВА И WILLAMETTE” под морална, материјална и друга одговорност

ИЗЈАВУВАМ

дека при изработката на трудот ги почитувам позитивните законски прописи од областа на заштитата на интелектуалната сопственост и не користев трудови на други автори без да бидат почитувани пропишаните методолошки стандарди. Користената литература достоино ја бележев во подбелешките и во литературата, составен дел на темата.

Тоа значи дека трудот е оригинален, не е плагијат.

Битола, _____ 2024 год.

Кандидат: М-р Јовица Момирчески

БЛАГОДАРНОСТ

Мојата докторска дисертација ја посветувам на моето семејство и сакам воедно бескрајно да им се заблагодарам за нивната неизмерна поддршка и верба за сите мои залагања за завршување на ова научно дело. Неизмерно им се заблагодарувам за нивната поддршка, разбирање за моето одсуство и пропуштените заеднички моменти при изработка на оваа докторска дисертација.

Голема благодарност изразувам до мојот ментор, проф. д-р Џулијана Томовска, што ме поттикна кон изработка на докторска дисертација на тема која е актуелна и доста значајна, за нејзината крајна посветеност во изготвување на сите фази од оваа дисертација, како и на сите членови од рецензентската комисија за текот на изработката и за одбрана на дисертацијата.

Се заблагодарувам и на Советот на докторски студии како и на Наставно-научниот совет, кој одлучи да работам на оваа тема што за мене е од посебен интерес, како од стручен, така и од научен карактер.

Сакам да изразам благодарност до сите кои ми помогнаа при реализирањето на мојата докторска дисертација и придонесоа истата да ја добие потребната форма и содржина со која ќе биде презентирана.

Посебно, голема благодарност до проф. д-р Александар Лепосавич и проф. д-р Павле Машкович кои со стручен материјал и со совети помогнаа мојот труд да биде труд со оригинален карактер.

СОДРЖИНА:

ЛИСТА НА ТАБЕЛИ

ЛИСТА НА ГРАФИКОНИ

ЛИСТА НА СЛИКИ

ЛИСТА НА КРАТЕНКИ

АПСТРАКТ

ABSTRACT

1. ВОВЕД.....	1
2. ПРЕГЛЕД НА ЛИТЕРАТУРА.....	3
2.1. ЗНАЧЕЊЕ НА МАЛИНАТА НИЗ МИНАТОТО И ДЕНЕС	3
2.2. МОРФОЛОШКИ КАРАКТЕРИСТИКИ НА ЦРВЕНАТА МАЛИНА	5
2.2.1. Нарушување на процесот на формирање плод	7
2.3. ХЕМИСКИ СОСТАВ НА МАЛИНАТА.....	9
2.4. КАРАКТЕРИСТИКИ КОИ ВЛИЈААТ ВРЗ КВАЛИТЕТОТ НА МАЛИНАТА ...	12
2.5. КЛАСИФИКАЦИЈА НА СОРТИТЕ МАЛИНИ.....	15
2.5.1. Едногодишни сорти	15
2.5.2. Двегодишни сорти	16
2.6. ОДГЛЕДУВАЊЕ МАЛИНИ	17
2.6.1. Производство во тунели	20
2.6.2. Болест и управување со штетници	21
2.7. УСЛОВИ ЗА РАСТЕЊЕ.....	22
2.7.1. Ѓубрење на малината	24
2.7.2. Берба и ракување.....	25
2.7.2.1. Берба на малини.....	26
2.7.2.2. Одредување на индексот на зрелост.....	27
2.7.3. Пакување.....	28
2.7.4. Предладење.....	28
2.7.5. Складирање.....	29
2.7.5.1. Температура	30

2.7.5.2. Модифицирана и контролирана атмосфера.....	31
2.7.6. Шема за сертификација за здравјето на растенијата малина.....	32
2.8. МОЖНОСТИ И ПЕРСПЕКТИВИ ЗА ОДГЛЕДУВАЊЕ И ПРОИЗВОДСТВО НА МАЛИНИ ВО РС МАКЕДОНИЈА	34
2.8.1. Почвено-климатски услови за успешно одгледување на малини	34
2.8.2. Подготовка на површината за садење.....	36
2.8.3. Размерување на површината и садење.....	36
2.8.4. Обезбедување со квалитетен материјал за садење	36
2.9. СЕКУНДАРНИ МЕТАБОЛИТИ И ПИГМЕНТИ ВО ПЛОДОТ НА МАЛИНАТА	39
2.9.1. Полифеноли.....	41
2.9.1.1. Полифенолен состав на црвената малина	44
2.9.2. Антоцијани	45
2.9.3. Биорасположивост на антиоксидативи од малина.....	47
2.9.4. Оксидативен стрес	48
2.9.4.1. Липидна пероксидација	51
2.9.5. Влијание на антиоксидатите врз здравјето на човекот	52
2.9.6. Влијание на генетските фактори и условите во надворешната средина врз антиоксидативните карактеристики на малините.....	54
2.9.7. Промени во содржината на биоактивни материи после берба на малината	55
3. ЦЕЛИ И ЗАДАЧИ НА ИСТРАЖУВАЊЕ	56
3.1. ПРОБЛЕМ И ПРЕДМЕТ НА ИСТРАЖУВАЊЕ	56
3.2. ЦЕЛИ НА ИСТРАЖУВАЊЕТО	58
4. МАТЕРИЈАЛИ И МЕТОДИ.....	60
4.1. АНАЛИЗА НА ФИЗИЧКО-ХЕМИСКИТЕ КАРАКТЕРИСТИКИ НА ПОЧВАТА	60
4.2. АНАЛИЗА НА МОРФОЛОШКИТЕ КАРАКТЕРИСТИКИ НА ПЛОДОВИТЕ И СЕМЕТО ОД СОРТИТЕ МАЛИНА PRIMALVA И WILLAMETTE	63

4.3. АНАЛИЗА НА ХЕМИСКИОТ СОСТАВ, СОДРЖИНАТА НА ПОЛИФЕНОЛИ И ФЕНОЛНИОТ ПРОФИЛ НА ЕКСТРАКТИ ОД ПЛОДОВИТЕ НА СОРТИТЕ МАЛИНА PRIMALVA И WILLAMETTE	64
4.3.1. Растителен материјал.....	64
4.3.2. Хемикалии, реагенси и инструменти	65
4.3.3. Подготовка на растителните екстракти	66
4.3.3.1. Мацерација.....	66
4.3.3.2. Екстракција со Soxhlet	67
4.3.3.3. Екстракција со ултразвук.....	67
4.3.4. Одредување на приносот на добиени екстракти.....	68
4.3.5. Одредување на содржината на вкупни феноли.....	68
4.3.6. Одредување на содржината на флавоноиди	69
4.3.7. Одредување на содржина на антоцијани	69
4.3.8. HPLC анализа на екстрактите од малина.....	70
4.4. АНАЛИЗА НА БИОХЕМИСКАТА АКТИВНОСТ НА ЕКСТРАКТИ ОД ПЛОДОВИТЕ НА СОРТИТЕ МАЛИНА PRIMALVA И WILLAMETTE	72
4.4.1. Одредување на антиоксидативната активност.....	72
4.4.1.1. Одредување на вкупна антиоксидативна активност.....	73
4.4.1.2. Одредување на антиоксидативна активност со мерење на инхибиторна активност на ниво на липидна пероксидација	73
4.4.1.3. Одредување на антиоксидативната активност на ниво на хидроксил радикали.....	74
4.4.1.4. Одредување на антиоксидативна активност со DPPH.....	75
4.4.1.5. Одредување на антиоксидативна активност со ABTS.....	76
4.4.2. Одредување на антимицробна активност	77
4.4.2.2. Подготовка на бактериска клеточна суспензија.....	77
4.4.2.3. Определување на антимицробната активност	78
4.4.3. Определување на цитотоксичната активност.....	79

4.5. СТАТИСТИЧКА ОБРАБОТКА НА РЕЗУЛТАТИТЕ	81
5. РЕЗУЛТАТИ	82
5.1. ТЕХНОЛОГИЈА ЗА ПРОИЗВОДСТВО НА МАЛИНИ.....	82
5.1.1. Анализа на физичко-хемиските карактеристики на почвата.....	82
5.1.2. Морфолошки карактеристики на плодовите и семето од сортите малина Primalba и Willamette.....	88
5.2. АНАЛИЗА НА ХЕМИСКИОТ СОСТАВ НА ПЛОДОВИТЕ ОД СОРТИТЕ МАЛИНА PRIMALBA И WILLAMETTE	91
5.2.1. Хемиски состав на плодот од сортите малина Primalba и Willamette....	91
5.2.2. Анализа на вкупни феноли и фенолен профил на екстракти од плодовите на сортите малина primalba и willamette.....	92
5.3. БИОХЕМИСКА АКТИВНОСТ НА ЕКСТРАКТИТЕ ОД СОРТИТЕ МАЛИНА PRIMALBA И WILLAMETTE	107
5.3.1. Антиоксидативен капацитет на екстрактите од сортите малина Primalba и Willamette	107
5.3.2. Антимикробна активност на екстрактите од сортите малина Primalba и Willamette	112
5.3.3. Цитотоксична активност на екстрактите од сортите малина Primalba и Willamette	114
5.4. КОЕФИЦИЕНТ НА КОРЕЛАЦИЈА ПОМЕЃУ АНАЛИЗИРАНИТЕ ПАРАМЕТРИ ВО ЕКСТРАКТИТЕ ОД СОРТИТЕ МАЛИНА PRIMALBA И WILLAMETTE.....	118
6. ДИСКУСИЈА	122
7. ЗАКЛУЧОК.....	133
КОРИСТЕНА ЛИТЕРАТУРА	135
ПРИЛОЗИ.....	155

ЛИСТА НА ТАБЕЛИ

Табела 1 – Хемиски состав на на црвената малина	10
Табела 2 – Методи/инструменти користени за анализа на почвата	62
Табела 3 – Хемиска анализа на почвата во ноември, 2018 година.....	82
Табела 4 – Хемиски анализи на почвата во март, 2023 година	86
Табела 5 – Хемиски анализи на почвата во февруари, 2023 година – компаративна студија.....	88
Табела 6 – Студентов t-тест на морфолошки карактеристики на плодовите од сортите малина Primalba и Willamette.....	89
Табела 7 – Морфолошки карактеристики на семето од плодовите на сортите малина Primalba и Willamette.....	90
Табела 8 – Равенки на калибрациони криви и параметри на валидација (HPLC-DAD анализа)	93
Табела 9 – Содржина на полифенолни соединенија во екстракти од сортите малини Primalba и Willamette	94
Табела 10 – Антиоксидативен капацитет на испитуваните примероци од сортите малина Primalba и Willamette.....	108
Табела 11 – Цитотоксична активност на различни екстракти од сортите малина Primalba и Willamette	116
Табела 12 – Пирсонов коефициент на корелација помеѓу анализираните параметри од екстракти на сортите малина Primalba и Willamette.....	119
Табела 13 – Резултати добиени од анализа на антимицробната активност на екстрактите од сортите малина Primalba и Willamette	156
Табела 14 – Содржина на фенолни соединенија во екстрактите од сортите малина Primalba и Willamette ($\mu\text{g/g}$)	156
Табела 15 – Морфолошки карактеристики на плодот од сортата малина Primalba	157
Табела 16 – Морфолошки карактеристики на семето од сортата малина Primalba	158
Табела 17 – Морфолошки карактеристики на плодот од сортата малина Willamette.....	158

Табела 18 – Морфолошки карактеристики на семето од сортата малина Willamete	159
Табела 19 – Хемиски состав на плодот од сортите малина Primalba и Willamette	159

ЛИСТА НА ГРАФИКОНИ

Графикон 1 – Производство на малини во 2011 и 2021 година	4
Графикон 2 – Хемиски состав на плодот од сортите малина Primalba и Willamette	91
Графикон 3 – Содржина на вкупни и поединечни фенолни соединенија во екстракти од плодовите на малина од сортите Primalba и Willamette добиени со ултразвучна екстракција	95
Графикон 4 – Содржина на вкупни и поединечни фенолни соединенија во екстракти од плодовите на малина од сортите Primalba и Willamette добиени со ултразвучна екстракција – збирно и средни вредности.....	97
Графикон 5 – Содржина на вкупни и поединечни фенолни соединенија во екстракти од плодовите на малина од сортите Primalba и Willamette добиени со мацерација	99
Графикон 6 – Содржина на вкупни и поединечни фенолни соединенија во екстракти од плодовите на малина од сортите Primalba и Willamette добиени со мацерација – збирно и средни вредности.....	101
Графикон 7 – Содржина на вкупни и поединечни фенолни соединенија во екстракти од плодовите на малина од сортите Primalba и Willamette добиени со Соклетова екстракција.....	103
Графикон 8 – Содржина на вкупни и поединечни фенолни соединенија во екстракти од плодовите на малина од сортите Primalba и Willamette добиени со Соклетова екстракција – збирно и средни вредности	105
Графикон 9 – Антимикробна активност на екстракти од сортите малина Primalba и Willamette.....	113
Графикон 10 – Цитотоксична активност на екстракти од сортите малина Primalba и Willamette.....	117
Графикон 11 – Коефициент на корелација помеѓу анализираните параметри во екстракти од сортите малина Primalba и Willamette.....	121

Графикон 12 – Хроматограм на рутинска киселина.....	160
Графикон 13 – Хроматограм на р-кумарна киселина.....	160
Графикон 14 – Хроматограм на ферулинска киселина	160
Графикон 15 – Хроматограм на елагична киселина	161
Графикон 16 – Хроматограм на хлорогена киселина.....	161
Графикон 17 – Хроматограм кофеинска киселина	161

ЛИСТА НА СЛИКИ

Слика 1 – Плод малина (лево) и цвет од малина (десно)	6
Слика 2 – „Ронлив“ плод во две различни развојни фази	8
Слика 3 – Циклус на раст на малини.....	16
Слика 4 – Главни класи на метаболити кај растенијата	40
Слика 5 – Фенолни соединенија во храната	42
Слика 6 – Основна структура на антоцијанин	46
Слика 7 – Главни антоцијани во плодот од малина.....	47
Слика 8 – Формирање на комплекс од флавоноиди со алуминиум	69
Слика 9 – Реакција на антиоксиданти со 2,2-дифенил-1-пикрилхидразил радикал	75
Слика 10 – Редукција на реакција на резазурин во ресорурфин	78
Слика 11 – Редукција на МТТ под дејство на ензимот митохондријална редуктаза	79
Слика 12 – Насад со малини	162
Слика 13 – Бербa на малини.....	162
Слика 14 – Свежи малини пакувани во гајби.....	163
Слика 15 – Малина замрзната во пластична кутија.....	163
Слика 16 – Ултразвучна бања	164
Слика 17 – Филтрирање на примероците малина	164
Слика 18 – Подготовка на примероците за мерење.....	165
Слика 19 – Подготовка на примероците за мерење	165
Слика 20 – Подготовка на примероците за анализа	166
Слика 21 – Екстракција со Сокселетов екстрактор	166

ЛИСТА НА КРАТЕНКИ

- CFC – (Condition of Fruit lose - vulnerable Condition) Состојба на ронлив плод
- MFD – (Malfunctioning of fruit unfit) Нарушување на несоодветно овошје
- SD – (Short day) Краток ден
- LT – (Low temperature) Ниска температура
- IQF – (Individually quick frozen) Индивидуално брзо замрзнато
- CAC – (Conformitas Agraria Communitas) Аграрна заедница на сообразност
- MA – (Modified Atmospheres) Изменета атмосфера
- CA – (Controlled Atmospheres) Контролна атмосфера
- BMI – (Body Mass Index) Индекс на телесна маса
- TEAC – (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity Analysis (Анализа на Trolox еквивалентен антиоксидативен капацитет)
- FRAP – (Ferric Reducing Antioxidant Power Analysis (Анализа на антиоксидативна моќ за намалување на феријон)
- HAT – (Hydrogen Atom Transfer (Трансфер на атоми на водород)
- ORAC – (Oxygen Radical Absorbance Capacity) Капацитет за апсорбанца на радикали на кислород
- TRAP – (Total Radical-Trapping Antioxidant Parameter) Вкупен антиоксидативен параметар за заробување радикали
- TOSCA – (Total Oxylradical Scavenging Capacity Analysis) Анализа на вкупниот капацитет на оксирадикално чистење
- ABTS – (2,2-Azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) Radical Scavenging Analysis) Анализа за чистење на радикалот на 2,2-Азинобис 3-етилбензтиазолин-6-сулфонска киселина
- DMPD – (N,N-dimethyl-p-phenylenediamine Radical Scavenging Analysis) Анализа за чистење на радикал N,N-диметил-р-фенилендиамин
- CUPRAC – (CUPric Reducing Antioxidant Capacity) Куприц, Редуцирачки антиоксидативен капацитет
- P – (Primalba) Прималба
- W – (Willamette) Виламет
- КК – (Caffeic Acid), кофеинска киселина
- ХК – (Chlorogenic Acid), хлорогена киселина
- р-КК – (p-Coumaric Acid), р-кумарна киселина

FK – (Ferulic Acid), ферулинска киселина

EK – (Ellagic Acid), елагична киселина

P – (Rutin) Рутин

q-G – (Quercetin Glucoside), q-глукозид

q-P – (Quercetin Rhamnoside) q-рамнозид

MAC – (Maceration), мацерација

Sox – (Soxhlet Extraction), Soxhlet екстракција

TAC – (Total Antioxidant Capacity), Вкупен антиоксидативен капацитет

IALP – (Inhibitory Activity on Lipid Peroxidation Level), Инхибиторна активност на ниво на липидна пероксидација

AAHR – (Antioxidant Activity on Hydroxyl Radical Level), Антиоксидативна активност на ниво на хидроксилни радикали

AA DPPH – (Antioxidant Activity with DPPH), Антиоксидативна активност со DPPH

AA ABTS – (Antioxidant Activity with ABTS), Антиоксидативна активност со ABTS

Hep2c – (Hep-2 Cell Line), Hep-2 клеточна линија

RD – (Rhabdomyosarcoma), Рабдомиосарком

L2OB – (L2OB Cell Line), L2OB клеточна линија

L929 – (L929 Cell Line), L929 клеточна линија

АПСТРАКТ

Во рамките на докторскиот труд предметот на истражување е малината од сортите Primalba и Willamette. Цел на истражувањето е одредување на почвените услови за одгледување на малините, нивните морфолошки, хемиски, биохемиски карактеристики и антиоксидативната активност. Во првиот аспект на истражувањето спроведени се испитувања на хемискиот состав на почвата во различни лаборатории и години. Квантитативната идентификација на полифенолните соединенија е изведена со употреба на HPLC метода. Испитувањето вклучува тестови за антиоксидативниот капацитет за биохемиската активност, антибактериска и цитотоксична активност. За испитувањето на морфолошките и хемиски карактеристики на малините направени се хемиски анализи и два вида на морфолошки испитувања, првиот вид за плодот, а вториот за семката од примероците.

При испитување на почвата извлечени се заклучоци за подобрување на составот и квалитетот, како и потребата да се изврши гноење со 20-30t/ha прегорено шталско ѓубриво со закиселување и минимално додавање на калциум. Во подоцнежните анализи на почва, третирана согласно препораките, се заклучува дека е со подобар квалитет. При идентификација на полифенолните соединенија се забележува дека екстрактите добиени со современи техники на екстракција содржат повисоки количини на феноли, од оние добиени со конвенционални методи. При користење на методот на ултразвучна екстракција количество на феноли е 1381,41 $\mu\text{g/g}$. Антиоксидативниот капацитет има највисоки вредности при користење на методот на ултразвучна екстракција, исто така. Антибактериската активност докажува дека соединенијата во малината можат ефикасно преку повеќе механизми да го инхибираат растот на различните патогени бактерии. Цитотоксичната активност утврдува дека екстрактот добиен со ултразвучна екстракција има најсилна активност кај L2OB клетките, со вредности кои се движат од 9.43 $\mu\text{g/mL}$.

Со спроведените тестови и добиени резултати се укажува дека растителни видови Primalba и Willamette малина содржат висока концентрација на активни соединенија, кои соединенија претходно се познати и покажуваат бројни позитивни ефекти, обезбедувајќи придобивки за здравјето на луѓето.

Клучни зборови: почва, малина, *Primalba*, *Willamette*, полифенолен профил, антиоксидативна активност.

ABSTRACT

Within the framework of the doctoral thesis, the subject of research is the raspberry of the Primalba and Willamette varieties. The purpose of the research is to determine the soil conditions for the raspberry, their morphological, chemical, biochemical characteristics and antioxidant activity. In the first aspect of the research, tests and soil monitoring were carried out in different laboratories and years. Quantitative identification of polyphenolic compounds was performed using the HPLC method. The examination of biochemical activity includes tests of antioxidant capacity, antibacterial and cytotoxic activity. For the examination of the morphological and chemical characteristics, chemical analyzes and two types of morphological tests were performed, the first type for the fruit and the second for the seed of the samples.

During the examination of the soil, conclusions were drawn to improve the composition and quality, as well as the need to perform composting with 20 - 30 t/ha of burnt stable manure with acidification and minimal addition of calcium. In later analyzes of soil treated according to the recommendations, it is concluded that it is of better quality. During the identification of polyphenolic compounds, it is noted that the extracts obtained by modern extraction techniques contain higher amounts of phenols than those obtained by conventional methods. When using the ultrasonic extraction method, the amount of phenols is 1381.41 $\mu\text{g/g}$. The antioxidant capacity has the highest values when using the ultrasonic extraction method as well. Antibacterial activity proves that compounds in raspberry can effectively inhibit the growth of various pathogenic bacteria through multiple mechanisms. Cytotoxic activity determined that the extract obtained by ultrasonic extraction had the strongest activity in L2OB cells, with values ranging from 9.43 $\mu\text{g/mL}$.

The conducted tests and obtained results indicate that the plant species Primalba and Willamette raspberry contain a high concentration of active compounds, which compounds are previously known and show numerous positive effects, providing benefits for human health.

Keywords: soil, raspberry, *Primalba*, *Willamette*, polyphenolic profile, antioxidant activity.

1. ВОВЕД

Малините (*Rubus idaeus* L.), припаѓаат на родот *Rubus*, член се на фамилијата Rosaceae и се одгледувани како повеќегодишна култура. Различни видови од родот *Rubus* живеат на шест континенти и нивни примероци се пронаоѓаат од врвовите на планините до крајбрежните локации на ниво на морето. Тие растат особено добро како растенија кои успеваат на предели со релативно пониски температури, но исто така даваат и висок придонес како култури во суптропските предели. Малините се комерцијално достапни во црвена, жолта, виолетова и црна форма. Малините кои се одгледуваат за производство и продажба се добиени главно од два вида, дивата црвена малина (*Rubus idaeus* L.) и црната малина (*Rubus occidentalis* L.). Малините со виолетовата боја *R. neglectus* Peck се добиени со вкрстување помеѓу црната и црвената малина, а жолтата сорта малина, пак, е мутант на црвената малина. Црвената е класифицирана во два подвида, *R. idaeus* subsp. *vulgatus* Arrhen. (европска црвена малина) и *R. idaeus* subsp. *strigosus* Michx. (американска црвена малина). Црните малини се наоѓаат во источните делови на Северна Америка како *R. occidentalis* L. и *R. glaucus* L. која е јужноамериканска тетраплоидна црна малина. Се смета дека црвените малини потекнуваат од Мала Азија. Вклучувањето на малините како храна и широко распространето одгледување во европските земји е забележано во 16 век, иако Англичаните биле тие што го одгледувале, хибридизирале и го подобрувале видот во текот на средниот век.

Во светот постојат повеќе од 1200 сорти малини. Постојат сорти со црвено, жолто и црно обоени плодови. Исто така постојат сорти кои даваат плод еднаш во годината (еднородни сорти) и сорти кои даваат плод двапати годишно (двородни сорти). Во производството најмногу се одгледуваат сорти со црвено обоени плодови. Малините може да се класифицираат во групата на најважни и најпрофитабилни видови јагодесто овошје кај нас и во светот, по количина и вредност на производството. Богатиот род, неограничениот пласман, високите откупни цени и заработката го прават одгледувањето на малини исплатлив агробизнис. Малините се многу приспособливи на различни климатски и почвени услови со оглед на тоа дека само град и евентуалните доцни снегови можат да предизвикаат штета при нивно одгледување. Специфичностите на малината како овошна сорта се повеќекратни и се одразуваат првенствено во нејзините поволни биолошки својства, агроеколошките услови за одгледување кои ги бара, пазарната вредност на самото производство, економските

ефекти од производството итн. Малините даваат плод во првата или во втората година по садењето, а веќе во третата година достигнуваат целосна плодност. Приносите на малините можат да бидат исклучително високи доколку се воспостави рамнотежа помеѓу поволните агроеколошки услови за одгледување, примената на современи агротехнички мерки и употребата на сертифицирани садници. Со високите приноси, трошоците за производство се намалуваат, а профитот на производителите значително се зголемува.

Кај нас ридестите и планински предели нудат огромен неискористен потенцијал за одгледување малини.

Овие плодови уште од антички времиња се собираат и консумираат од страна на луѓето поради нивниот вкус, но денес поради зголемената свест за здравствените придобивки, побарувачката за нив од страна на потрошувачите се интензивира. Општо земено, проценката на квалитетот се заснова на сензорните карактеристики на плодот, текстурата, вкусот и содржината на биоактивните соединенија во овошјето. Малините долго се ценат и поради нивните лековити и хранливи придобивки. Тие се богати со антиоксидативи, витамини, минерални материи и растителни влакна. Неодамнешните истражувања ги поддржуваат долгогодишните верувања дека малините се особено здрав дел од човечката исхрана.

Од економски аспект, малините се многу значајна компонента во извозот. Исклучителните биолошко-помолошки својства и производно-технолошките карактеристики на малините обезбедуваат нивен лесен пласман на домашниот и на странскиот пазар. Од сите видови овошје и зеленчук на нашите простори, малините заемаат многу високо место според вкупниот извоз. Од друга страна, производството на малини во светот заостанува зад побарувачката, постојано се зголемуваат потребите на странскиот пазар за замрзнати малини како и за производи од малини. Сето тоа ја прави малината една од најпрофитабилните култури во целото растително производство, па затоа нејзиното производство е многу привлечно за земјоделските производители.

Овој докторски труд опфаќа два аспекти значајни за производството на малина и тоа, од една страна, во трудот е опфатена технологијата на производство на малина, а од друга страна, пак, е опфатена анализата на антиоксидативната активност на сортите малина Прималба и Виламет.

2. ПРЕГЛЕД НА ЛИТЕРАТУРА

2.1. ЗНАЧЕЊЕ НА МАЛИНАТА НИЗ МИНАТОТО И ДЕНЕС

Според Лутер Бурбанк, кој ги проучувал и хибридизирал малините и капините повеќе од кој било друг, црвената малина се одгледувала во Европа со векови, во регионот од Грција до Шпанија а на север од Норвешка до Шведска (Luther, 1921).

Всушност малините имаат богата историја која датира од пред илјадници години. Краткиот преглед на историјата на малините опфаќа:

- Античко потекло: Се верува дека дивите малини потекнуваат од Источна Азија, особено во регионите околу денешна Турција и соседните земји. Тие растеле во дивите предели и биле конзумирани од древните цивилизации во овие области.

- Римска ера: Одгледувањето малини започнало во римската ера. Римјаните биле љубители на малини и ги ценеле поради нивните лековити својства. Плодот го одгледувале во своите градини и го користеле за различни намени.

- Средновековна Европа: Малините биле донесени во Европа во средниот век. Манастирите одиграле значајна улога во ширењето на одгледувањето малина. Монасите одгледувале малини во своите градини и ги користеле за медицински цели. Популарноста на малините се зголемила, и тие, на крајот, станале популарни градинарски плодови.

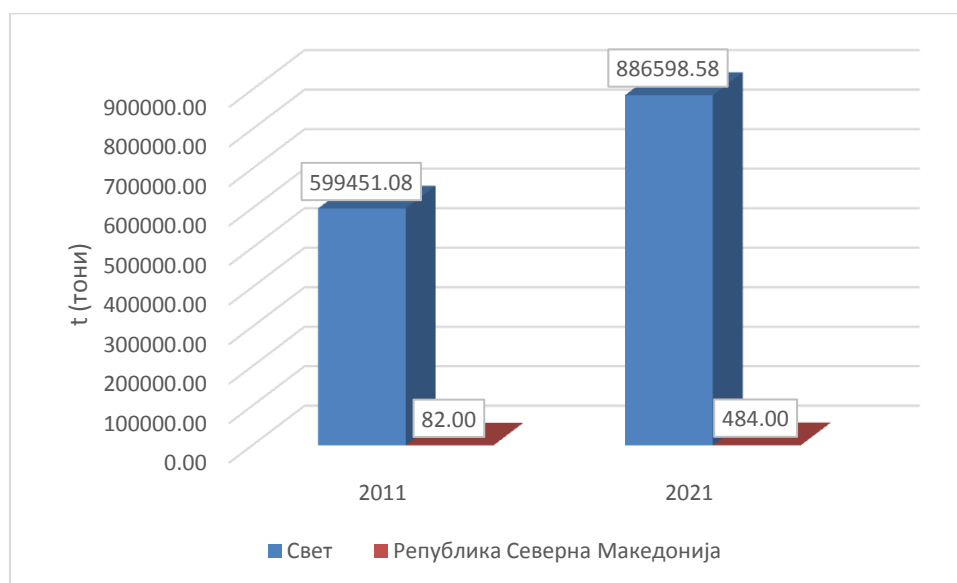
- 17 до 18 век: Во овој период, одгледувањето малини дополнително се проширило во Европа, особено во Франција и Англија. Подобрените техники на одгледување и селекцијата резултирале со развој на нови сорти на малини.

- Северна Америка: Домородните американски племиња со векови собирале и конзумирале диви малини, но нивното одгледување во Северна Америка започнало во почетокот на 19 век, кога тие биле донесени од европските доселеници.

- Модерно одгледување: Во 19 и 20 век, комерцијалното одгледување малини станало пошироко. Развојот на подобрени сорти и основањето овоштарници за малини придонеле за зголемено производство. Малините сега се одгледуваат во многу земји низ светот, а големи производители се САД, Русија, Полска и Србија.

Малините долго време се ценети поради нивната кулинарска употреба. Нивната живописна боја, нежен вкус и хранлива вредност ги прават популарна состојка во различни рецепти.

Малините се меѓу најпопуларните видови јагодесто овошје и често се наоѓаат како диви растенија кои даваат мали плодови. Комерцијалните малини се конзумираат како свежо овошје и/или како преработени производи во форма на џемови, желеа, сирупи, додатоци во храната и виното (Kim, D.-O., and Padilla-Zakour, O. I., 2006, Pantelidis, G., et al. 2011). Домашното и меѓународно производство на малина се зголемува речиси секоја година. Така на пример во 2011 година во Република Северна Македонија тоа изнесува 82,00 тони, а во 2021 484,00 тони, додека на светско ниво производството во овие две години е 599.451,08 односно 886,538.58 (графикон 1) што е еквивалентно на 32,4% зголемување на производството на глобално ниво.



Графикон 1. Производство на малини во 2011 и 2021 година

Извор: <https://data.un.org/Data.aspx?d=FAO&f=itemCode%3A547>

2.2. МОРФОЛОШКИ КАРАКТЕРИСТИКИ НА ЦРВЕНАТА МАЛИНА

Црвените малини се листопадни дрвени грмушки со повеќегодишен коренов систем кој произведува двегодишни гранки. На биеналелните гранки им потребни две години за да се заврши биолошкиот животен циклус. Повеќегодишниот систем на корени е фиброзен со 70% од корените лоцирани во првите 25 cm на почвата. Растението произведува гранки, кои секоја година излегуваат од корен во текот на пролетта и живеат две сезони на растење (Fernandez, G., et al., 2014). Растението може да има исправена форма, да биде со полуисправени гранки, или пак, гранките да се легнати. Малините се јагодести овошја кај кои плодот се јавува од цвет кој се јавува во рана пролет. Во оптимални услови, гранките може да достигнат повеќе од 4 метри, што е и премногу должина на гранките за нормалното производство бидејќи придонесува тешкотии во управувањето и бербата. Идеално управуваните гранки се високи приближно 1.5 метри (Hall, H., et al., 2009). На самите гранки има јазли кои се разликуваат по растојание, како резултат на сортата, енергичноста на растенијата и условите на одгледување. На секој јазол се наоѓа шилест сложен лист со 3-5 ливчиња, проследен со примарни и секундарни пупки кои се формираат во основата на листот. (Galletta, G., and D. Himelrick., 1990). Појавувањето на цветни пупки кај малините во првата година може да се случи кога гранката ќе достигне одредена висина, дури и ако не се исполнети барањата за должината на денот и температурата. (Koester, K., M. Pritts, 2003). Растението е во хибернација во текот на зимата, за следната сезона на растење да се формираат плодови. Плодот кој се наоѓа на дисталниот крај на гранката и на периферниот дел од растението зрее прв, за потоа да зрее и плодот кој се наоѓа на проксималниот дел од трска и внатрешноста на растението (Pritts, M., 2006). На овој начин се создава точен распоред на производство на плодови, односно точно се знае кои плодови ќе бидат зрели први, но ова исто така придонесува во добивање пократка сезона на берба која дава високи приноси, намалување на барањата за контрола на штетници, намалување на бројот на потребни опрашувачи и плодот има подобра големина и вкус (Pritts, M., 2003). Недостатоци, пак, се тоа што се добиваат поголеми растенија кои користат поголем простор, потребно е дополнително управување со растенијата и гранките, кои бараат манипулација како што се кастрење и превртување на гранките, потребни се зголемени часови на ладен период и потребно е дополнително време за да се реализира целосниот потенцијал за берба (Pritts, M., 2003).

Ценингс (Jennings, D. L. 1988) наведува дека цветот на малина има пет чашки и пет венични ливчиња при што последните се мали и бели, иако кај многу видови *Rubus* тие се со различни нијанси на розова боја. Типичната структура на цветот на малина вклучува чашки, венични ливчиња, прашник и толчник. Петте мали чашки функционираат во насока на заштита и поддршка на петте мали венични ливчиња кои ги опкружуваат репродуктивните органи. Репродуктивните органи се: прашник (машки дел) и толчник (женски дел). Поленовите зрна мора да се пренесат од прашникот до толчникот за да дојде до опрашување. Секој цвет содржи од 100 до 125 толчници кои содржат по две овули. Едната созрева до зрело семе, а другата зрее за да формира плод приближно 30 дена по опрашувањето (Bushway et al, 2008). Малината има збирен плод кој се состои од 75-125 костелки прикачени централно. Костелките се држат заедно со заплеткани епидермални влакна. Костелките остануваат прикачени како целина приближно 30-35 дена по опрашувањето во кое време е зрело и лесно се одвојува од гранката. Поголемиот дел од сортите на малини се самоопрашливи, што значи дека поленот од прашникот се пренесува во толчникот од истиот цвет или различен цвет што резултира со формирање на одржливи семиња и трупови. Трансферот на полен обично се врши од летечки инсекти како што се пчелите.

Доколку недостасуваат природни опрашувачи, може да дојде до нецелосно опрашување. Нецелосното опрашување се случува кога секоја поединечна костелка не успева да се опрашува и придонесува за нарушена структура, цврстина и форма на овошјето. Плодот се развива во три фази, при што секоја фаза трае 10-12 дена. Првата фаза на раст по опрашувањето е брза фаза на клеточна делба. Во втората фаза растот се случува со побавно темпо, бидејќи клеточната делба се забавува, ембрионот се развива и семето се стврдува. Брзиот раст се јавува во третата фаза на раст поради зголемувањето на клетките. Просечната големина на овошјето е 1-5 грама и варира во зависност од сортата (Pritts, M., 2006).



Слика 1. Плод малина (лево) и цвет од малина (десно)

2.2.1. Нарушување на процесот на формирање плод

Состојбата позната како „ронлив плод“ се јавува во различни степени кај различни сорти малини и е показател за нарушувања на физиолошките процеси во развојот на плодот.

Ботанички гледано, плодот од малина има збирен плод, составен од голем број ситни плодови наречени костелки. Нормалниот цвет на малина има потенцијал да произведе од 100 до 125 костелки, но обично само 75 до 85 костелки се развиваат за да го формираат плодот. Ако се развие значително помала од оваа бројка, плодот не може да ја задржи формата и се распаѓа. Ронливоста на плодот може да биде обемна или може да биде речиси незабележана, односно само неколку плодови на растението. Обемот на ронливи плодови обично варира од година во година, но некои растенија може постојано да даваат таков плод.

Многу фактори можат да придонесат за ронлив плод кај малините. Некои од нив се:

- Климатски услови

Ако времето за време на врвот на цветањето се состои од наизменичен дожд и несоодветно ладни температури, активноста на пчелите ќе биде ограничена и опрашувањето може да се намали. Екстремната суша или претерано сува почва пред цветањето може да резултира со цвеќиња кои се делумно неплодни. Доколку се појават такви услови за време на периодот на цветање, одржливоста на поленот може да се скрати. Ова исто така ќе го намали опрашувањето. Недостатокот на влага во коренската зона по опрашувањето може да предизвика слаб развој или сушење на овошјето.

- Недостатоци во исхраната

Недостаток или нерамнотежа на хранливи материи наметнува стрес фактори на целото растение. Ниските нивоа на фосфор, азот и железо, а понекогаш и цинк се ограничувачки фактори во производството на малини. Во некои насади се забележани нутритивни недостатоци кои ги прават насадите на малини речиси целосно непродуктивни.

- Разлики во сортата

Некои сорти имаат тенденција да се распаѓаат повеќе од другите.

- Штета од пестициди

Одредени пестициди може да ги оштетат цветовите и да го спречат опрашувањето или развојот на плодовите. Ова е особено точно ако испарливи хербициди се користат во или околу садењето за време на периодот на цветање.

- Болести

Овие проблеми веројатно се одговорни за повеќе ронлив плод од кој било друг фактор, најмногу затоа што болестите се значително под влијание на фактори на животната средина, влагата на почвата и исхраната на растенијата. Комбинацијата на болести и други фактори кои се јавуваат истовремено при садење може да резултира со дополнителни негативни ефекти врз растенијата и да предизвика големо распаѓање на бобинките.

Болестите кои најчесто се поврзуваат со ронливото овошје се гниење на коренот, габи и вируси.

Габите го намалуваат бројот на функционални корени, што пак го намалува количеството на хранливи материи и вода што ги земаат растенијата.

Вирусните болести се можеби најпогубни од сите болести. Тие, сами по себе, можат да предизвикаат ронливо овошје. Кога вирусните заболувања се присутни во комбинација со други болести, инсекти или кој било од другите наведени фактори, сите растенија кои се насадени на една парцела може да произведат главно ронлив плод.



Слика 2 . „Ронлив“ плод во две различни развојни фази

На слика 2. се прикажани два ронливи плода во две различни фази, зелен плод (лево) и црвен плод (десно). Плодовите се со неколку костелки, но генерално се поголеми во споредба со обичните плодови.

2.3. ХЕМИСКИ СОСТАВ НА МАЛИНАТА

Црвените малини имаат висока содржина на диетални влакна, која изнесува 6,5g/100 g свежа маса, што изразено во калории изнесува 12,5g/100 kcal. Тие исто така содржат витамин Ц, магнезиум и разни други хранливи материи, како што се калиум, витамин К, калциум и железо (Washington Red Raspberry Commission, 2013). Црвените малини, исто така, содржат фитохемиски соединенија со изразена биолошка активност. Многу од тие соединенија првично биле испитани *in vitro* во однос на нивните антиоксидативни својства. Некои од овие соединенија влијаат врз клеточните сигнални патишта (имаат влијание врз клеточните рецептори, сигналните молекули, експресијата на гени итн). Пакетот на хранливи и биоактивни материи што ги содржат црвените малини укажува на нивната важна заштитна улога во здравјето на луѓето. Хемискиот состав на малината е прикажан во Табела 1.

<i>Состав</i>	<i>Суровини</i>	<i>Замрзнати и незасладени</i>	<i>Замрзнати и засладени</i>	<i>Конзервирани во сируп</i>
<i>Вода, g/100 g</i>	85,75	85,75	72,75	75,33
<i>Енергија, kcal/100 g</i>	52	52	103	91
<i>Протеини, g/100 g</i>	1.20	1.2	0,7	0,83
<i>Маси, g/100 g</i>	0,65	0,65	0,16	0,12
<i>Пепел, g/100 g</i>	0,46	-	0,24	-
<i>Јаглехидрати (по разлика), g/100 g</i>	11.94	11.94	26.16	23.36
<i>Вкупни диетални влакна, g/100 g</i>	6.5	6.5	4.4	3.3
<i>Вкупен шеќер, g/100 g</i>	4.42	4.42	21.76	20.06
<i>Калциум, mg/100 g</i>	25	25	15	11
<i>Железо, mg/100 g</i>	0,69	0,69	0,65	0,42
<i>Магнезиум, mg/100 g</i>	22	22	13	12
<i>Фосфор, mg/100 g</i>	29	29	17	9
<i>Калиум, mg/100 g</i>	151	151	114	94
<i>Натриум, mg/100 g</i>	1	1	1	3
<i>Цинк, mg/100 g</i>	0,42	0,42	0,18	0,16
<i>Бакар, mg/100 g</i>	0,090	-	0,105	-
<i>Манган, mg/100 g</i>	0,670	-	0,65	-
<i>Селен, µg/100 g</i>	0.2	-	0.3	-

Витамин Ц (аскорбинска киселина), mg/100 g	26.2	26.2	16.5	8.7
Тиамин, mg/100 g	0,032	0,032	0,019	0,02
Рибофлавин, mg/100 g	0,038	0,038	0,045	0,031
Ниацин, mg/100 g	0,598	0,598	0,23	0,443
Пантотенска киселина, mg/100 g	0,329	-	0,15	-
Витамин Б6, mg/100 g	0,055	0,055	0,034	0,042
Вкупно фолати, µg/100 g	21	21	26	11
Вкупен холин, mg/100 g	12.3	-	10.2	-
Витамин А, µg RAE/100 g	2	2	3	2
β-каротин, µg/100 g	12	-	21	-
α-каротин, µg/100 g	16	-	29	-
Витамин А, IU/100 g	33	33	60	33
Лутеин + зеаксантин, µg/100 g	136	-	113	-
Витамин Е (α-токоферол), mg/100 g	0,87	0,87	0,72	0,59
Витамин К (филоквинон), µg/100 g	7.8	7.8	6.5	5.2
Антоцијанидини, mg/100 g				
Цијанидин	-	-	22.60	-
Делфинидин	-	-	0,02	-
Пеларгонидин	-	-	1.60	-
Флаволи, mg/100 g				
Апигенин	-	-	0,01	-
Лутеолин	-	-	0,02	-
Флавоноли, mg/100 g				
Кемпферол	-	-	0,01	-
Мирицетин	-	-	0,03	-
Кверцетин	-	-	1.10	-

Табела 1. Хемиски состав на на црвената малина

Извор: податоци од USDA (Agricultural Research Services), RAE, еквивалент на активност на ретинол.

Биолошката вредност на малината во голема мера зависи од концентрацијата на антиоксиданти, кои вклучуваат, меѓу другото, аскорбинска киселина и антоцијани (Baranowska, A., et al., 2017). Плодот од малина содржи витамин Ц, како и витамини од групите Б, ПП, А, Е и К и минерали, како што се: калиум, калциум, магнезиум,

железо и во помала количина манган, бакар и цинк (Horuz, A., et al., 2013). Присуството на овие состојки влијае на здравствените својства на малината. Полифенолите имаат антиоксидативно, антиинфламаторно и антимиembroно дејство (Lopez-Corona, A.V., et al., 2022). Тие го инхибираат формирањето на слободните радикали, кои оксидираат многу соединенија и ги оштетуваат клеточните мембрани, протеините, липидите, ензимите и генетскиот материјал (Bobinaitè, R., et al., 2020). Овие производи имаат поволно влијание врз кардиоваскуларниот систем и видот (Vrhovsek, U., et al., 2008). Плодовите на *R. idaeus* L. исто така содржат каротеноидни соединенија кои делуваат како природни растителни пигменти, вклучувајќи β -каротин, зеаксантин и лутеин (Ponder, A., Hallmann, E., 2019). Зеаксантинот и лутеинот даваат боја на жолтоплодните сорти кои не содржат антоцијани. Малината е богат извор на фенолни киселини, кои вклучуваат елагинска и салицилна киселина (Burton-Freeman, B.M., et al., 2016). Елагинската киселина има антиканцерогени и антиоксидативни својства, додека салицилната киселина има аналгетски, антипиретски и антиинфламаторни својства (Larrosa, M., et al., 2010).

2.4. КАРАКТЕРИСТИКИ КОИ ВЛИЈААТ ВРЗ КВАЛИТЕТОТ НА МАЛИНАТА

Важни карактеристиките на квалитет на плодот малина кои се важни во развојот на нови сорти се: големината, формата, бојата, цврстината, големината на семето, рокот на траење, вкусот и содржината на хранливи материи. Квалитетот на свежиот плод наменет за пазар, се определува со големината на костелките, свежината на вкусот, цврстината на обвивката и внатрешноста, сјајност на изгледот, бојата (светло црвена боја), мали семиња, мала киселост и висока содржина на хранливи материи. Спротивно на тоа, квалитетот на плодот што е наменет за преработка се разликува бидејќи плодот се бере и замрзнува веднаш по бербата. Плодот не треба да биде голем или цврст, но добра цврстина на обвивката и изразен овошен вкус сè посакувани карактеристики. Плодот треба да има темно црвена боја, да е богат со хранливи материи и да има ниска рН вредност.

Малината е јагодесто овошје кое е многу популарно меѓу потрошувачите поради нејзиниот интензивен вкус, атрактивниот изглед и здравствените придобивки (Titiricá, I.; et al., 2023). Постојат неколку фактори кои влијаат врз продажбата на малина на потрошувачкиот пазар, а тоа се:

- Вкус и квалитет

Малините имаат изразен, сладок и кисел вкус. Степенот на зрелост, сортата и содржината на прости шеќери, органски киселини и испарливи материи го одредуваат вкусот и аромата на плодот. Плодот треба да биде свеж, сочен и со добар квалитет за да ги исполни очекувањата на потрошувачите (Dujmović Purgar, D., et al., 2012).

- Здравствени придобивки

Плодот од малина е богат со витамини, минерални материи, антиоксиданти и влакна, што ги привлекува потрошувачите кои бараат здрава храна. Малините се нискокалорични производи поради што се дел од здравата исхрана (Khoо, H.E., et al., 2017).

- Природност и свежина

Потрошувачите сакаат природни и свежи производи, особено кога станува збор за плод од овошје. Малината често се перцепира како природно, сезонско овошје кое може да се јаде во неговата оригинална форма.

- Разновидност на употреба

Плодот од малина може да се јаде на многу различни начини, како додаток на десерти или состојка во коктейли, желеа, џемови и тепсија. Оваа разновидност привлекува различни групи потрошувачи.

- Достапност

Малините се достапни на пазарот поголемиот дел од годината и во форма на свежо јагодесто овошје и во форма на преработени производи. Ова ги прави подостапни за потрошувачите (Quintanilla, A. et al., 2022).

- Трендови во исхраната

Во последните години се зголеми интересот за здрава исхрана и природни производи. Вистинската малина совршено се вклопува во овие трендови, што се преведува во нивната зголемена важност на потрошувачкиот пазар (Cosme, F., et al., 2022).

Квалитетот на плодовите од малина и неговото значење на потрошувачкиот пазар, исто така, зависат од фактори како што се регионот на одгледување, методите на производство, локалната достапност и конкурентноста на цените (Aprea, E., et al., 2015).

Сепак, плодовите од малина се многу подложни на механички оштетувања, загуба на вода и развој на мувла за време на транспортот и складирањето. Поради овие причини, одржливоста на малината по бербата е ограничена на неколку дена, обично 3 до 5 дена, а само мал процент од овие плодови може да се јадат свежи. За да се спречат овие недостатоци, се препорачува плодовите да се чуваат на температура околу 0°C. Меѓутоа, складирањето на плодот од овошје на ниска температура е недоволно за продолжување на рокот на траење на малината кој изнесува до 14 дена, поради што се почесто складирањето се врши во контролирана атмосфера. Одржувањето на концентрацијата на CO₂ на ниво од 5-20% и O₂ на ниво од 3-10% обезбедува зголемување на издржливоста на складираните плодови *R. idaeus*. Сепак, намалувањето на концентрацијата на O₂ под 3% може да предизвика влошување на вкусот, додека надминувањето на нивото на CO₂ над 30% го зголемува омекнувањето на плодот и предизвикува кафеава промена на бојата на обвивката на плодот (González-Orozco, B.D., et al., 2020). Приносот и квалитетот на плодовите на *R. idaeus*, исто така, зависат од сортите, соодветното управување со одгледувањето, вклучително и ѓубрењето, особено со азот, и третманите за нега (Valentinuzzi, F., et al., 2018).

Генетските карактеристики на сортите малина имаат значително влијание и на приносот и на квалитативните карактеристики. Така генетските карактеристики како што се потенцијалот за раст, способноста за формирање плод, датумот на зреење или градбата на растението, може да влијаат на приносот. Сортите со поголем потенцијал за раст, повеќе плодови по растение или пооптимален датум на зреење може да дадат повисоки приноси.

Важни карактеристики на потрошувачката на малини се вкусот и аромата на плодот. На пример, некои сорти на малини може да имаат интензивен, сладок вкус, додека други може да бидат покисели. Ароматичните својства исто така може да варираат во зависност од генетските карактеристики на сортата. Слично на тоа, генетските карактеристики ја одредуваат и големината и обликот на плодот. Сортите со поголеми плодови може да дадат повисоки приноси. Генетските карактеристики на сортите може да влијаат на конзистентноста на плодот и рокот на траење по бербата. Соодветните генетски карактеристики можат да обезбедат поголема издржливост и подобра заштита од механички оштетувања. Генетската разновидност во одгледувањето растенија овозможува избор и развој на сорти со пожелни карактеристики, како што се принос, вкус, рок на траење и други (Winiarska, J, 1992).

Употребата на азотни ѓубрива е многу важна поради фактот што азотот е компонента на аминокиселините кои формираат структурни протеини и ензими важни за метаболизмот, нуклеинските киселини и хлорофилот.

Потрошувачите кои купуваат малина посветуваат посебно внимание на квалитетните карактеристики како што се бојата, големината и обликот. Бојата влијае на изгледот и привлечноста, како и на свежината и вкусот. Стандардите за квалитет на свежата малина наменета за потрошувачка во меѓународната трговија се дефинирани со европскиот стандард UN/ECE FFV-32 (Agricultural Quality Standards (WP.7). UNECE. 2023), кој предвидува три класи на квалитет: Extra, I и II. Во секоја од овие класи е дозволено да се пласира здрав, чист овошен плод, без туѓи мириси, со свеж изглед, без штетници и оштетувања, кој не е влажен. Големината на плодовите на сортите зависи од одредувањето на најголемиот дијаметар, кој кај класата Extra изнесува 15 mm, кај I-12 mm, а кај малини од класа II, големината не се одредува. Класите на квалитет се разликуваат по уделот на плодот со дефекти и степенот на толеранција на овие дефекти, на пр., раздвојување на плодовите од малина по период на суша и повторени врнежи. Секоја серија на плод треба да биде униформирана и соодветно означена.

2.5. КЛАСИФИКАЦИЈА НА СОРТИТЕ МАЛИНИ

Сортите на малини се поделени во две групи: едногодишни сорти (синоним: примокан, есенска) и двегодишни сорти (синоним: флорикан; летна). Сортите ги носат имињата според карактеристиките на цветот и плодот (Кеер, Е. 1988).

Постојат некои несогласувања за тоа кои видови црвена малина првично беа хибридизирани со *R. occidentalis* L. за да се произведе првиот опишан хибрид *R. × negluteus* Peck. Исто така, постои несогласување во однос на тоа дали овие меѓувидови хибриди треба да имаат посебно име на видот или треба да ја следат конвенцијата за именување на хибриди, како што се *R. idaeus* x *R. occidentalis*. Во остатокот од овој преглед на литературата, европските црвени малини ќе бидат наведени како *R. idaeus*, источните црни малини ќе бидат наведени како *R. occidentalis*, а хибридите меѓу овие два вида ќе бидат наведени како *R. × neglectus*.

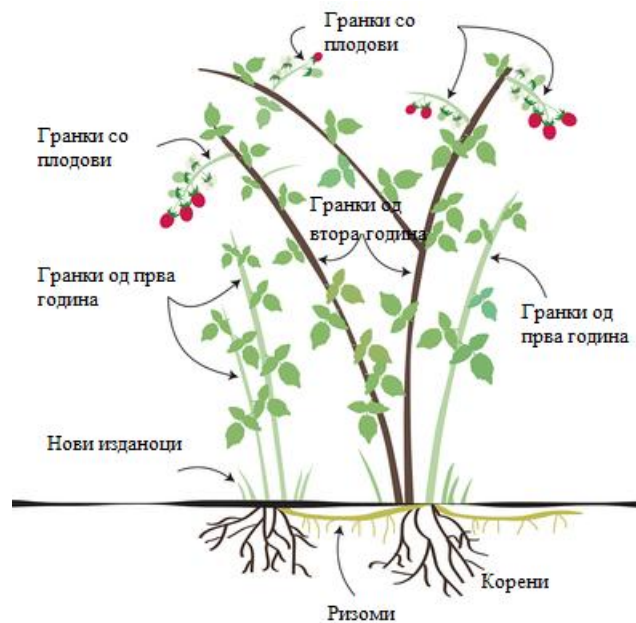
2.5.1. Едногодишни сорти

Едногодишните сорти малина имаат едногодишен вегативен циклус за време на кој завршува вегетативното растење, зреењето на плодот и иницијализацијата на цветовите (Sonstebuy, A., O. M. Heide. 2009). Овие сорти развиваат многу гранки, но се пократки во висина (1 до 1,1 m) во однос на двегодишните сорти (2,5 до 3 m) затоа што апикалните цветови кај едногодишните сорти го потиснуваат понатамошното растење во висина.

Кај едногодишните сорти малина, нови гранки се формираат во рана пролет (март - април), од коренот или заспаните пупки од претходната година, по што започнува континуиран вегативен раст. Во првата година, во текот на пролетта и летото, вегативниот раст ја следи сигмоидната крива и застанува во лето со неколку терминални цветови. Иницијацијата на цветовите е во текот на месеците јуни - јули кога гранките активно растат и имаат 20-22 листа (Carew, J. G., et al., 2001). Мирувањето на стеблото и листовите почнува во рана есен кога температурата се намалува (10 - 15 ° C), а фотопериодот се скратува (<10 ч), по што растението во рана зима влегува во период на мирување кој трае 8 - 10 недели (Williams, I. H., 1960). После зимската хибернација (околу февруари) нови стебла се појавуваат во пролет. Цветањето кај овие нови стебла се јавува кон крајот на летото (август) и трае до раната есен (септември). По цветањето и формирањето на плод, со појавата на мраз, стеблата изумираат и животниот циклус завршува.

2.5.2. Двегодишни сорти

Двегодишните сорти малина имаат двегодишен циклус на раст, во текот на кој почнуваат да се развиваат пупките, отпочнува вегетативниот раст, цветањето и формирањето на плодови (Sonstebly, A., O. M. Heide. 2008). Стеблата се развиваат од корен или пупки (заспани пупки) и продолжуваат со вегетативниот раст до крајот на летото во првата година. Растот на пупките се намалува кон крајот на летото. Стеблата изумираат со појавата на мраз во втората година.



Слика 3. Циклус на раст на малини

Извор: Growing raspberries in the home garden, Minnesota University USA

Накратко, времето на иницијација на цветање одредува дали сортата е едногодишна или двегодишна група.. Покрај тоа, овие две групи на сорти малина се разликуваат по потребите за температура и времетраење на денот во периодот на цветање .

2.6. ОДГЛЕДУВАЊЕ МАЛИНИ

Современите сорти малина во споредба со нивните диви предци, како резултат на припитомувањето, се многу похомозиготни и генетски слични едни на други. Овој недостаток на разновидност може да биде закана кога станува збор за барање специфични особини, како на пример, оние поврзани со отпорност кон патогени и штетници. Воведувањето на неселектирани клонови е стратегија што може да ја користат одгледувачите на малина за да ја зголемат генетската разновидност и да помогнат во соочувањето со идните предизвици на културите, првенствено поврзани со климатските промени и појавата на нови штетници и болести (Graham, J. & Brennan, R. 2018). Колекциите на *Rubus* и дивите и култивираните генски бази се важен извор на генетска варијабилност што може да се користи за спроведување на програми за размножување. Најважните збирки се наоѓаат во Северна Америка (т.е. Национално складиште за клонална гермоплазма на Министерството за земјоделство на Соединетите Американски држави, <https://www.ars.usda.gov/> и во канадската клонална генбанка <https://pgrc-rpc.agr.gc.ca/>) и Европа (т.е. Институтот Џејмс Хатон, <https://www.hutton.ac.uk/> и Истражувачка станица „Исток Малинг“, <http://www.emr.ac.uk/>, соодветно лоцирани во Шкотска и Англија).

Производството на малини во моментов се потпира само на ограничена употреба на хемиски средства за заштита. Не се достапни висококвалитетни сорти што комбинираат отпорност кон штетници и патогени, така што интеграцијата на нови особини што овозможуваат отпорност/толеранција кон биотски стрес станува приоритет на сите програми за размножување. При изборот на нови сорти, новите практики на одгледување (на пр. системи на заштитени култури и производство во саксии и контејнери) се високо ценети. Новите технологии, како што се платформите за фенотипизација кои користат слики за откривање на варијации на фенотип, стануваат достапни за одгледувачите (Jennings, S. N. 2018).

Поради барањата на трговците на мало, но и преференциите на потрошувачите, производството на малини се потпира на мал број сорти кои меѓу другото имаат ограничена отпорност кон штетници и патогени. Зголемената свест на потрошувачите за теми како влијанието на земјоделските практики врз животната средина, исто така го турка производството на малини кон усвојување на поодржливи земјоделски практики. Изборот на нови сорти со подобрени карактеристики може да им овозможи на одгледувачите да ги задоволат барањата на пазарот. Конвенционалното

размножување е премногу бавно за да се држи чекор со новите предизвици поставени од глобалните пазари, особено за хетерозиготни сорти малини (Finn, C. C. & Hancock, J. F. 2008).

Главниот предизвик поврзан со одгледувањето малини е временскиот карактер на целиот процес кој предвидува собирање податоци за квалитетот и приносот за популацијата на садници. Точното мерење на податоците за принос бара рачно берење кое е скапо. Неодамнешни испитувања укажуваат дека масата на плодот и страничната должина на ластарите, кога се мерат во првата плодна сезона, може да овозможат прецизно предвидување за следните години. Пронајдена е позитивна корелација помеѓу приносот и комбинацијата на должина на гранка со додаден број на скршени пупки по гранка кај сортите примокан. Квалитетот на плодот, неговата големина, форма и боја се главни атрибути кои влијаат врз потрошувачите. Одгледувачите се исто така заинтересирани за плод со постојана големина бидејќи тоа придонесува за намалување на трошоците за берба. Продолжениот рок на траење од најмалку седум дена по бербата е претпочитана особина за трговците на мало.

Производството на малини, наменето за преработка на плод, преферира сорти приспособени за машинска берба бидејќи тоа ќе ги намали трошоците за работна сила. Сортите за машинско берење треба да имаат цврсти долги гранки со добро претставени плодови, изложени кон надворешноста што ќе гарантира повторено поминување на жетварот во текот на целата сезона, и истовремено минимизирање на штетата врз гранките во следните години. Висококвалитетниот плод кој лесно се вади од садот за време на бербата е приоритет и очигледно за плодот наменет за индивидуално брзо замрзнување (IQF) важно е јагодестото овошје да го задржи својот интегритет додека се обработува на линијата за замрзнување. Кај сортите со цветни плодови, машинската берба изгледа дека е поврзана со други особини, како што се големата маса на плодовите и големиот број латерални ластари, како и должината на гранката, што се аспекти кои мора да се земат предвид при изборот на сорти за одгледување.

Одгледувањето на малини кои имаат нови гранки секоја година е предност бидејќи нивниот годишен животен циклус овозможува производство во области каде што екстремно студените зими би можеле да ги оштетат гранките или каде што недоволното студенило би го загрозило производството на летни сорти. Врз основа на сортите малини, се појави нов систем на одгледување во Калифорнија каде што растенијата се произведуваат само 18 месеци, бидејќи се докажа дека тоа го зголемува квалитетот на плодот и неговиот рок на траење. Ваквиот систем на одгледување е

овозможен со необичниот, едноиполгодишен циклус на раст на сортите малини, при што горните странични гранки се плодни рано во есента првата година, додека оние гранки кои се на дното се плодни во рано лето следната година (Jennings, D. L. 1988). Овој нов систем за одгледување ја поттикна калифорниската индустрија за малини и потоа беше реплициран во топлите умерени области низ целиот свет: Јужна и Централна Америка, Јужна Европа, Австралија и Јужна Африка. Неодамна во однос на размножувањето на овие сорти, компаниите започнаа програми со ограничена достапност и ексклузивност за лицензирање. Ова резултираше со создавање на многу нови сорти. „T-plus“ и „Diamond Jubilee“ во Обединетото Кралство, „Sapphire“ „Pearl“ и „Jade“ од британско-американско партнерство. Во Холандија: „Imara“, „Kveli“, „Kvanza“, „Mapema“ и „Rafiki“. Во Франција, „Paris“ и многу големиот плодносец „Versailles“, додека Шпанија произведе две сорти, „Lupita“ и „Adelita“ успешно одгледувани во Мароко. Во Италија, најуспешните ослободени сорти се „Castion“, „Enrosidira“, „Vajolet“ и „Lagorai“.

Доместификацијата на малини е ограничена со тоа што пет сорти доминираат во производството, што доведува до намалување на морфолошката и генетската разновидност кај малините. Лојд Џеорџ и Ројал Пин се основните од европските сорти додека станатите три врсти се европските и северноамерикански вкрстувања на Пресен, Кутберт и Њубург (Graham, J., et al., 2004). Природната хибридизација се случила меѓу европските сорти и сортите од Северна Америка до раните 1900-ти. Во тоа време, Џеорџ Пин, приватниот одгледувач од Топшам, Девон, Англија, успеал да создаде нови сорти избирајќи врсти од самосадени садници. Најуспешната сорта на Пин е Пинес Ројал. Пинес Ројал бил расад израснат од Џеорџ Пин во 1907 година и воведен во масовно производство во 1913 година (Darrow, G.M., 1937). Друга сорта малини, пак, кои се пронајдени во шумата Кент, Англија од страна на J.J. Котел, била претставена во 1919 година. Котел оваа сорта ја нарекол Лојд Џеорџ. Пин Ројал и Лојд Џеорџ биле во фокусот на програмата за истражување на Источен Мелинг. Источен Мелинг е програма создадена во 1913 година во Кент, Англија, од овоштарите од областа. Целите во тоа време биле насочени кон решавање на тековните проблеми со кои се соочувале лозарите. Последователно, со спроведување на применето истражување преку генетика и подобрување на земјоделските култури, екологија на штетници и патогени и ефикасност на ресурсите за производство на земјоделски култури, Источен Мелинг придонел за начинот на производство и испорака на одгледуваните култури.

До почетокот на минатата деценија, во 22 земји во светот, имало 45 програми за одгледување малина. Програмите за размножување имаат за цел да развијат нови сорти со подобри карактеристики. Фокусот е ставен на карактеристики како што се повисок принос, подобрување на квалитетот на плодот и зголемена отпорност кон штетници и болести. Истражувањата и соработките резултирале со низа напредни селекции.

Проширеното размножување и пуштањето на нови сорти, доведува до тоа одгледувачите да го насочат вниманието кон сорти кои порано созреваат и кон сорти кои имаат поголеми плодови. (Hanson, E., D. Brown-Rytlewski, 2014).

2.6.1. Производство во тунели

Типична сезона на растење малинаните е од јуни до август кај двегодишните сорти и од август до октомври кај едногодишните сорти. Претходните истражувања ги проценија придобивките од производство на малини во високи тунели. Употребата на производство во високи тунели може да ја продолжи таа сезона од мај до ноември или дури и до декември (Heidenreich, S., et al., 2012). Придобивките од производството на малина во високи тунели вклучуваат продолжена сезона на растење, зголемена моќност на растенијата, зголемен принос, зголемена големина на плодот и контрола на животната средина. Заштитата од животната средина може да се припише на намалувањето на заболувањата и притисокот на инсекти. Продолжување на сезоната со висок тунел ќе им овозможи на одгледувачите да добијат поголема цена на мало, за јагодестото овошје надвор од сезоната. Се покажа дека производството во високи тунели дава повеќе од три пати поголемо производство од произведеното на отворено поле.

И покрај бројните придобивки од производството во високи тунели, има некои ограничувања што треба да се земат во предвид. За производство во високи тунели се бара поголемо знаење и време за одгледување на културите. Растенијата мора да се наводнуваат бидејќи во тунелот нема дожд, а исто така и тунелите мора да се одржуваат на соодветна температура. Високите тунели имаат различна микроклима и како резултат на тоа некои инсекти можат да влезат во нив и да ги нападат асенијата (Koester, K., M. Pritts. 2003). Бидејќи сезоната се продолжува во зима, тунелот мора да биде појачан за да издржи товар на снег или снегот мора да се отстранува редовно од структурата. Климата и заштитата на средината со висок тунел исто така може да бидат привлечни за мали животни како што се зајаци, глупци, како и птици.

2.6.2. Болест и управување со штетници

Постојат бројни болести и штетници кои можат да влијаат врз производството на малина. Управувањето со штетници варира во зависност од сортата, географската локација, условите за растење и методот на производство. Важно е да се воспостави стратегија за управување со штетници кои можат да се појават кај растенијата. Таквите растителни стратегии вклучуваат: избор на сорти отпорни на болести, контрола на плевелите, избегнување на садење во близина на диви капинки и правилен избор на места. Воспоставено управување со растенијата вклучува: одржување на здравјето на растенијата, чистење и отстранување на старите гранки, неделно отстранување на трња и добивање соодветна идентификација на болеста или штетниците. Болестите можат да бидат предизвикани од биотички или абиотички фактори. Биотичките заболувања се предизвикани од живи суштества, додека абиотичките се предизвикани од надворешни фактори во животната средина (Olcott-Reid, B., W. Reid, 2007).

2.7. УСЛОВИ ЗА РАСТЕЊЕ

Малините претпочитаат средини со умерени летни температури пониски од 30°C, но повеќето култивирани сорти трпат и температури до -30°C. Зимските температури кои варираат или паѓаат под -30°C можат да предизвикаат оштетување на растението (Warmund, M., 2009). Оптималните температури на лисјата се од 18°C до 22°C. Надминување на овие температури може да предизвика намалена фотосинтеза која може да доведе до намалување на големината на растенијата и плодот, како и складирани јаглени хидрати. Малините растат најдобро во добро исцедена глинеста почва, со органска материја поголема од 3% и рН вредност од 5,5 до 6,5 (Nathan, M., et al., 1999). Температурите на почвата од 22° до 27°C се најдобри за корените. Кореновиот систем главно ги зафаќа првите 16см на почвата, што ги прави чувствителни на високи температури, стрес од суша или прекумерна вода. Корените од малина не се толерантни на сол. Потребите за светлина на малината се минимум 6-8 часа сончева светлина, растенијата толерираат светлосна сенка, додека високиот интензитет на светлината може да резултира со оштетување на растението од сонцето (Hall, H., et al., 2009). Ова може да се контролира при производство со употреба на материјал што ќе држи сенка. Општите барања за вода за малината се приближно 2.5см вода неделно по растение. Ова се разликува во зависност од сортата, фазата на раст, типот на почвата, температурата и изложеноста на ветрот. Критичниот период за наводнување на малина е за време на цут и кога плодот се зголемува, пред бербата (Lamont, Jr. William, et al., 2015). Точните количини и времето на вода за малина е важно за правилен раст и развој. Вишокот на вода може да доведе до заболување на коренот, додека недостигот на вода може да резултира со намалување на живост и принос на растенијата. Оплодување е процес во кој хранливите материи се снабдуваат во исто време како и водата, обично со наводнување капка по капка во коренот на растението. Малините имаат потреба од период на дорманција и ладење на годишно ниво. Барањето за ладење се однесува на бројот на часови во кои растението треба да биде изложено на температури од 0°C до 7°C пред да го прекине периодот на дорманција во следната пролет. За малината потребни се околу 800-1800 часови за ладење, на температура помеѓу 5° и 12°C, за да се овозможи растението да премине во дорманција и да го заврши периодот на мирување во зима, пред да го продолжи вегетативниот раст следната пролет. Од крајот на летото и во почетокот на есента,

растението претрпува физиолошки промени кои му помагаат да ги издржи ниските зимски температури.

Деталите за циклусот на раст детално се опишани од Џенингс (Jennings, D. L. 1988). Кај црвената малина, според животниот циклус на растенијата, се разликуваат две различни групи на сорти. Двегодишните плодни сорти, кои уште се нарекуваат флорикански плодни или летни култури (оние со 2-годишен животен циклус), во периодот на тие две години ги поминуваат сите животни фази (т.е. вегетативен раст, формирање на цвет, плод, како и период на мирување на пупките и кршење односно паѓање на зеленилото). Годишните плодни сорти, пак, познати како примокано-плодни или есенски сорти, есенски култури, се постојано плодни и го завршуваат животниот циклус за една година. Покрај овие две, постои и трета група на сорти, кои произведуваат мал број на цветови и следствено на тоа и мал број на плодови на крајот од првата вегетативна сезона, само на врвот на горните гранки, додека преостанатите цветни пупки даваат плод следната (втора) година. Во зависност од условите на животната средина, двегодишните и едногодишните сорти понекогаш можат да го покажат истото однесување и да добијат карактеристики на оваа третата сорта (Heide, O. M. & Sonstebly, A. 2011). Едногодишните, примокан сорти, малини имаат тенденција да се одгледуваат во потоплите области на Европа каде што температурата во есен е релативно висока и постои мал ризик од рани есенски мразови. Кај примокан сортите, цветањето и плодот се јавуваат на дисталните гранки, додека оние кои се проксимални до стеблото остануваат да мируваат до следната пролет, така што одгледувачите, особено во области со малку или без воопшто часови за ладење, можат да имаат две култури годишно, иако се карактеризираат со послаб квалитет на плод во споредба само со есенска култура (Pritts, M. 2008). Примоканските сорти имаат многу предности во однос на традиционалните флорикански сорти бидејќи немаат долги барања за студ и затоа можат лесно да се одгледуваат во потоплите региони. Тие се полесни за одгледување бидејќи на крајот на сезоната на плодови, цела плантажа може да се искоси до земја, намалувајќи ги трошоците за режење, како и трошоците за управување со штетници и патогени, бидејќи нивниот животен циклус е нарушен. Исто така, со целосно отстранување на стапчињата во доцна есен се намалува веројатноста од негативно влијание на студот во текот на зимата врз растенијата. Флориканските сорти, пак, имаат потреба од зголемена светлина, поради што е потребно да се распространуваат гранките на начин на кој ќе се зголеми светлината во долната крошна на растението за да го поддржи нивниот развој од примокан (т.е. неплодни

вегетативни гранки формирани во првата година од двегодишниот циклус на раст) до фрукто- гранки (т.е. плодни гранки од втора година). За примоканските сорти, пак, ова не е потребно бидејќи тие испуштат плод само на дисталните гранки.

Сезоната на садење на примоканските сорти може да се продолжи со усвојување на различни агрономски практики.

2.7.1. Ѓубрење на малината

Анализата на почвата е првиот чекор за утврдување на потребите на местото за садење. Резултатите од анализите на почвата укажуваат на тоа какви хранливи материи се достапни во почвата што треба да ги прими растението и дали се потребни какви било промени или препораки за да се добие посакуваната култура (Pritts, M., C. Heidenreich, 2012). Фактори кои влијаат на достапноста на хранливи материи се температурата, аерацијата на почвата, концентрацијата на хранливи материи, стапката на раст на растенијата и влагата во почвата (Crandall, P., 1995). Спротивно на тоа, анализата на растително ткиво се користи за мерење на хранливите материи што се земени и се наоѓаат во различни делови на растението. Анализата на растителните ткивата може да го алармира одгледувачот за нивото на хранливи материи кои се приближуваат до недостатокот и ако ѓубривото е повеќе концентрирано. Може да се преземат корективни активности пред да бидат видливи симптоми на растението.

Примарните макронутриенти, азот (N), фосфор (P) и калиум (K), се хранливи материи потребни во најголема количина за малините. Покрај нив, за малините се потребни и калциум (Ca), магнезиум (Mg) и сулфур (S), како секундарни хранливи материи. Потребите на малините за Ca и Mg се умерени, а потребата за S е мала. Микронутриентите бор (B), бакар (Cu), железо (Fe), манган (Mn), молибден (Mo) и цинк (Zn) се користат во мали количини од страна на растението, но сепак тие играат важна улога во развојот на растенијата. Потребите на растението за B и Cu се средни, Fe и Mn се високи, а барањата за Mo и Zn се ниски (Bushway, L., et al., 2008). Важно е да се имаат резултати од анализа на почвата пред примена на овие хранливи материи, бидејќи внесувањето на хранливи материи над одредени граници може да биде штетно за растението и околината (Sheavly, M., et al., 2011). Азотот (N) е најважната хранлива материја која е потребна за раст на растенијата и генерално е потребна во големи количини. Азотот (N) е неопходен за раст на растенијата, формирање на аминокиселини и е директно вклучен во фотосинтезата.

Вишокот на азот за време на садењето, потенцијално може да доведе до умерен вегетативен раст на растението и, следствено, до страдање на коренскиот систем. Азотот (N) треба да се примени врз основа на препораките за анализа на почвата и количината на органска материја во почвата. Органските материи се состојат од живи организми, свежи и распаднати остатоци од животински ѓубрива, и растителни ѓубрива. Животинските ѓубрива додаваат органска материја и хранливи материи директно во почвата. Растителните ѓубрива се култури што растат во текот на зимата и пролетта и се ораат во раната пролет (Gu, Sanjun., 2010). Ѓубрењето се однесува на метод во кој ѓубривото се нанесува на 5 до 10cm од страната на растението. По нанесувањето на ѓубривото почвата лесно се расипува и се наводнува. Директниот контакт со растителното ткиво на одредено ѓубриво може да резултира со оштетување на растението. Азотот (N) варира во почвата и неговото ниво на присуство во почвата се менува во зависност од биолошката активност и условите на почвата. Фосфорот (P) е главна компонента на растителната ДНК и игра клучна улога во бројните растителни функции. Тој е од клучно значење за развој на корен, раст на растенијата и зрелост, производство на семе, трансфер на енергија, фотосинтеза, трансформација на шеќер и скроб, движење на хранливи материи и пренесување на генетски својства. Фосфорот е непроменлив во почвата и треба да се меша во горните 20 cm на почвата. Калиумот (K) е задолжителен за активирање на осумдесет или повеќе ензими во растението и е одговорен за зголемување на ефикасноста за користење на водата и претворање на шеќерите во скроб. Соодветните нивоа на K го подобруваат квалитетот на плодот и ја зголемуваат толеранцијата на стресот. Калиумот (K) е непроменлив во почвата и треба да се примени само ако анализата почвата означува ниско ниво (Ball, J., 2001).

2.7.2. Берба и ракување

Висококвалитетното производство на малина зависи од повеќе фактори како што се постапки пред и после бербата, како и од методот на берба. Важни фактори што треба да се земат во предвид пред берба, односно, може да се каже, при самото создавање на расадници со малина вклучуваат: избор на сорти, локација на насад, грижа за растенија, наводнување, прихрана на растенија и управување со болести и штетници. Од факторите кои влијаат за време на берењето, треба да се земат во предвид: температурата и периодот на собирање во денот, количината на влага и времето поминато помеѓу бербата и ладењето (Heidenreich, C., et al., 2012). Плодот од

малини препорачано е да се бери на секои два дена бидејќи плодовите зреат брзо. Берењето е рачно или машинско, во различна застапеност во различни делови од светот. Постојат различни типови машини што се користат за берење малини, а сите тие имаат иста цел - да обезбедат побрза берба, но со нивна употреба, пак, постои ризик од оштетување на плодот. Бербата со раце се користи во производство во тунели (топли леи за расад) и потребни се 8-10 обучени работници за да соберат еден хектар плод од малини (Olcott-Reid, B., W. Reid, 2007).

Постојат разлики меѓу сортите, иако општо правило е дека плодот од малина е подготвен за берба кога за прв пат ќе добие целосно црвена боја. Плодот треба лесно да се одвои од стеблото. Малините се лесно расипливи и лесно се оштетуваат. Откако ќе се соберат, плодот треба да се стави директно во проветрени контејнери и да се олади во рок од 4 часа. Респирацијата е процес во кој резервите на храна се претвораат во енергија. Овој процес започнува по бербата и може да резултира во намалување на шеќерот и уништување на плодот. Малината има висока стапка на дишење што се зголемува со зголемувањето на температурата. Стапката на дишење за малина складирана на 0°C е 24mg јаглероден диоксид на кг малина на час; стапката за малина складирана на 10°C е 92mg јаглероден диоксид на кг малина на час, а за малина складирана на 17°C стапката е 200mg јаглероден диоксид на кг малина на час. Затоа, важно е правилно да се ракува и да се излади за да се обезбеди најдобар квалитет (Bushway, L., et al., 2008).

2.7.2.1. Берба на малини

Со цел да се избегне прекумерна манипулација и оштетување на плодот, плодовите за свеж пазар треба да се берат рачно, при што се сортираат, оценуваат и пакуваат во контејнери, во самото поле од каде што се берат, непосредно по бербата. Зрелоста на плодот, при бербата и ракувањето со плодовите, е критичен фактор за квалитетот на одржување после бербата. Всушност, фазата на зрелост при бербата, во голема мера влијае врз рокот на траење на плодовите, нивното однесување при складирање и можноста за продажба (Krüger E, et al., 2003). Незрелиот плод може да има подолга способност за складирање, да трае подолго време пред да се расипе, но веројатно нема да развие соодветни органолептички карактеристики кои се пожелни за купувачот, додека рокот на траење на презрело собран плод, генерално е многу краток, бидејќи како таков е со поголема можност за расипување и распаѓање. Бидејќи

плодовите зреат брзо, но нееднакво, од клучно значење е малините да се берат дневно, или на секои 2-3 дена, во зависност од временските услови и областа на производство, а исто така да се обучуваат берачите правилно да ја идентификуваат фазата на зреење и правилните практики на берење за да се избегнат штети на плодот.

Идеално, плодот треба да се бере рано наутро, откако росата ќе се тргне од плодовите или навечер кога температурите се пониски. Плодиовите не треба да се допираат пред бербата, бидејќи тие се екстремно крехки и лесно се оштетуваат за време на бербата од притисокот на берењето. Само плодови со добар изглед треба да се стават во пакувањата, при што плодот треба да биде заштитен од изложеност на директна сончева светлина. Секој плод кој е расипан уште на стеблото, треба да се обере од растенијата и да се фрли подалеку од плодовите што се продаваат за да се избегне контаминација, додека малите и презрели плодови може да се користат за преработка.

2.7.2.2. Одредување на индексот на зрелост

Може да се користат различни индекси на зрелост за да се одреди оптималното време на берба на плодовите. Сепак, зрелоста на берење, главно, се одредува според бојата на површината на плодовите, која во случајот на малини, треба да биде целосно светла црвена. Бојата е исто така главниот критериум што го користи потрошувачот за да го процени квалитетот на плодот. Покрај тоа, втор индекс кој покажува зрелост на малината, е тоа што, кога се зрели, тие треба лесно да се извлечат од стеблото, а сепак да бидат цврсти. Покрај ова се земаат во предвид и бојата, изгледот (големина, форма и отсуство на дефекти), цврстина, арома и хранлива вредност. Неколку студии покажаа дека бојата на плодот може да се промени за време на складирањето дури и ако плодовите се собираат во раните фази на развојот на бојата. Меѓутоа, промените во содржината на шеќер и киселина, кај овие незрели плодови, не се доволни за да ги направат погодни за свежа консумација. Од друга страна, Кругер и сор. објавиле дека соодветноста за продажба на малини брзо се намалува со зголемена фаза на зреење, и затоа, плодот не треба да се складира, тој треба да се продава и консумира веднаш по берењето (Sacks EJ, Shaw DV, 1993). Во секој случај, се препорачува да се избегнува мешање на различни фази на зреење во исто пакување, бидејќи оваа практика обично ја одбиваат потрошувачите на пазарот. На индустриско ниво, изборот на плод се заснова и на надворешни фактори, како што се интензивна црвена боја и дистрибуција на боја,

големина и облик на плод и отсуство на физиолошки дефекти и на внатрешни параметри за квалитет, вклучувајќи сладост, киселост и вкус.

2.7.3. Пакување

Паковките кои најчесто се користат во супермаркетите за малини се лесни, прозрочни пластични садови кои содржат 250гр плод. Се користат и контејнери од стиропор и дрвени контејнери, но нивен недостаток е што лесно се прават со дамки од пигментот на малината, а покрај тоа дрвените контејнери се исто така и скапи. Без оглед на материјалот, повеќе се претпочитаат широки и плитки садови отколку длабоки контејнери и не треба да се ставаат повеќе од три слоја плод во секое пакување бидејќи плодот во долниот дел може да биде здробен од плодовите одозгора.

Пластичните садови имаат некои предности: тие се цврсти и на тој начин го штитат плодот од механички оштетувања, не се валкаат, евтини се, и бидејќи се обично прозирни, им овозможуваат на потрошувачите да го прегледаат целиот плод внатре во паковањето во моментот на купување. Едно од правилата е тоа што паковките во кои се продаваат малините треба да се со отвори за проветрување, одозгора и од страните, и да имаат капак за да се намали механичкото оштетување и загубата на влага. Од друга страна, главниот недостаток на овие пакувања е отстранувањето на пластиката по употребата. Во некои земји, сè уште е многу вообичаена практика употребата на корпи или кофи, кои понекогаш содржат и до 12-15кг плод. Овој вид паковки не се соодветни бидејќи тие обично не се мијат или дезинфицираат пред повторна употреба, односно, не се хигиенски и можат да акумулираат спори на габи. Понатаму, прекумерната маса на плод предизвикува оштетување на плодот кој се наоѓа на дното, кој обично се уништува. За да се апсорбира сокот истечен од плодот, често се додава апсорбирачка хартија на долниот дел од корпите, под плодот, што ја влошува ситуацијата. Се прават некои напори да се елиминираат овие видови практики и овие паковки да се заменат со картони што содржат пластични садови или целосно картонски кутии.

2.7.4. Предладење

Предладењето, кое се состои во брзо отстранување на топлината од плодовите веднаш по бербата, е од суштинско значење за одржување на квалитетот на плодот и контрола на неговото расипување. На пример, плодовите кои брзо се ладат до 0°C

показале трикратно подолг период на складирање, во споредба со оние плодови кои се одржуваат на 10°C. Топлината на околината често се отстранува со присилно воздушно ладење, при што студениот воздух брзо се движи, принудно со вентилатори и разладувачи, низ палети во кои има плод за да ја намали температурата на плодот на 0-1°C во рок од 2 часа од берењето. Овој метод е подобар и се преферира повеќе од т.н. собно ладење, бидејќи принудниот воздух може да ги излади плодовите до 1°C во рок од еден час, додека ладењето на просторијата може да потрае до 9 часа. Малините треба присилно да се изладат со воздух до 1°C, најдоцна 12 часа по бербата. Во просториите за ладење треба да се одржува висока релативна влажност (85-95%), при што слободната влага во плодот или во контејнерите треба да се сведе на минимум бидејќи, за да се намали гниењето на плодот, малините мора да се чуваат суви (Stavang JA, et al.. 2015).

2.7.5. Складирање

Малините се многу расипливи поради нивната релативно висока содржина на вода и високата физиолошка активност по бербата што водат до расипување и потемнување на плодовите. Високите стапки на дишење на овие плодови предизвикуваат промени во текстурата, бојата, вкусот и хранливата вредност за време на складирањето, а таквите промени се клучни за одредување на квалитетот на плодот и прифатливоста на потрошувачите. Нивниот краток век на складирање е исто така резултат на распаѓање предизвикано од патогени кои предизвикуваат расипување и брзи стапки на омекнување. *Botrytis cinerea*, широко распространет некротрофичен габичен патоген, е еден од главните патогени одговорни за расипување на плодовите по бербата. Појавата на овој патоген резултира со мек, гнилав плод со појава на сиви делови. Еден од начините да се спречи негова појава е со додавање на етилен во просториите за складирање, но тој, од друга страна, може да придонесе за појава на промена на бојата на плодот, односно да предизвика потемнување на црвениот плод во виолетово-црвено (Williamson B, et al., 2007).

Друго физиолошко нарушување што може да влијае на плодот за време на складирањето е загубата на вода, која пак предизвикува собирање на плодовите, губење на сјајот и игра важна улога во деградацијата на антоцијанот. Губењето на вода го забрзува стареењето на плодот и максималната дозволена количина вода што може да се изгуби (врз основа на губење на масата) од плодовите, пред да станат

несоодветни за продажба, е 6%. За време на ракувањето со плодовите по бербата, загубата на вода може да се намали со брзо претходно ладење и соодветно пакување и складирање на оптимална температура и релативна влажност. Во моментот, најпроширените методи кои се користат за одржување на квалитетот и стабилноста на биоактивни соединенија и за контрола на распаѓањето на плодот се: миење на плодот после бербата, брзо ладење веднаш по бербата и складирање на ниски температури. Понатаму, болестите по бербата вообичаено се контролираат со употреба на синтетички фунгициди и складирање во контролирана или модификувана атмосфера со висока концентрација на CO₂. Сепак, овие методи имаат одредени ограничувања. Не се препорачува миење на плодовите пред малопродажба затоа што обвивката на плодот може лесно да се оштети, а периодот на сушење го одложува претходното ладење и ги засилува инфекциите од патогени микроорганизми. Исто така, хемиските фунгициди може да имаат негативно влијание врз безбедноста на храната а покрај тоа постои и загриженост во јавноста за загадувањето на животната средина, можна контаминација на плодовите со остатоци од фунгициди и неможност да се контролираат габични заболувања поради појавата на соеви на патогени толерантни на фунгициди (Legoux P. et al., 2007).

2.7.5.1. Температура

Еден од главните фактори кои влијаат на должината на периодот на складирање и квалитетот на плодот е температурата, бидејќи ја регулира брзината на сите метаболички процеси што се случуваат во плодот од малините.

Ниските температури го забавуваат растот на габите и во исто време ја намалуваат стапката на дишење и загубата на вода, и според тоа, ги одложуваат процесите на зреење и стареење. Бидејќи овие плодови се нечувствителни на повреди од ладење, продолжувањето на рокот на траење често се постигнува преку ниска температура со оптимални услови за складирање малини на 0°C и 90-95% релативна влажност (Giuggioli NR, et al., 2015). Температурата на складирање е еден од клучните фактори за сузбивање на габичното расипување и влијае врз стабилноста на фенолните антиоксиданти во плодот за време на складирањето по бербата. Исто така, управувањето со температурата е најважниот фактор што треба да се земе во предвид за да се задржи почетната содржина на аскорбинска киселина за време на складирањето.

Сепак, дури и кога складирањето на малините се врши на температура од околу 0°C, што се смета за најдобра температура за нив, дистрибуцијата во камиони и

продавници, комерцијализацијата и складирањето во домаќинствата на потрошувачите обично се случуваат на повисоки температури, што може негативно да влијае на трајноста на плодовите, како и на нивниот физичко-хемиски квалитет и хранлива вредност. И покрај веќе познатите позитивни ефекти од ниските температури врз рокот на траење по бербата и квалитетот на свежото плод и зеленчук, во литературата може да се најдат контрадикторни резултати. Ладењето на плодот на 0°C може да биде штетно за краткорочната продажба, бидејќи изгледот на плодот може да биде поматен, а кондензацијата на плодот за време на повторното загревање може да резултира со поголема инциденца на распаѓање.

2.7.5.2. Модифицирана и контролирана атмосфера

Модифицираната атмосфера (МА) и контролираната атмосфера (СА) се однесуваат на која било атмосфера што се разликува од вообичаениот воздух и обично вклучува атмосфери во кои има намалени нивоа на кислород и/или покачени нивоа на јаглероден диоксид. Разликата меѓу нив е во тоа што СА е строго контролирана во текот на целото време. И МА и СА може да се користат за складирање, транспорт и пакување на различни видови храна во согласност со ниските температури за да се продолжи нивниот рок на траење по бербата. Изложеноста на свежите плодови на атмосфери со низок кислород и/или покачени нивоа на јаглероден диоксид, во опсегот што го толерира плодот, го намалува производството на етилен во просторот и затоа резултира со неколку корисни ефекти, како што се: одложување на зреењето и распаѓањето и поврзани биохемиски и физиолошки промени, намалување на чувствителноста на дејството на етилен, ублажување на одредени физиолошки пореметувања како што се оштетувања од ладење, директна и индиректна контрола на патогените, и уништување на плодовите. Доколку плодовите се изложени на концентрации на кислород под и/или концентрации на јаглероден диоксид над нивниот оптимален поднослив опсег, кај плодот брзо се јавува започнување и/или влошување на одредени физиолошки промени, неправилно зреење, зголемена подложност на распаѓање, развој на лоши мириси, и на крајот, може да дојде до губење на производот (Yahia Em, 2009).

Модифицираната атмосфера (МА) и контролираната атмосфера (СА), со покачени концентрации на јаглероден диоксид (15–20%) и на кислород (5–10%), го намалуваат растот на *Botrytis cinerea* (широко распространет некротрофичен габичен

патоген) и други организми кои предизвикуваат расипување. Дополнително, го намалува дишењето и стапката на омекнување на плодовите, а со тоа го продолжува животот по бербата. Сепак, понатамошното намалување на концентрациите на O_2 до 2kPa нема никаква корист и може да предизвика ферментација на овошјето. Покрај тоа, може да се создадат мириси ако плодовите се чуваат под атмосфери со висока содржина на CO_2 повеќе од 4 дена, бидејќи резултатот од анаеробното дишење и ефектот врз зачувувањето на вкусот на овие плодови не е јасен. Неколку автори пријавиле промени во рН вредноста, киселоста што може да се титрира, вкупните растворливи цврсти материи, шеќери и органски киселини и ферментативни метаболити по складирањето во атмосфери збогатени со CO_2 .

Помеѓу ароматичните соединенија, естрите се очигледно испарливи материи кои се најмногу погодени од атмосферите збогатени со CO_2 . Синтезата на антоцијанини продолжува по бербата, но таа е инхибирана во плодовите складирани во високи концентрации на CO_2 . Според Холкрофт и Кадер (Holcroft DM, Kader AA., 1999), високите концентрации на CO_2 , заедно со ниските концентрации на O_2 , исто така, може негативно да влијаат врз вкупната содржина на аскорбинска киселина и антоцијанини и, на тој начин, да имаат негативно влијание врз бојата на плодот и хранливата вредност.

Атмосферата од 12,5kPa CO_2 и 7,5kPa O_2 е ефикасна во намалување на расипувањето на црвените малини, а покачените концентрации на CO_2 заедно со намалените концентрации на O_2 го инхибираат растот на мицелите и спорулацијата на *B. cinerea* и други габи одговорни за расипување на плодот по бербата (Forney CF, Jamieson AR, Pennell KDM, Jordan MA, Fillmore SAE. 2015). Уште повеќе, малините складирани во 10/15kPa O_2/CO_2 покажуваат поактивна боја во споредба со плодот складиран во воздух. Џованели (Giovanelli G., et al., 2014) утврдил дека употребата на материјали со висока и средна бариера го одложуваат стареењето и не влијаат негативно врз хранливите и антиоксидативните својства на црвените малини складирани на 4°C.

2.7.6. Шема за сертификација за здравјето на растенијата малина

Малината е повеќегодишна култура која бара почетни високи инвестициски трошоци за основање и одржување на расадите, така што употребата на растенија без патогени е важна за добивање на продуктивни и профитабилни насади. Во текот на

неколку сезони, растенијата одгледувани на отворено поле во разни услови се повеќе се заразуваат со штетници и патогени кои имаат негативни ефекти врз приносот. Многу е важно одгледувачите да го максимизираат животниот век и приносот на расадите и да ги намалат загубите на културите со периодично садење на нови растенија на нивните расади или да создадат целосно нови расади со сертифициран саден материјал без патогени организми. Шемата за сертификација на здравјето на растенијата (PHCS) беше воведена во Обединетото Кралство во 1940-тите години и оттогаш таа има значаен придонес за успехот и развојот на индустријата за малини. PHCS им обезбедува на одгледувачите и размножувачите материјали добиени од растенија кои се тестирани за сортниот идентитет, здравствената состојба и издржливоста на растението. Добробитта на растенијата се одржува со воведување на растителен материјал тестиран од патогени во системот за размножување, водење постојана историја на сертификатите и со примена на ограничувања за подобност во секое одделение од шемата за сертификација. Шемата за сертификација на ЕУ дефинира пет степени: Pre-basic, Basic 1, Basic 2, Standard и Conformitas Agraria Communitas (CAC).

Ова всушност подразбира создавање на расад само од соодветни растенија тестирани од штетници и патогени. Растенијата од етаблираните сорти или новооткриените, влегуваат во шемата откако ќе бидат тестирани (т.е. биолошки и/или молекуларно) за низа различни болести. Овие растенија се одржуваат во стерилен компост во стаклена градина отпорна на инсекти, се наводнуваат со UV стерилизирана вода и се визуелно проверени и тестирани, а ако не покажат соодветни резултати на една анализа тие се уништуваат. Целите на шемата за сертификација се двојни, да обезбедат, и на одгледувачите и на размножувачите, висококвалитетен саден материјал, додека втората цел е да се избегне ширење на штетници и болести со воведување само на тестиран материјал.

Засадувањето на сертифициран материјал од *Rubus* без болести на чиста почва, каде што се отстранети постојаните габи, бактерии, вируси и одредени штетници, претставува најдобра стратегија за зголемување на производството, приносот и времетраењето на расадите.

2.8. МОЖНОСТИ И ПЕРСПЕКТИВИ ЗА ОДГЛЕДУВАЊЕ И ПРОИЗВОДСТВО НА МАЛИНИ ВО РЕПУБЛИКА СЕВЕРНА МАКЕДОНИЈА

Малината е една од позначајните јагодести овошни видови во Р.С. Македонија. Плодот се користи во свежа состојба за различни преработки (сок, сируп, вино, ликер, компот, слатко, џем, пулпа) и за замрзнување. Свежиот плод од малина има мала енергетска вредност (224 kJ), а богат е со минерални материи (К, Р, Са, Mg, Fe) и витамини (Ц, Б1, Б2, Б6). Плодот зрее во јуни-јули, време кога нема многу друго овошје.

Дали и колку одгледувањето на малини е исплатлив агробизнис, или пак задоволство теоретското да се практикува на терен (Јовица Момирчевски, 2020)?

Во РС Македонија, според одредени пресметки, за подигање на еден декар малини се потребни околу 500 евра, за да се подготви површината, опремата и садниците. Планинскиот и ридест предел на РСМ нуди одлични услови за одгледување на малини, каде просечниот род изнесува од 800 до 1000kg од насаден декар. За површина од 3 декари, околу бербата е потребно да се ангажираат работници кои за 8 часа берат околу 20 до 40 kg секој. Цената е варијабилна, ако на пример пред десетина години таа достигнувала и до 150 денари за килограм, последните години паднала и на 60 денари за килограм и со ова се покажувало дека производството на малини нема голема перспектива. Но, оваа година, во малопродажба малината достигнува цена од 250 до 300 денари за килограм. Минатата година голем дел од плодот кој се доби од производителите мораше да биде пренаменет, наместо свеж за продажба на пазар, тој беше замрзнат поради немање на пласман и долгиот период на откуп.

Решението на оваа ситуација помеѓу производителите се гледа во помош од страна на државата, кога е во прашање откупот, бидејќи на производителите најмногу помош им треба во овој дел.

2.8.1. Почвено-климатски услови за успешно одгледување на малини

Малината бара почви со полесен механички состав, претежно со делувивјален или алувијален карактер. Основно барање е почвите да бидат богати со хумус. Добра плодноност има и на црнземи, кафеави и сиви планински почви со пропустлив подораничен хоризонт и со доволно органски материи. Сортите не поднесуваат високо

ниво на подземни води (80-100 cm од површината). При такви почвени услови, коренот често страда од асфиксија и растението угинува или останува со слаби изданоци, кои даваат ситни плодови. Тешките почви со вишок вода го помагаат и развојот на карцином на коренот, што е причина за предвремено пропаѓање на насадите (Pritts, M., & Heidenreich, C., 2012).

Малината добро се развива при средно кисела до неутрална реакција на почвата – рН 5,5 – 7. На алкални почви таа страда од хлороза, но и многу киселите почви, со рН < 5,5, не ги поднесува. Бидејќи цвета доцна, малината ги избегнува пролетните мразеви. Успева и на надморски височини над 1200 метри. Најпогодни се терени со добра воздушна дренажа, со северна експозиција, каде што почвите се постудени и повлажни, а преку зима има снежна покривка.

Коренот на малината замрзнува, на температура од -12°C до -15°C, поради што треба да се избегнуваат терени со голомразица. Сортите малини кои даваат плод во лето измрзнуваат на -18°C до -26°C, што зависи од сортата и подготвеноста за зимски период. Промената на температурата, над 6°C и под -7°C, предизвикува оштетување на изданоците.

Република Северна Македонија зазема централно место на Балканскиот Полуостров според можностите за производство на малини. Од Јадранското Море е оддалечена околу 70 километри, а од Егејското 55 километри. Релјефот е претежно брановит, ридско-планински. Рамни и благо брановити површини има околу 15%, главно покрај реките и езерата. Од три страни е заградена со високи планини, над 200 метри, кои постепено се спуштаат кон долината на реката Вардар. На југ е отворена кон Егејското Море. Климата во Македонија може да се окарактеризира како континентална, ридна, со остри зими и жешки лета со температура и над 40°C до 44°C, како и со интензивна инсолација. Ведрото небо и ниската влажност на воздухот овозможуваат добивање на плодови со интензивно обојување, изразена арома, блажина и вкус. Почвите, исто така, се многу хетерогени. Во централниот произведен реон преовладуваат потешки карбонатни почви со повисока рН. Покрај езерата има плодна почва, со слабо кисела до кисела рН. Во ридско-планинските реони преовладуваат скелетни и пропустливи почви. Постоенето на преработувачките капацитети, коморите за длабоко смрзнување на плодовите, избилството на невработена работна сила, како и големата побарувачка на домашниот, а особено на странскиот пазар, дава можност за оптимистички поглед кон ова производство.

2.8.2. Подготовка на површината за садење

Правилната подготовка на површината при подигање на овошен насад е од огромно значење за правилен развој, побрзо влегување во полна родност, поголема отпорност кон болести и штетници на овошката, поголем принос и долгогодишна родност. Подготовката на земјиштето за подигање на малина опфаќа: уништување на коровот, вадење на повеќегодишни растенија и корења, мелиоративно ѓубрење, длабоко орање и танирање (ситнење на почвата со челични дискови) (Nathan, M., et al. 1999).

Основна работа што треба да се направи е да се искорнат сите повеќегодишни растенија. Потоа, треба да се изврши растурање на мелиоративното ѓубриво по површината. Тоа треба да се изврши со околу 30 t/ha прегорено или полупрегорено арско ѓубре, 500 kg/ha суперфосфат и 800 kg/ha калиумова сол. Мелиоративното ѓубрење со органска маса може да се направи и со зеленишно ѓубрење (посевање на површината со некоја легуминоза и нејзино валање и заорување кога е во фаза на цутење). По растурање на ѓубривото, по површината се врши длабоко орање на длабочина од околу 40 сантиметри. Ова е најдобро да се изврши во периодот јуни-август. Кон крајот на септември се врши плитко орање и тањирање на површината.

2.8.3. Размерување на површината и садење

Размерувањето на површината се врши пред садењето и растојанието на садење обично е 2,5-3m ред од ред, а 0,3-0,5m во редот. Најдобро е садењето да се изврши наесен, но доколку нема можност, тоа може да се направи и рано напролет. Пред садењето, потребно е да се отворат бразди по редовите. Коренот и долниот дел од садницата се наквасуваат во претходно подготвена „каша“ од плодна почва, свежа говедска балега и фунгицид. Длабочината на садење е околу 25 cm. По садењето се затвораат браздите, а доколку тоа се правело напролет, тогаш полевањето е задолжително (Valentinuzzi, F., et al 2018).

2.8.4. Обезбедување со квалитетен материјал за садење

Квалитетот на материјалот за садење, исто така, е многу важен услов. Грешките направени при обезбедување на насад ќе се забележат наредната година со сушење на дел од садниците, но и подоцна, кога ќе родат неквалитетни и сортно

некарактеристични плодови. Затоа, при негова набавка треба да се посвети посебно внимание. Имено, тој да се обезбеди од институција „расадник“ кој гарантира за сортата и квалитетот. За подигање на насад се користат едногодишни изданоци, добро развиени, со добар коренов систем и без присуство на патогени и туѓи тела, добиени од матични стебла на одредена сорта. Сортиманот кај малината е многу широк и динамичен. Малината е рентабилна, стопански значајна овошна култура, со рано, обилно и редовно плодносење (Dolan, A., 2018).

Малината успева на планински предели до 1200 m надморска височина, но кога станува збор за обезбедување на високоинтензивно квалитетно, производство, најдобро е да се одгледува на надморска височина од 300-1000 m. Најдобро расте и најголеми приноси дава во предели кои соодветствуваат на оние во природните букови шуми. Тоа значи дека малината бара малку повлажна клима, односно реони со повеќе од 800 mm врнежи годишно и висока релативна влажност на воздухот. Најдобро и одговараат климатските услови во битолскиот, крушевскиот, беровскиот реон, во кои реони дава високи приноси и плодовите постигнуваат висок квалитет.

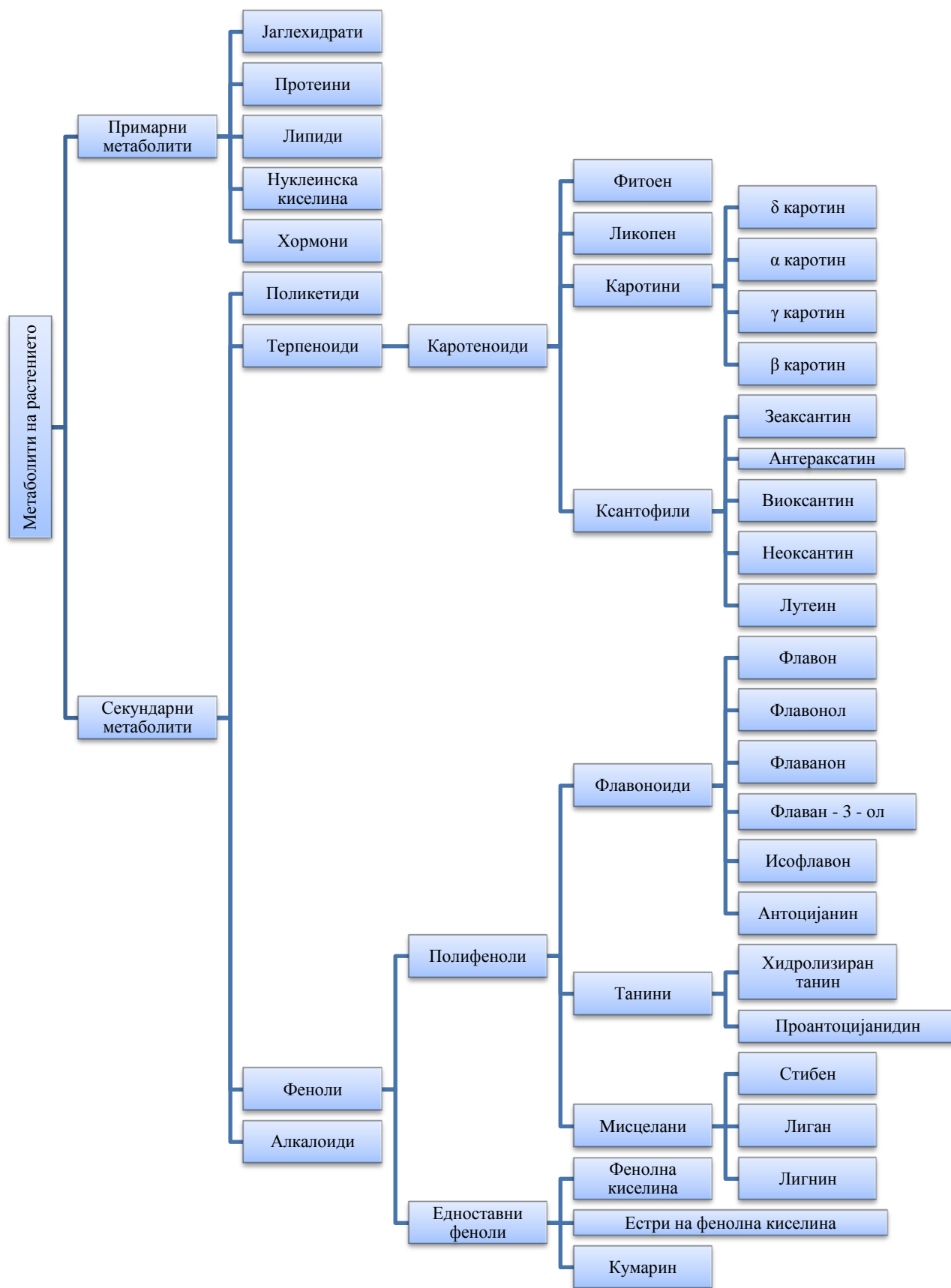
Сортата Willamette е сорта со висока родност и крупни плодови. Плодовите созреваат во втора половина на јуни. Бербата на плодовите трае 30-40 дена. Се користат за свежа употреба, замрзнување и преработка, Според искуствата на производителите, кај нас оваа сорта покажува многу добри резултати. Сортата „пикер“ има поголема родност од Willamette и созрева неколку дена после неа. Нејзините плодови се крупни и се карактеризираат со изедначеност во големината и обликот. Тоа е сорта чии плодови се погодни за механизирани бербата (Olcott-Reid, B., & Reid, W., 2007).

Приносот и рентабилноста во одгледувањето малина зависи од локацијата и организацијата на територијата. Насадот од малина треба да е на локација која има вода, поврзана со пазар и во близина на потрошувачки и преработувачки капацитети. Парцелата за одгледување малини треба да биде на североисточна или северозападна експозиција, со благ наклон. Треба да се одбегнуваат рамни долини и депресији, односно места каде што се задржува студениот воздух, како и западните страни, кои се изложени на директен удар од студените ветрови. Малината не треба да се одгледува во реони каде има честа појава на ветер. Таа е ентомофилно растение. Во природни услови се опрашува со инсекти, поради што е пожелно во близина на малините да има пчелни семејства (Pritts, M., 2006).

Производството на малина се менува кон нејзина се поголема продажба како свеж производ, а не преработен и замрзнат, со изобилство на производство што доаѓа од заштитени околии во кои растат, како оранжерии и високи тунели. Програмите за размножување продолжуваат со истражувањата насочени кон развој на сорти со зголемени приноси, подобрување на квалитетот на овошјето, поголем плод на овошјето, зголемена количина на плод и зголемување на отпорност на штетници и болести. Поради зголемениот интерес за производство на малини во заштитени околии во кои растат, одгледувачите се фокусираат на транзиција кон зголемување на растечките сорти на плодови и го намалуваат производството на плод. Понатаму, фокусот е насочен кон подобрување на производството на малини, на тој начин што со подобрување на условите за производство и со употреба на се подобра технологија и препарати се создаваат услови со кои се овозможува да се намалат загубите и да се максимизира производството.

2.9. СЕКУНДАРНИ МЕТАБОЛИТИ И ПИГМЕНТИ ВО ПЛОДОТ НА МАЛИНАТА

Растенијата синтетизираат различни природни соединенија, на пр. полифеноли и терпеноиди, со одредени придобивки за самото растение. Постојат две групи на метаболити произведени во растителните клетки, примарните метаболити и секундарните метаболити, како што е прикажано на сликата подолу. Примарните метаболити, се директно вклучени во основните физиолошки процеси и метаболички реакции суштински за раст, развој и репродукција на растенијата (Plaxton, W., and McManus, M. T., 2008). Спротивно на тоа, секундарните метаболити, играат клучна улога во заштитата на растенијата како одговор на биотски и абиотски стресови (Isah, T., 2019). Тие, исто така, придонесуваат за многу органолептички карактеристики, како и за растот, развојот и адаптацијата на растенијата на различни влијанија од околината, но не се од суштинско значење за основните процеси на животот (Yang, L., et al., 2018). Секундарниот метаболизам е секогаш поврзан со примарниот метаболизам (Pott, D. M., et al., 2019). Секундарните метаболити играат незаменлива улога во одржување на рамнотежа помеѓу растението и неговата околина. Главните групи на секундарни метаболити се алкалоиди, поликетиди, терпеноиди и полифеноли (како што е прикажано на Слика 4.).



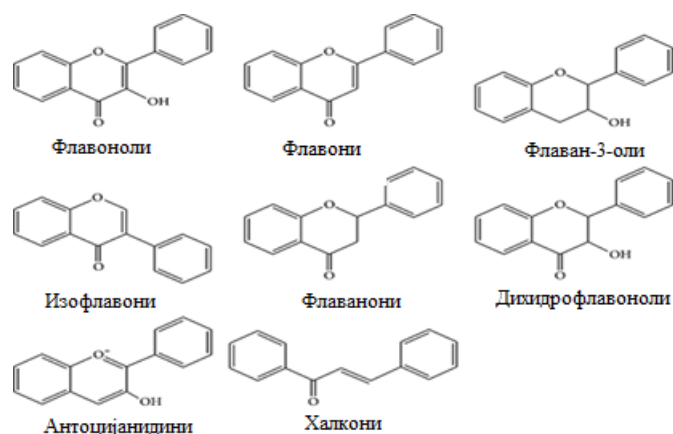
Слика 4. Главни класи на метаболити кај растенијата

Пигментите, односно обоените материи, се широко распространети насекаде во природата, ги има во наједноставните, но и во сложените организми. Хемиските пигменти може да се категоризираат во четири групи: природни, полусинтетички, синтетички и неоргански. Пигментите во природата ја прават нашата околина шарена и убава. Овие пигменти не само што им даваат боја на повеќето цветови, плодови и семиња, туку имаат и важни биолошки и физиолошки функции во растенијата. Познато е дека тие реагираат на многу биотски и абиотски стресови кај растенијата. Растителните пигменти даваат светла боја на цветовите, делувајќи како визуелен сигнал за привлекување опрашувачи за да се олесни опрашувањето (Bradshaw, H. D., and Schemske, D. W., 2003). Промената на пигментот која настанува за време на стареењето на листовите го избегнува фотооксидативното оштетување и помага во враќањето на хранливите материи во растенијата. Помеѓу различните карактеристики на квалитетот на овошјето, пигментацијата е една од најважните за приспособеното одгледување и изборот на потрошувачите. Различни други особини како вкусот, текстурата, рокот на траење, аромата и нутритивните аспекти се вбројуваат заедно со пигментацијата како фактори кои придонесуваат за квалитетот на овошјето. Природните пигменти може да се групираат во четири големи групи: тетрапироли, тетратерпеноиди, беталаини и полифеноли/флавоноиди вклучувајќи ги и антоцијаните.

2.9.1. Полифеноли

Полифенолите се голема група на природни секундарни метаболити кои главно се наоѓаат во растенијата (овошје, зеленчук, житарки итн.). Фенолните соединенија покажуваат бројни позитивни ефекти во третманот на разни видови болести кај луѓето. Благодарение на овие ефекти и лековитите својства што ги поседуваат, полифенолите, како првенствено природни соединенија, се сметаат за нутрацевтски препарати, кои во последните години се повеќе се користат во светот како додатоци во исхраната или се користат за медицински цели. Тие имаат широк спектар на различни структури, кои припаѓаат на две главни класи: не-флавоноиди (особено фенолни киселини, стилбени и лигнани) и флавоноиди, кои се карактеризираат со основниот скелет $C_6-C_3-C_6$. Двата ароматични прстени во структурата на флавоноидите се поврзани со хетероцикличен прстен, кој се разликува по степенот на оксидација и води до следната подкласификација: флаволи, флавоноли, изофлаволи, флаванони, антоцијани и флаваноли, обично наречени катехини. Некои од широко распространетите

претставници на природните фенолни соединенија се кемферол (флавонол), кверцетин (флавонол), лутеолин (флавонол) и ресвератрол (стилбеноид). И лутеолинот и кверцетинот се поврзани со нивните заштитни ефекти (Wang GG, Lu XH, Li W, Zhao X, Zhang C., 2011). Третирањето со кверцетин овозможува да се укине прогресијата на хипертензијата предизвикана од дијабетес која дополнително води до подобрување на зголемените контрактилни реакции на аортата. Понатаму, *in vitro* и *in vivo* студиите го опишуваат ресвератролот како моќен активатор на хистон деацетилаза (Yar AS, et al., 2011).



Слика 5. Фенолни соединенија во храната

Полифенолите генерално се вклучени во заштита од ултравиолетово зрачење или одбрана од патогени. Во храната, тие можат да придонесат за горчина, адстрингентност, боја, вкус, мирис и оксидативна стабилност. Бојата и вкусот на плодот делумно се припишуваат на нивните полифенолни компоненти (на пр., ликопен во домати, β -каротен во моркови и слатки компири и антоцијани во плодовите). Многу од полифенолните соединенија се поврзуваат со намалување на ризикот од хронични болести, вклучувајќи ги малигните болести, карiovasкуларните, дијабетот и зголемената телесна тежина (Prior RL, et al., 2008).

Поради нивните можни корисни ефекти врз здравјето на луѓето, полифенолите од храната се предмет на научен интерес. Проучувајќи го внесот на полифеноли во исхраната во Европа, Замора *и соп.* (Zamora-Ros R, et al., 2016) објавиле голем број на индивидуални полифеноли кои се конзумираат со исхраната и имаат висока варијабилност на нивна конзумација помеѓу европските популации, особено меѓу медитеранските земји. Утврдено е дека главните придонесувачи за полифенол се фенолните киселини (52,5-56,9%), освен кај мажите од земјите на медитеранот и оние лица кои се во група на лица со здравствени проблеми во Велика Британија, каде што

тие биле флавоноиди (49,1-61,7%). Замора *и сор.* исто така објавиле дека потрошувачката на 437 различни индивидуални полифеноли (вклучувајќи 94 конзумирани по 1mg/ден) има својства за поттикнување на здравјето.

Најзастапени според горенаведените автори биле кофеилхининските киселини и проантоцијанидинските олигомери и полимери.

Содржината на полифеноли во храната е под силно влијание на методите на кулинарска подготовка. Процесот на лупење на овошјето, на пример, може значително да ја намали содржината на полифенол, не само затоа што овие супстанции често се присутни во високи концентрации во надворешните делови, туку и поради ензимски индуцираната промена на бојата на плодот која се јавува по распаѓање на структурата на растителните клетки и последователната интеракција помеѓу ензимот полифенол оксидаза и супстратот за време на постбербените фази што доведува до промена на бојата и деградација на антиоксидатите како последица на фенолната оксидација. Поради оваа причина, истражувањето на нови еколошки системи за контролирање на активноста на ензимот полифенол оксидаза е фокусирано на иновативни нетермички технологии и биоактивни соединенија за да ги заменат конвенционалните термички третмани и традиционалните адитиви кои би можеле да ги нарушат сензорните, нутритивните и здравствените својства на прехранбените производи (Tinello F, Lante A. 2017).

Полифенолите од природно потекло се потенцијални извори на различни корисни ефекти – помагаат за спречување на појава на преголема телесна тежина, антидијабетични, антихипертензивни, антихиперлипидемски и антиинфламаторни ефекти (Cherniack EP, 2011). Најчестоконзумираните полифеноли, како што се катехините, особено епигалокатехинските галати, како и ресвератролот и куркуминот се сметаат дека имаат влијание врз спречување на зголемена телесна тежина и воспаление поврзано со зголемена телесна тежината. Докажано е дека полифенолите во исхраната ја намалуваат одржливоста на адипоцитите и пролиферацијата на преадипоцитите, ја потиснуваат диференцијацијата на адипоцитите и акумулацијата на триглицеридите, ја стимулираат липолизата и β -оксидацијата на масните киселини и го намалуваат воспалението. Понатаму, полифенолите можат да ги модулираат сигналните патишта кои ја регулираат адипогенезата, антиоксидативните и антиинфламаторните одговори (Wang S, et al., 2014). Полифенолите ја инхибираат емулзијата на липидните капки и активноста на панкреасната липаза, α -амилазата и глюкозидазата (Pan H, et al., 2016). Понатаму, Вернарели и Ламберт (Vernarelli JA,

Lambert JD. 2017) укажуваат на поврзаност на внесот на флавоноиди со индексот на телесна маса (БМИ) и обемот на половината. Авторите утврдиле дека поголемото внесување на флавоноиди влијае врз намалување на БМИ и обемот на половината, што може да придонесе за намалување на здравствените проблеми поврзани со зголемената телесна тежина, како голем ризик за многу хронични болести.

Зголеменото конзумирање на храна и пијалоци богати со полифеноли е поврзана со намалување на ризикот од кардиоваскуларните заболувања. Понатаму, меѓу храната и пијалоците богати со полифеноли, Араб и сор. (Arab L. et al., 2009) откриле поврзаност во нив помеѓу внесот на полифеноли и намалувањето на ризикот од мозочен удар и дијабетес тип 2. Зголемувањето на внесот на флавоноиди, исто така, се чини дека е начин за умерено намалување на ризикот од мозочен удар (Tang Z, et al., 2016). Дополнително, утврдено е дека флавоноидите поседуваат и антиоксидативни и анти тромботични својства (Sheng R, et al., 2009).

2.9.1.1. Полифенолен состав на црвената малина

Црвените малини поседуваат уникатен полифенолен профил кој се карактеризира првенствено по нивната содржина на антоцијани и елагитанин.

Црвените малини содржат $\sim 92,1 \pm 19,7$ mg антоцијани/100 g свежо плодно сооднос од 32:1 антоцијани базирани на цијанидин и пеларгонидин (Wu X, et al., 2006). Антоцијаните во црвените малини придонесуваат $\sim 25\%$ од нивниот антиоксидативен капацитет. Вкупната содржина на антоцијани, утврдена со HPLC, варира во различни студии поради сортата на овошјето, сезонските разлики, фазата на развој и варијациите во методите што се користат за квантифицирање на соединенијата.

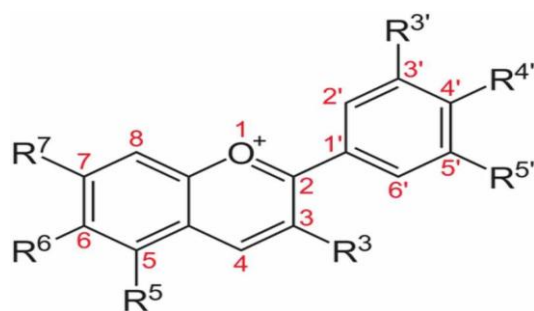
Елагитанините се другата голема група полифеноли во црвените малини. Тие се категоризираат како танини што можат да се хидролизираат. Елагитанините се различни комбинации на галска киселина и хексахидроксибензилна киселина со гликоза. Се јавуваат мономери (т.е. гликозиди на елагичната киселина) и олигомери (т.е. сангвиин Н-6). Елагитанините, заедно со галотанините, се нарекуваат хидролизирани танини. (Clifford MN, Scalbert A., 2000). Црвените малини имаат значајна содржина на сангвиин Н-6, а исто така содржат и ламбертианин С (Gasperotti M, et al., 2010). Содржината на елагитанини во црвените малини се одредува со HPLC метод.

Освен антоцијаните и елагитанините, други фенолни соединенија присутни во плодот на малината се: хидроксицинамските киселини (кофеинска, р-кумарна и ферулинска киселина), хидроксибензоевата киселина (елагична киселина), флавоноли во слободна и конјугирана форма и мали количини на кондензираните танини во црвените малини. Покрај генетските и еколошките фактори врз фенолниот состав на црвените малини, влијаат и условите за складирање и преработка (Mullen W, et al., 2002).

2.9.2. Антоцијани

Антоцијаните се обоени пигменти растворливи во вода кои припаѓаат на фенолната група. Пигментите се во гликолизирани форми. Антоцијаните, одговорни за боите, црвена, виолетова и сина, ги има во овошјето и зеленчукот. Јагодестото овошје, рибизли, грозје и некои тропски овошја, има висока содржина на антоцијани. Лиснатиот зеленчук, зрна, корења и клубени со црвена до виолетова сина боја, е јастивиот зеленчук кој содржи високо ниво на антоцијани. Меѓу антоцијанските пигменти, цијанидин-3-глукозидот е главниот антоцијанин кој се наоѓа во повеќето растенија. Обоените антоцијанински пигменти традиционално се користат како природна боја за храна. Бојата и стабилноста на овие пигменти се под влијание на рН вредноста, светлината, температурата и структурата. Во кисела состојба, антоцијаните се појавуваат како црвени, но стануваат сини кога рН се зголемува. Покрај употребата на антоцијанидини и антоцијанини како природни бои, овие обоени пигменти се потенцијални фармацевтски состојки кои даваат различни корисни здравствени ефекти.

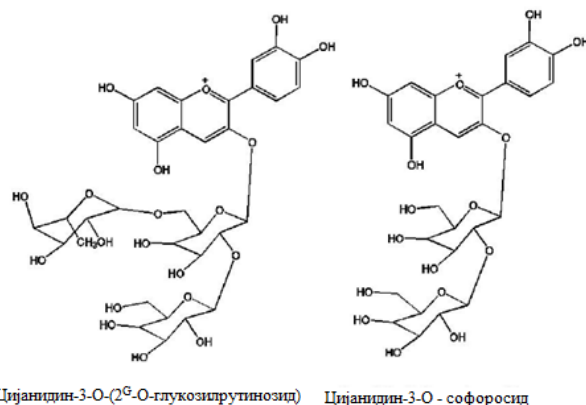
Антоцијаните се сини, црвени или виолетови пигменти кои се наоѓаат во растенијата, особено во цветовите, плодот и клубените. Во кисела состојба, антоцијанот се појавува како црвен пигмент, додека синиот пигмент, антоцијанин, постои во алкални услови. Антоцијанинот се смета за еден од флавоноидите иако има позитивен полнеж во атомот на кислород на С-прстенот со основна флавоноидна структура. Се нарекува и флавилиум (2-фенилхроменилиум) јон. Општата молекуларна структура на антоцијанот е прикажана на сликата подолу. Стабилноста на антоцијанот зависи од рН, светлината, температурата и неговата структура (Laleh GH, et al., 2006).



Слика 6. Основна структура на антоцијанин

Антоцијаните најчесто се наоѓаат во цветовите и плодовите на многу растенија. Повеќето црвени, виолетови и сини цветови содржеле антоцијани. Црвени цветови се: црвен хибискус, црвена роза, црвен ананас, жалфија, црвена детелина и розов цвет. Овие црвени цветови се јадат. Сини (пченкарно цвеќе, сина цикорија и син рузмарин) и виолетови (виолетова нане, виолетова страст цвет, виолетова жалфија, обична виолетова и лаванда) се вообичаените јастиви цветови. Некои од овие цветови традиционално се користат како народна медицина, како бои и како храна. Покрај традиционалната употреба, вообичаено се конзумираат црвени, виолетови и сини овошја поради нивните корисни ефекти. Обоените пигменти на антоцијан од јагодесто овошје, црни рибизли и други видови на црвени до сини плодови се силни антиоксидативи. Покрај тоа, црниот морков богат со антоцијани, црвената зелка и виолетовиот компир се потенцијални функционални намирници кои се конзумираат за превенција од болести.

Антоцијаните кои се наоѓаат во растенијата имаат широк опсег на употреба. Сините, црвените и виолетовите пигменти извлечени од цветови, плод и зеленчук традиционално се користат како боја и прехранбена боја. Покрај тоа што се користат како природни бои, некои од цветовите и плодовите богати со антоцијани, традиционално се користат како лек за лекување на разни болести. Од друга страна, растителните антоцијани се широко проучувани поради нивните лековити вредности. Антоцијаните поседуваат антидијабетски, антиканцерогени, антиинфламаторни, антимикробни ефекти и го намалуваат на ризикот од зголемена телесна тежина, како и од појава на кардиоваскуларни болести (He K, et al., 2011). Затоа, антоцијаните извлечени од растенија кои се конзумираат се потенцијални фармацевтски состојки.



Слика 7. Главни антоцијани во полодот од малина

2.9.3. Биорасположивост на антиоксидативи од малина

Биорасположивоста може да се дефинира како внес на соединенија преку храна што потоа се распределуваат во циркулаторниот систем и специфичните ткива и органи каде имаат одредени биолошки влијанија коишто директно влијаат врз здравјето на луѓето. Генерално, станува збор за процеси на апсорбанца, дистрибуција, метаболитски процеси и излучување на внесените соединенија. Биопристапноста и биорасположивоста на полифенолите од црвените малини се проучувани во различни *in vivo* и *in vitro* модели на системи, животински модели и испитувања за влијанието на човекот (González-Barrío R, et al., 2011).

Општо земено, полифенолните компоненти подлежат на структурна модификација пред да се апсорбираат во крвта. Исклучок од ова се антоцијаните, кои можат да се апсорбираат непроменети во нивната глицирана форма. Структурите кои не подлежат на апсорбанца во тенкото црево, продолжуваат до дебелото црево, каде што се претвораат во фенолни киселини под влијание на микроорганизмите присутни во долниот дел на цревата, по што се излучуваат со измет или се апсорбираат во мезентеричната циркулација. Метаболичките производи од дебелото црево и деконјугираните феноли и агликонските структури од горниот дигестивен тракт се подложени на метаболизам во фаза I и II во тенкото црево, црниот дроб и/или бубрезите, што резултира со метилирани, глукуронидирани и сулфоконјугирани метаболити. Добиените метаболити циркулираат во крвта и се транспортираат до различни телесни ткива и органи. Иако некои метаболити можеби никогаш нема да

влезат во општа циркулација поради одливот назад во луменот на цревата, по првичното навлегување на ентероцитите или поради ентерохепаталната рециркулација, повеќето метаболити се излачуваат преку бубрезите (Wu X, et al., 2002).

Гонзалес-Барио и сор. (González-Barrío R, et al., 2010) проучувале што се случува со антоцијаните, елагичната киселина и елагитанините откако здрави човечки доброволци и лица со илеостома консумирале 300 g црвени малини. Резултатите од ова истражување сугерираат дека ~ 40% од внесените антоцијани стигнуваат до дебелото црево врз основа на антоцијаните кои се наоѓаат во илеалната течност на доброволците со илеостома. Понатаму потврдиле дека ~ 60% од антоцијаните се апсорбираат, се разградуваат или на друг начин се губат за да се детектираат на ниво на тенкото црево. Слично на тоа, ~ 23% од внесената количина на елагитанини се пронајдени во илеалната течност, но сепак, значителна количина на елагитанини е хидролизирана до елагична киселина (~ 241% од внесот). Во дебелото црево, елагичната киселина и елагитанините главно се претвораат во метаболити на уролитин (уролитин А и Б). Уролитините се подложени на метаболизам во фаза II во сидот на дебелото црево и во црниот дроб, процес кој произведува уролитин глукурониди. Синтезата на уролитините е посредувана од микробиотата на цревата и многу специфични бактериски соеви (*Gordonibacter urolithinifaciens* sp. nov.) (Selma MV, et al., 2014). Затоа, пријавена е висока меѓуиндивидуална варијабилност во производството на уролитин. Се претпоставува дека микробните метаболити на антоцијани се од фисија на С-прстен, што ослободува различни фенолни киселини кои потекнуваат и од А и од Б прстените на антоцијанот.

2.9.4. Оксидативен стрес

Оксидативниот стрес е состојба во која активноста на слободните радикали во организмот предизвикува негативни ефекти. Слободните радикали се нестабилни молекули кои имаат неспарени електрони и можат да реагираат со други молекули во клетките, предизвикувајќи оксидативен стрес.

Организмот има системи за одбрана, вклучувајќи ги антиоксидатите, кои ги неутрализираат слободните радикали и го минимизираат нивниот потенцијално негативен ефект. Меѓутоа, кога балансот меѓу слободните радикали и антиоксидатите е нарушен, се создава состојба на оксидативен стрес.

Состојбите на оксидативниот стрес се одговорни за бројни патолошки промени во човековиот организам кои доведуваат до хронични болести, како што се: дијабетес, кардиоваскуларни болести, невродегенеративни болести, бројни неоплазми, автоимуни заболувања. Исто така, оксидативниот стрес лежи во основата на патофизиолошкиот механизам на настанување на клиничките симптоми во текот на вирусни и други инфекции. Дисбаланс на рамнотежата помеѓу антиоксидатите и оксидансите, во корист на оксидансите, се дефинира како оксидативен стрес. Слободните радикали (оксиданси) се молекули кои поседуваат еден или повеќе неспарени електрони и со самото тоа поседуваат силна склоност да земаат или даваат електрони на другите молекули. На тој начин можат да доведат до промени на структурата на молекулата и нејзино пропаѓање, односно оштетување на клетките и ткивата во човековиот организам. Постојат неколку типови на слободни радикали, но од најголемо значење во биолошкиот систем се оние кои се добиени од кислородот, познати како група реактивни видови на кислород.

Антиоксидатите се молекули кои можат да донираат електрон на слободниот радикал без самите да станат нестабилни. Тоа предизвикува слободните радикали да станат постабилни и со самото тоа помалку реактивни. Овој концепт е во основа на превентивно и тераписко дејство на антиоксидатите во секојдневната клиничка пракса.

Слободен радикал всушност е атом, молекула или јон кој има еден или повеќе неспарени електрони во последната орбитала, што им дава на слободните радикали исклучителна реактивност, тие лесно влегуваат во реакции со други молекули или меѓу себе, затоа што имаат тенденција да формираат хемиски врски. Изворите на слободните радикали во телото се различни, можеме да ги класифицираме во две групи ендогени и егзогени.

Ендогените извори укажуваат дека слободните радикали можат да се генерираат при некои биохемиски процеси, како што се: оксидативна фосфорилација на ниво на респираторниот синџир во митохондриите, оксидативна хидроксилација во микрозомите, автооксидација на мали молекули, фагоцитоза на мали молекули, редокс реакции во присуство на метали со променлива валентност (Tododrović T., Dožić I., 2012).

Егзогените извори кои предизвикуваат зголемено создавање на слободни радикали во организмот вклучуваат: токсични метали и разни други отрови од контаминираната средина, т.н. ксенобиотици, чад од тутун, лекови, некои

прехранбени состојки, некои терапевтски и амбиентални зрачења и други (Hoyt A., et al., 2008).

Создавањето на реактивни видови кислород (ROS) е особено деструктивен аспект на оксидативниот стрес. ROS опфаќаат радикални и нерадикални форми (Đukić M.M., 2008).

Радикални форми на ROS се:

- Супероксид анијонски радикал ($O_2 \cdot^-$)
- Хидроксилен радикал ($HO\cdot$)
- Хидропероксилен радикал ($HO\cdot$)
- Алкокси радикал ($RO\cdot$)
- Алкилпероксил радикал ($ROO\cdot$)
- Радикал на јаглерод диоксид ($CO_2 \cdot^-$)
- Радикал на јаглерод монооксид ($CO\cdot^-$)

Нерадикалните форми на ROS вклучуваат:

- Водороден пероксид ($H_2 O_2$)
- Хипохлорна киселина ($HClO$)
- Хипобромна киселина ($HBrO$)
- Органски пероксид ($RCOOH$)
- Кислород (O)
- Озон (O_3)

Слободните радикали добиени од кислород се клучни посредници во клеточното оштетување и смрт. Тие не само што играат улога во процесот на стареење, туку исто така се вклучени во широк спектар на клинички нарушувања, како што се артеросклероза, реперфузиска повреда, белодробна токсичност, макуларна дегенерација, катаракта, рак и други хронични воспалителни процеси и нарушувања на централниот нервен систем (Knight J.A., 1995).

Реактивните видови на кислород, и радикалните и нерадикалните форми, играат критична улога во клеточното оштетување и се поврзани со различни здравствени нарушувања. Тие се посредници во процесите на стареење и се инволвирани во многу болести и патолошки состојби.

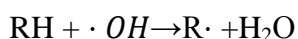
2.9.4.1. Липидна пероксидација

Липидната пероксидација е процес во кој клетките и ткивата на организмот се подложени на оксидативна деградација на липидите во своите мембрани. Ова може да се случи поради реакција на слободните радикали со липидите, што предизвикува формирање на пероксидни молекули, познати како липидни пероксиди.

Липидната пероксидација може да има сериозни последици врз здравјето и може да доведе до одредени заболувања и состојби, вклучувајќи ги кардиоваскуларните заболувања, инфламаторни болести, стареењето и невродегенеративни растројства.

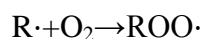
За да се намали ризикот од липидна пероксидација и оксидативен стрес воопшто, важно е да се применуваат здрави животни навики, вклучувајќи здрава исхрана, физичка активност и управување со стресот. Дополнително, конзумирањето на храна и суплументи кои содржат антиоксиданти може да помогне во заштитата на клетките од липидна пероксидација. Липидната пероксидација може да се подели во неколку фази, кои опфаќаат различни аспекти на процесот:

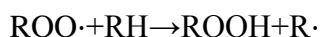
Иницијација: Првата фаза вклучува иницијација на пероксидацијата. Таа се случува кога слободните радикали, како што се хидроксилниот радикал ($\bullet\text{OH}$), реагираат со липидните молекули во мембраните, при што ги напаѓаат полинезаситените масни киселини (PUFA) на мембранските фосфолипиди. Во оваа фаза се создаваат слободни липидни радикали ($\text{R}\bullet$). Фазата иницијација претставува почетокот на процесот на пероксидацијата.



Оваа фаза е клучна за почеток на липидната пероксидација и за одвивање на другите фази од процесот. Формираните липидни радикали можат понатаму да реагираат со други липидни молекули, и така циклусот на пероксидацијата продолжува. Иницијацијата е клучна фаза за почетокот на липидната пероксидација и за вклучување на другите фази на процесот.

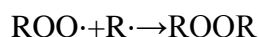
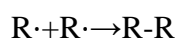
Пропагација: Во втората фаза, липидните радикали ($\text{L}\bullet$) формирани во фазата иницијација, реагираат со молекулите на кислородот (O_2) при што се соодаваат липид хидропероксилни радикали ($\text{ROO}\bullet$), кои понатаму го продолжуваат процесот на пероксидација со други липидни молекули (RH), што доведува до создавање на нови липидни и липид хидропероксилни радикали ($\text{L}\bullet$) и ($\text{ROO}\bullet$). Оваа реакција се одвива континуирано додека има достапен кислород и липидни молекули за реакција.





Пропагацијата е клучна фаза во липидната пероксидација бидејќи голем дел од клеточните оштетувања, предизвикани од оксидативниот стрес, настануваат во оваа фаза. Пероксидните молекули кои се формираат можат да реагираат со клеточните липидни молекули, предизвикувајќи оштетување на мембраните, функционални промени во протеините и ДНК како и други негативни ефекти.

Терминација: Последната фаза на липидната пероксидација е терминацијата. Таа се случува кога антиоксидатите реагираат со слободните радикали или кога слободните радикали реагираат меѓусебно и се инактивираат. Со оваа фаза се прекинува циклусот на пероксидацијата.



Постојат неколку начини на кои може да се заврши процесот на пероксидацијата. Едниот начин е преку реакција на слободните радикали со антиоксидативи. Антиоксидативите имаат способност да реагираат со слободните радикали и да ги неутрализираат. Другиот начин е преку меѓусебна реакција на слободните радикали што резултира во формирање на неактивни молекули. Третиот начин се базира на достапност на супстрати. После искористување на липидните молекули или кислородот потребни за процесот на пероксидацијата, процесот завршува.

2.9.5. Влијание на антиоксидатите врз здравјето на човекот

Антиоксидативното дејство на полифенолите е широко признато и истражувано. Полифенолите се природни состојки кои се застапени во различни видови растителна храна и напитки како плодови, зеленчук, чај и вино. Поседуваат силни антиоксидативни својства. Овие супстанции имаат способност да ги неутрализираат штетните слободни радикали во организмот, со што помагаат во заштитата на клетките од оксидативен стрес.

Бројни истражувања укажуваат на благотворните ефекти на полифенолите во намалувањето на оксидативниот стрес и спречувањето на разни хронични заболувања, вклучувајќи болести на срцето, невродегенеративни растројства и одредени видови на малигни заболувања. Полифенолите, своите антиоксидативни ефекти ги остваруваат преку повеќе механизми, вклучувајќи ги скенирањето на слободни радикали, хелацијата на метални јони кои можат да ги катализираат оксидативни реакции и модулирање на активноста на антиоксидативните ензими. Во целост, вклучувањето на

храна богата со полифеноли во исхраната се смета за ефикасна стратегија за зголемување на антиоксидативната одбрана и има поволно влијание врз општо здравје и благосостојба.

Научните студии, како што се студии за клеточна култура, модели на животни и клинички испитувања на луѓе, покажуваат дека антоцијанидините и антоцијаните поседуваат антиоксидативни и антимицробни активности, го подобруваат видното и невролошкото здравје и штитат од разни незаразни болести. Овие студии ги даваат здравствените ефекти на антоцијанидините и антоцијаните, кои се должат на нивните моќни антиоксидативни својства. Различни механизми и патишта се вклучени во заштитните ефекти, вклучувајќи ја патеката за чистење на слободните радикали, патеката на циклооксигеназа, патеката на протеин киназа активирана од митоген и сигнализацијата на воспалителни цитокини.

Антоцијаните не само што имаат антиоксидативни својства, туку исто така се поврзани со намалување на ризикот од срцеви заболувања, подобрување на здравјето на очите, поддршка за здравото стареење и имунолошка функција. Истражувањата покажуваат дека редовното конзумирање на храна богата со антоцијани може да има позитивни ефекти за здравјето.

Оваа група на полифеноли привлекува големо внимание поради нивните потенцијални здравствени предности и може да биде вклучена како дел од здравата исхрана за поддршка на општото здравје и благосостојба.

Антиоксидантите всушност се групи на соединенија кои ги неутрализираат слободните радикали и реактивните видови кислород (ROS) во клетката (Abuajah et al. 2015).

Антиоксидантната активност во храната и пијалоците стана една од најинтересните карактеристики во научната заедница. Овие антиоксиданси обезбедуваат заштита од оштетување предизвикано од слободните радикали и одиграа важна улога во развојот на многу хронични болести, вклучувајќи кардиоваскуларни заболувања, стареење, срцеви заболувања, анемија, рак, воспаление (Vaibhav DA, et al., 2011) и др.

Антиоксидантите може да се класифицираат во две основни групи, како синтетички и природни. Покрај тоа, антиоксидансите може да се класифицираат како ендогени и егзогени, според нивните извори, како ензимски или неензимски, според нивните ефекти и растворливи во вода или растворливи во липиди, според нивната

растворливост. Оваа класификација е дадена во табелите подолу со нивните примероци (Gulcin I., 2012).

Антиоксидативниот капацитет на овошјето од малина, се разбира, не се одредува со една компонента. За да се направи разлика помеѓу различните антиоксидантни соединенија во овошјето од малина и да се идентификува кои метаболити се главните придонесувачи за антиоксидативниот капацитет, неодамна беше опишан систем за откривање. Овој систем, дава подетални информации и според него, доминантните антиоксиданси во малината може да се класифицираат како: витамин Ц, неколку антоцијани, елагитанини и некои помали танини слични на проантоцијанидин. Витаминот Ц е доста застапен во многу видови овошје и зеленчук. Затоа не е специфичен за малината, но сепак овошјето обезбедува околу 20 до 30 mg витамин Ц на 100 g овошје (B. de Ancos, et al., 2000). Витаминот Ц може да сочинува околу 20% од вкупниот антиоксидативен капацитет на овошјето од малина.

2.9.6. Влијание на генетските фактори и условите во надворешната средина врз антиоксидативните карактеристики на малините

Со текот на годините, развиени се многу различни сорти на малини, главно со селекција на растенија кои обезбедуваат добар принос и отпорност на штетници. Не се направени значителни разлики во антиоксидативниот капацитет помеѓу различните сорти. Споредбата на зрели плодови од четири сорти на црвени малини, користејќи ја анализата ORAC, укажува на вредности кои варираат од 16 до 20 μmol (еквиваленти на Тролокс) по грам плод (Y. Wang, H.S. Lin, 2000). Според едно истражување направена е и споредба на 14 сорти кои се одгледуваат во Европа, со HPLC анализа на антоцијани и елагитанини. Во ова истражување, кај повеќето сорти, се идентификувани девет различни антоцијани. Сепак, забележани се значителни разлики во сортите во однос на релативните количини на секоја поединечна компонента. Кај некои сорти главен антоцијанин е цијанидин-3- (2G-глукозилрутинозид), додека кај други доминантен е цијанидин-3-софорозид. Ваквите разлики, во голема мера, не влијаат на вкупниот антиоксидативен капацитет на плодот, но влијаат врз биорасположивоста на антиоксидатите. Елагитанините се доминантни антиоксидати кај сите 14 анализирани сорти, и чинат 30 до 60% од вкупниот антиоксидативен капацитет (Dosssett, M., et al., 2012)

Содржината на антиоксиданти во црвената малина е под влијание на фазата на зрелост во која се собираат плодовите. Вредноста на ORAC на розовите плодови, во споредба со зрелите црвени плодови, може да биде до 50% помала. За време на преминот од розово во црвено овошје, антоцијаните се акумулираат, додека елагитанините се намалуваат за околу 30%. Овие разлики се чини дека се многу релевантни за одредување на најдоброто време на берба. Сепак, изборот на времето на берба на малините е всушност, во голема мера, определен од времето во кое плодот се одделува од растението. Розевите плодови и незрелите црвени плодови (кои можеби имаат подобар антиоксидативен капацитет) не се откачуваат лесно од растението и затоа обично не се собираат. Ова покажува дека условите за раст, вклучувајќи го и стресот, може да влијаат врз содржината на антиоксиданти во плодот од малина и на тој начин може да се користат во иднина за манипулирање со нивоата на антиоксиданти за време на бербата.

2.9.7. Промени во содржината на биоактивни материи после берба на малината

Свежите малини имаат многу краток рок на траење и обично се лесно достапни само преку летото. Поради оваа причина, многу малини се продаваат во форма на замрзнато овошје, или во џемови и сосови. Кога малините веднаш после берење се подложуваат на постапка на брзо замрзнување во течен азот и последователно се чуваат на -20 °C една година, содржината на витамин Ц се намалува до 50%. Другите параметри, како што се антиоксидативниот капацитет и содржината на антоцијани, се чини дека се непроменети со тек на време. Различни краткорочни третмани (3 дена на собна температура, 4°C или -30°C) се чини дека немаат штетен ефект поголем од 20% на антиоксидативниот капацитет, содржината на антоцијанин или содржината на елагитанин. Калт и сор. (Kalt at all., 1999) утврдиле удвојување на содржината на антоцијанини и антиоксидативниот капацитет при складирање на собна температура 8 дена. Меѓутоа, ваквото долго складирање може да се постигне само без губење на квалитетот кога плодовите на малината се собираат во раните фази на зреење.

Правењето џем има позначајно влијание врз антиоксидативните карактеристики на малината отколку необработеното складирање. Индустриското производство на џем вклучува благо загревање, мешање со гранулиран шеќер, закиселување и додавање на пектин проследено со силно загревање на плодовите, што може значително да влијае на стабилноста на антоцијанот.

3. ЦЕЛИ И ЗАДАЧИ НА ИСТРАЖУВАЊЕ

3.1. ПРОБЛЕМ И ПРЕДМЕТ НА ИСТРАЖУВАЊЕ

Малините може да се класифицираат во групата на најважните и најпрофитабилните видови јагодести плодови кај нас и во светот, по количина и вредност на производството. Малините се многу приспособливи на различни климатски и почвени услови со оглед на тоа дека само град и евентуалните доцни снегови можат да предизвикаат штета при нивно одгледување. Специфичностите на малината како овошна сорта се повеќекратни и се одразуваат првенствено во нејзините поволни биолошки својства, агроколошките услови за одгледување кои ги бара, пазарната вредност на самото производство, економските ефекти од производството итн. Малините даваат плод во првата или во втората година по садењето, а веќе во третата година достигнуваат целосна плодност. Приносите на малините можат да бидат исклучително високи доколку се воспостави рамнотежа помеѓу поволните агроколошки услови за одгледување, примената на современи агротехнички мерки и употребата на сертифицирани садници (Петровиќ С., Лепосавиќ А., 2016). Со високите приноси, трошоците за производство се намалуваат, а профитот на производителите значително се зголемува (Zorica Sredojević, et al., 2013).

Малините имаат одредени предности при одгледување во однос на другите култури, како на пример можност за одгледување на почви со посиромашни карактеристики, можност за користење на фрагментирани производни парцели, ризикот во производството е мал, технологијата на размножување е едноставна, тие се интензивна растителна сорта бидејќи овозможуваат ангажирање на физички послаби лица како работна сила, како што се жени, стари лица и слично и од нив се добиваат многу квалитетни плодови со исклучителна хранлива вредност итн (Клјажјиќ Наташа, 2012).

Плодовите од малина, исто така, имаат висока хранлива и технолошка вредност. Тие се исклучително здрави бидејќи имаат заштитни, диететски терапевтски и профилактски својства. Содржат шеќери, киселини, минерали, пектин, целулоза, протеини, масни материи и витамини. Малините се богати со витамини Ц, Б, Е и К, како и со Mg, Mn и Cu. Тие исто така имаат и значајно цитоксично влијание. Антоцијаните и полифенолите како антиоксидативни соединенија кои ги содржи малината, меѓу кои посебно се истакнува елагичната киселина, се многу корисни во

заштитата на клетките од оксидативен стрес, стареење и разни типови на малигни болести (Juranić Z., et al., 2005). Содржат и растителни влакна кои го поттикнуваат варењето и чистењето на крвните садови. Малините позитивно влијаат и на регулацијата на шеќерот во крвта. Малините се нискокалоричен плод кој го спречува таложењето на масти во телото. Сувите листови од малина се користат за правење чаеви за настинки, болки во грлото, кашлица и дијареа. Оцетот и сокот од малина се користат за намалување на телесната температура итн. (Kljajić Nataša, 2014).

Овие плодови се познати како богат извор на фенолни соединенија како што се фенолни киселини (елагинска киселина како слободна и врзана во форми на елагитанини и гликозиди на елагична киселина) и антоцијани (цијанидин-3-софорозид, цијанидин-3-(2G-глукозилрутинозид) цијанидин-3-рутинозид, пеларгонидин-3-софорозид, цијанидин-3-глукозид, пеларгонидин-3-(2G-глукозилрутинозид) и пеларгонидин-3-глукозид). Покрај антоцијаните, плодот од малина содржи и помали количини на други флавоноиди (кверцетин-3-рутинозид, кверцетин-3-клукозид, кверцетин-3-глукуронид и кемпферол глукуронид). Основната фармаколошка активност на флавоноидите е поврзана со нивното дејство на сидот на крвните садови на периферната циркулација.

Покрај силните антиоксидативни својства, за малините се пријавени и други корисни биоактивности, вклучувајќи антиинфламаторни, вазодилататорни својства, антимикробна активност против патогени цревни бактерии и антипролиферативна активност на клетките на човечкиот црн дроб, дојка, дебелото црево и простата.

Во РСМ во последните години одгледувањето на малини зазема сè поголемо место на пазарот, со тоа што може да се каже дека има добри услови од аспект на клима и почвени услови за нејзино одгледување, а уште повеќе со тоа што малината произведена на ова поднебје е една од најблагите малини на пазарот.

3.2. ЦЕЛИ НА ИСТРАЖУВАЊЕТО

Бидејќи количината на фенолни соединенија кај малината во голема мера зависи од условите на одгледување, примарна цел на истражувањата на оваа докторска дисертација е стекнување на нови сознанија за технологијата за производство на малини и анализа на антиоксидативна активност на сортите малина Primalba и Willamette.

Специфични цели кои произлегуваат од примарната цел на дисертацијата се:

- Испитување на технологијата за производство на малини;
- Анализа на хемискиот состав на плодовите од испитуваните сорти малина;
- Биохемиска активност на сортите малина Primalba и Willamette;
- Утврдување на коефициентот на корелација помеѓу анализираните параметри во екстрактите од сортите малина Primalba и Willamette.

За реализација на поставените цели беа направени следните анализи:

- анализа на физичко-хемиските карактеристики на почвата од насадите со малина од сортите Primalba и Willamette;
- анализа на приносот на испитуваните сорти малина;
- анализа на морфолошките карактеристики на плодовите и семето од испитуваните сорти малина;
- анализа на хемискиот состав, содржината на полифеноли и фенолниот профил на екстрактите од плодовите на сортите малина Primalba и Willamette;
- анализа на биохемиската активност на екстрактите од испитуваните сорти малина преку:
 - одредување на вкупна антиоксидативна активност;
 - одредување на инхибиторна активност на ниво на липидна пероксидација;
 - одредување на антиоксидативната активност на ниво на хидроксилни радикали;
 - одредување на антиоксидативна активност со DPPH;
 - одредување на антиоксидативна активност со ABTS.
 - одредување на антимицробната активност на екстрактите од испитуваните сорти малина;
 - одредување на цитотоксичната активност.

- анализа на корелацијата помеѓу анализираните параметри во екстрактите од сортите малина Primalba и Willamette.

Добиените резултати беа соодветно статистички обработени.

4. МАТЕРИЈАЛИ И МЕТОДИ

4.1. АНАЛИЗА НА ФИЗИЧКО-ХЕМИСКИТЕ КАРАКТЕРИСТИКИ НА ПОЧВАТА

Анализата на почвата е првиот чекор за утврдување на потребите на местото за садење. Резултатите од анализа на почвата укажуваат на тоа какви хранливи материи се достапни во почвата што треба да ги прими растението и дали се потребни какви било промени или препораки за да се добие посакуваната култура (Pritts, M., C. Heidenreich, 2012).

Културата што се испитува е насад од Малина Primalba и Willamette. За таа цел, беа направени три теста на почвата во два различни временски периоди.

За првото тестирање спроведено во лабораторија 1 (ПРОАНАЛИЗ Лабораторија, професионална лабораторија која е наменета за анализи на вода, почва, растенија; Проагроголд Груп ДООЕЛ Струмица, Република Северна Македонија) земени се 4 примероци почва во количина од 1кг по примерок, со цел првично да се испита земјиштето за насад т.е. каков е составот на почвата на тоа земјиште. Почетниот период на испитување е помеѓу 11 и 12 месец, 2018 година. На почвата претходно не се вршеше преработка за да се спречи мешање на слоевите. Испитувањето на мострите се врши на примерок од 1кг почва во период од 15 дена од крајот на ноември и почетокот на декември.

Вторите испитувања, во периодот од третиот месец во 2023 година, се направени во лабораторија 2 (Универзитет „Св. Кирил и Методиј“, Факултет за земјоделски науки и храна - Скопје, Република Северна Македонија, Лабораторија за анализа на почви и ѓубрива). Земените примероци во сите испитувања се на длабочина од 30 до 60см на различни места на иста парцела за да се добие подобра слика за тоа земјиште. Растението, во случајот со видовите малини, се наводнуваше со систем капка по капка. Мострите се земени, спакувани во црни најлонски ќеси и со сопствен превоз се однесени во акредитираната лабораторија. Лабораторијата даде инструкции како точно да се земаат примероци и колку да биде оддалечено земањето мостри една од друга. Така, во рок од 2 часа, мострите се пренесуваат во соодветната лабораторија 2 и се оставаат на понатамошно испитување. Примероците се земени во должина од околу 100m во дијагонална насока со цел да се покрие што повеќе од целната површина и да се добијат порелевантни резултати. При првото испитување се земени 4 примероци почва, а при второто се земени 11 примероци, од целата површина по сопствен избор

на локација, но секако беше земено предвид утврденото растојание помеѓу сите примероци. Исто така, беше истакнато дека мострите не се земени од водена површина или покриена кал.

Паралелно со овие тестови, беа извршени трети тестови во лабораторијата 3 (ПРОАНАЛИЗ Лабораторија, Струмица, Република Северна Македонија, акредитирана од Агенцијата за акредитација ТУРКАК) во периодот од 2 месец, 2023 година, кои се сосема различни од фактичката состојба на земјата. При ова тестирање беа земени 5 примероци почва од целата површина на локацијата по сопствен избор, но секако беше земено предвид и утврденото растојание помеѓу сите примероци. Исто така, беше истакнато дека примероците од 1кг почва не се земени од водена површина или површина покриена со кал.

Применети се соодветни акредитирани методи за секој испитуван елемент од соодветната лабораторија, кои се детално опишани во следната Табела 2.

Параметри	Прва анализа Методи	Втора анализа методи	Трета анализа методи
Подготовка на почвата		МКС ISO 11464:2015	
Хумус		Определување на органски С и хумус според методот на Тиурин, модифициран	
pH вредност	TS ISO 10390/ Сатура ортама (H ₂ O)	МКС ISO 10390:2015	TS ISO 10390/ Satureortamda (H ₂ O)
Калциум карбонат (CaCO ₃) / %	TS 8335 ISO 10693 / Калсиметрик	Волуметриски ISO 10693	TS 8335 ISO 10693 / Калсиметрик
ЕС / (дс/м)	TS ISO 11265 / Сатура ортама		ТС -155
Солта (NaCl) / %			
Заситеност (текстура)	TS 8333/ Saturasyon		TS 8333/ Saturasyon
Органски материји	TS 8336/ Walkley Black		TS 8336 /, Вокли Блек
Вкупен азот (N) / %	TS 8337 ISO 11261 / Kjeldahl	ISO -11261	TS 8337 ISO 11261 / Kjeldahl
Апсорбира Фосфор (P) / P ₂ O ₅ kg / ден	ТС 834 Олсен / Спектрофотометрик	А L метод на Потврдено на ФЗНХ-Скопје	ТС 834 Олсен / Спектрофотометрик
Апсорбира Калиум (K) како K ₂ O / kg / ден	TS 8341 / 1N Амо. ASE / ICP - 0ES	А L метод на Потврдено на ФЗНХ-Скопје	TS 8341 / 1N Амо. ASE / ICP – 0ES
Апсорбира Калциум (Ca) / ррт	TS 8341 / N Амо. ASE / ICP		TS 8341 / N Амо. ASE / ICP

<i>Апсорбиран магнезиум (Mg) / ррт</i>	TS 8341 / N Амo. SE / ICP		TS 8341 / N Амo. ASE / ICP
<i>Апсорбираното железо (Fe) / ррт</i>	TS ISO 14870 DTPA / ICP – 0ES		TS ISO 14870 DTPA / ICP – 0ES
<i>Апсорбиран Манган (Mn) / ррт</i>	TS ISO 14870 DTPA / ICP		TS ISO 14870 DTPA / ICP
<i>Апсорбиран Цинк (Zn) / ррт</i>	TS ISO 14870 DTPA / ICP		TS ISO 14870 DTPA / ICP
<i>Апсорбиран Бакар (Cu) / ррт</i>	TS ISO 14870 DTPA / ICP		TS ISO 14870 DTPA / ICP

Табела 2. Методи/инструменти користени за анализа на почвата

За секој испитуван елемент од соодветната лабораторија користени се соодветни акредитирани методи. За рН анализа беше користен методот TS ISO 10390 со инструментот рН-метар со потенциометар, Sature ortamda (H₂O). За да се добие процентот на CaCO₃, беше користен методот TS 8335 ISO 10693 со инструмент наречен Kalsimetrik. За да се добие електричната спроводливост се користеше методот TS ISO 11265 со истиот инструмент како и при определување на рН вредноста. За примена на заситеноста - текстурата во проценти е искористена TS 8333 со помош на инструментот Saturasyon. За проучување на процентот на органска материја во почвата, користен е методот TS 8336, инструментот Walkley Black. За да се добие процентуалната застапеност на вкупниот азот во почвата е применет методот TS 8337 ISO 11261, односно методот Kjeldahl. Апсорбираниот фосфор (P) беше тестиран со методот TS 834 и со употреба на спектрофотометар од типот Spektrofotometrik - Olsen. Методот TS 8341 / N Амo беше користен за испитување на содржината на калиум (K), калциум (Ca) и магнезиум (Mg) на Ase / ICP. Присуството на други елементи во почвата како што се железо (Fe), манган (Mn), цинк (Zn) и бакар (Cu) се испитува со TS ISO 14870 DTPA / ICP метод. Сите методи кои се користат за испитување на примероци од почва за насади со малини се акредитирани од Институтот за акредитација на Република Северна Македонија (ИАРСМ) (Јовица Момирчевски, 2020).

4.2. АНАЛИЗА НА МОРФОЛОШКИТЕ КАРАКТЕРИСТИКИ НА ПЛОДОВИТЕ И СЕМЕТО ОД СОРТИТЕ МАЛИНА PRIMALBA И WILLAMETTE

Мур (Moore P.P., 1993) има воспоставено позитивна корелација помеѓу масата на плодот од малина и бројот и масата на семки. И други студии исто така, укажуваат на корелација помеѓу масата на семките и масата на овошјето.

Според бројни автори, морфо-физиолошките и технолошките карактеристики на плодот малина во голема мера зависат не само од специфичностите на сортата, туку и од факторите на животната средина и од применетата агротехника.

Во рамките на овој труд анализирани се следните помолошки карактеристики на плодовите од испитуваните сорти малина: маса на плод на (g), должина на плод (mm), ширина на плод (mm), висина на плод (mm) и карактеристики на семките, односно нивна маса (g), должина (mm), ширина (mm).

Од секоја од испитуваните сорти беа земени по 20 примероци плод. Од сортата Primalba, плодовите беа собрани во месец јули 2023 год., а од сортата Willamette во јуни 2023 година. Плодовите беа берени во период на зрелост.

Веднаш по бербата примероците беа замрзнати во статички тунел на температура од -26°C и чувани во комора на температура од -18°C до -20°C во период од 5 месеци, односно до месец декември 2023 год. кога беа испратени на испитување во Институтот за овоштарство – Чачак, Србија.

4.3. АНАЛИЗА НА ХЕМИСКИОТ СОСТАВ, СОДРЖИНАТА НА ПОЛИФЕНОЛИ И ФЕНОЛНИОТ ПРОФИЛ НА ЕКСТРАКТИ ОД ПЛОДОВИТЕ НА СОРТИТЕ МАЛИНА PRIMALBA И WILLAMETTE

Експерименталниот дел од докторската дисертација е изведен во хемиската лабораторија на Институтот за овоштарство - Чачак, Земјоделски факултет во Крушевац, Универзитет во Ниш и Агрономски факултет - Чачак, Универзитет во Крагуевац, Србија.

Испитувањата на хемиските карактеристики вклучуваа испитување на: вкупна сува материја, чие испитување се врши со сушење; растворлива сува материја, чие испитување се врши со рефрактометар; вкупни шеќери; директни редукциони шеќери; сахароза; вкупни киселини (како лимонска киселина); рН; индекс на сладост вкупен пектин; материја; вкупно антоцијани според методот Никетик-Храждина.

Од секоја од испитуваните сорти беа земени по 20 примероци плод. Од сортата Primalba се плодовите беа собрани во месец јули 2023 год. а од сортата Willamette во јуни 2023 година. Плодовите беа берени во период на зрелост.

Веднаш по бербата примероците беа замрзнати во статички тунел на температура од -26°C и чувани во комора на температура од -18°C до -20°C во период од 5 месеци, односно до месец декември 2023 кога беа испратени на испитување во Институт за овоштарство – Чачак, Србија.

4.3.1. Растителен материјал

Растителниот материјал користен за време на експериментот вклучува материјал добиен од две сорти малина *Primalba* и *Willamette* кои не се доволно проучени особено на нашите простори.

Во литературата нема доволно информации за нивната применливост и употреба во медицински цели, што беше доволен мотив да во рамките на оваа докторска дисертација да се посветам на проучувањето на овие растителни видови.

Испитувањата на хемиските карактеристики на овие две сорти малини вклучуваа испитување на секоја од испитуваните сорти со земени по 20 примероци плод од секоја. Од сортата Primalba плодовите беа собрани во месец јули 2023 год. а од сортата Willamette во јуни 2023 година. Плодовите беа берени во период на зрелост.

Веднаш по бербата примероците беа замрзнати во статички тунел на температура од -26°C и чувани во комора на температура од -18°C до -20°C во период од 5 месеци,

односно до месец декември 2023 кога беа испратени на испитување во Институт за овоштарство – Чачак, Србија.

При испитувањето на содржината на полифеноли и фенолниот профил на екстракти од плодовите на сортите малина Primalba и Willamette собирањето на плодот од растенијата беше извршено на територијата на Република Северна Македонија, во Пелагонискиот регион. По берба на плодовите и нивна обработка за чување, тие беа систематизирани и депонирани во лабораторијата која го спроведе испитувањето. По идентификацијата, примероците беа природно сушени на воздух во тенок слој, без директна сончева светлина - во сенка, во период од еден месец. По сушењето, секоја сорта беше внимателно префрлена на соодветниот уред за дробење. Иситнетите делови од растенијата се префрлени во хартиени кеси и се оставени на темно и проветрено место до употреба.

4.3.2. Хемикалии, реагенси и инструменти

При испитувањето на содржината на полифеноли и фенолниот профил на екстракти од плодовите на сортите малина Primalba и Willamette користени се фенолен реагенси според *Folin-Ciocalte*, раствор на натриум хидроген карбонат, NaHCO_3 ($c=7,5\%$), алуминиум (III)-хлорид AlCl_3 ($c=2\%$ раствор во метанол), флороглуцинол, $\text{C}_6\text{H}_6\text{O}_3$, хлороводородна киселина, HCl ($c=1\%$), формалдехид, HCHO (37%), калиум јодат, KJO_3 , пуфер (pH 1), пуфер $\text{KH}_2\text{PO}_4 - \text{NaOH}$ (50 mM, pH=7,4, pH 4,5), мравја киселина, HCOOH ($c=2\%$), галска киселина, $\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_5$ ($\geq 98\%$ чистота), стандарди за HPLC анализи - кофеинска киселина, $\text{C}_9\text{H}_8\text{O}_4$, ванилна киселина, $\text{C}_8\text{H}_8\text{O}_4$, елагинска киселина, $\text{C}_{14}\text{H}_6\text{O}_8$, кверцетин, $\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_7$, рутин, $\text{C}_{27}\text{H}_{30}\text{O}_{16}$, кемпферол, $\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_6$, амониум молибдат, $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_4$ ($c=4$ mM), сулфурна киселина, H_2SO_4 ($c=0,6$ M), раствори на натриум фосфат, Na_3PO_4 ($c_1 = 28$ mM, $c_2 = 1$ mg / mL), метанол, CH_3OH (95%), линоленска киселина $\text{C}_{18}\text{H}_{30}\text{O}_2$ (во цврста состојба), емулгатор Tween-20, етил алкохол $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ (75%), железо (II) - хлорид FeCl_2 ($c = 20$ mM), амониум тиоцијанат, NH_4CNS ($c=30\%$), аскорбинска киселина, $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6$ (воден раствор $c_1 = 1$ mg / mL, $c_2 = 1,0$ mM), галска киселина, $\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_5$ ($c = 1$ mg / mL), α -токоферол, $\text{C}_{29}\text{H}_{50}\text{O}_2$ ($c = 1$ mg/ml), β -хидрокситолуен, *BHT* ($c = 1$ mg / mL), 2-деокси-D-рибоза $\text{C}_5\text{H}_{10}\text{O}_4$ ($c = 5,6$ mM), железо(III)-хлорид, FeCl_3 ($c = 20$ mM), етилен диамин тетра оцетна киселина, EDTA, $\text{C}_{10}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_8$, водород пероксид, H_2O_2 ($c = 1.0$ mM), трихлороцетна киселина, TCA, $\text{C}_2\text{HCl}_3\text{O}_2$ ($c = 2,8$ %), TBA, $\text{C}_4\text{H}_4\text{N}_2\text{O}_2\text{S}$ ($c = 1,0$ %), течен медиум Müller- Hinton

(стерилна; 2 g хранлив бујон, 17,5 g казеин хидролизат и 1,5 g скроб се раствораат во 1 l дестилирана вода и се варат за да се додадат), МТТ, 3-[4,5-диметилтиазол-2-ил]-2,5-дифенилтетразолиум бромид, антибиотски раствор на амрацин, индикатор за резазурин, радикал 2,2-дифенил-1-пикрилхидразил (DPPH), натриум ацетат CH_3COONa ($c = 1\text{M}$). Сите стандарди за анализа на HPLC користени беа од следните производители: Sigma Chemical Co (Sent Luis, MO, САД) и Alfa Aesar, (Carlsruhe, Германија), галска киселина, ванилна киселина, кемпферол и кверцетин беа купени од Sigma-Oldrich (Дајзенхофен, Германија), кофеинска киселина од Merck KgaA (Darmstadt, Германија), ацетонитрил $\text{C}_2\text{H}_3\text{N}$ и фосфорна киселина H_3PO_4 беа од HPLC одделение добиени од Tedia Company, САД. Amracin и cis-diaminodichloroplatinum (cis-DDP) $\text{C}_{12}\text{H}_4\text{N}_2\text{Pt}$ беа купени од Tedia Company (САД). Етанол $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ и метанол CH_3OH беа од Aldrich Chemical Co, Steinheim, Германија. Во работата се користеше комерцијална би-дестилирана вода и стерилна вода.

Во истражувањата беа користени следните инструменти: блендер (Braun Combimax 700), ротационен вакумски испарувач, бренд Devarot, Elektromedicina (Љубљана, Словенија), апарат за екстракција Soxhlet, ултразвучна водена бања EUP 540A, Euinstruments, (Франција), комерцијална микробранова печка, UV-Vis спектрофотометар марка MA 9523-Spekol 211, ISKRA (Hořjul, Словенија), серија HPLC Agilent-1200 со детектор UV-Vis DAD за детекција на повеќе бранови должини, Mikroplate Reader.

4.3.3. Подготовка на растителните екстракти

4.3.3.1. Мацерација

Иситнетиот растителен материјал од растителните сорти *Primalba u Willamette*. ($m=50\text{ g}$) се пренесува во ерленмаерова колба со волумен од 1000ml. Во примероците како растворувач се додава 600mL етанол (96%). Процесот на мацерација се спроведува на температура од 22°C без директна сончева светлина, во период од седум дена. Содржината во Ерленмаеровите колби повремено се промешува за да се подобри процесот на мацерација. По седум дена, добиената смеса се филтрира со помош на набрана филтер-хартија Whatman, бр 1. Сувите екстракти се префрлаат во темни стаклени вијали кои добро се затвораат, соодветно се означуваат и се оставаат на 4°C (во фрижидер) до употреба.

4.3.3.2. Екстракција со Soxhlet

Сокслетовата екстракција беше изведена во конвенционален *лабораториски уред на Сокслет*. Подготвените примероци (50гр) од плодовите на сортите *Primalba* и *Willamete* соодветно се пакуваат во филтер-хартија за екстракција. Се додаваат 600mL 96% етанол. Процесот на екстракција се одвива осум часа со постојано загревање.

Добиените екстракти се филтрираат со помош на набрана филтер-хартија Whatman бр.1, а потоа се концентрираат со помош на ротационен испарувач под вакуум на 40° С до константна маса. Сувите екстракти се префрлаат во стаклени вијали со темно стакло, соодветно се означуваат и се оставаат на 4° С (во фрижидер) до употреба.

4.3.3.3. Екстракција со ултразвук

Екстракцијата со ултразвук е извршена на претходно измерени примероци со маса $m=50g$ кои се измерени во балон. Додадени се 1000mL 96% етанол како растворувач. Смесата е сонифицирана триесет минути на фреквенција од 40kHz и ултразвучна енергија од 90% (моќност од 216W). Добиените екстракти се филтрираат преку филтер хартија Whatman бр. 1 а потоа се концентрираат со помош на ротационен испарувач под вакуум на 40°C до константна маса. Сувите остатоци се префрлаат во ампули од темно стакло, добро затворени, етикетирани и оставени во фрижидер на 4° С до употреба. Истата постапка е применета и за двата испитани растителни видови.

4.3.4. Одредување на приносот на добиени екстракти

10mL од екстрактите добиени со различни техники, земени под вакуум се сушат во лабораториска печка на температура од 80⁰ C до константна маса.

Приносот (P) се изразува во грамови сув екстракт (g) на 100грама(g) сув растителен материјал (g/100 g).

$P \Leftrightarrow (SE \text{ g}/RM100 \text{ g})$ каде што:

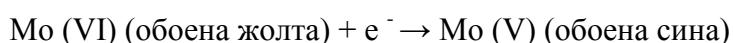
SE – сув екстракт (g)

RM – сув растителен материјал (100 g)

P - принос на екстракт (g/100 g)

4.3.5. Одредување на содржината на вкупни феноли

Содржина на вкупни феноли во екстракти од растителни сорти Primalba и Willamette е одредена со спектрофотометриска метода (Singleton V.L., Rossi J.A., 1965). Овој метод се заснова на примена на реагенсната мешавина *Folin-Ciocalteu* од Na₂WO₄ и Na₂MoO₄ и мерење на редуцирачкиот капацитет на полифенолните соединенија. Овие соединенија се дисоцираат и даваат протон и феноксиден анјон. Добиениот феноксиден анјон го редуцира реагенсот на *FolinCiocalteu* до јон фенол-МоW₁₁O₄₀⁴⁻, кој е обоен во сина боја. Процесот е прикажан со следнава хемиска реакција:



Во присуство на фенолни соединенија, реагенсот на *Folin-Ciocalteu* се намалува и се добива соединение со сина боја, покажувајќи максимум на апсорбанца на бранова должина од 765 nm.

Постапка за работа:

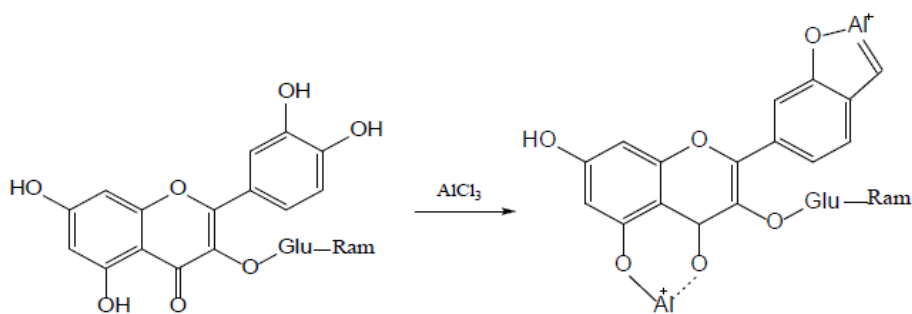
0,5 mL раствор на екстракт од малина се меша со 2,5 mL *Folin-Ciocalteu* реагенс и 2 mL NaHCO₃ (7,5 %). Паралелно, се подготвува слепа проба, во која наместо екстракт се додаваат 0,5mL етанол.

За добивање на калибрациона крива се подготвува серија стандардни раствори на галска киселина (GAE) (0,05-1mg/mL). Подготвената реакциона смеса се остава да отстои 15 минути и се загрева до 45°C. Потоа на спектрофотометар се мери апсорбанца на бранова должина од 765nm. Вредностите кои се добиени за апсорбанца

на растворот на галска киселина се прикажуваат на графиконот како функција на зависност од концентрацијата, каде што равенката на кривата на калибрација се одредува врз основа на графиконот. Резултатите се добиваат врз основа на равенката на кривата на калибрација на галска киселина и се изразуваат во милиграми еквиваленти на галска киселина по грам сува маса (mg GAE/g \pm SD). Резултатот се прикажува како средна вредност на три последователни мерења за секој примерок.

4.3.6. Одредување на содржината на флавоноиди

Содржината на вкупните флавоноиди во екстрактите беше одредена со методот *Бригент*. Флавоноидите имаат карактеристика да формираат комплекси со метали (Слика 8, Brighente I.M.C., Dias M., Verdi L.G., Pizzolatti M.G., 2007).



Слика 8. Реакција на формирање на комплекс од флавоноиди со алуминиум

Постапка за работа:

0,5 mL екстракт и 0,5 mL од раствор на $AlCl_3$ (2%) се мешаат во еден сад додека во друг сад се наоѓа етанолот. По мешањето, растворот се остава да отстои 1 час на собна температура. Се мери апсорбанца на 415 nm бранова должина. Како стандард се користи рутин (10-1000 μ g/mL). Резултатите се пресметуваат врз основа на калибрационата крива на стандардот рутин. Се изразуваат во милиграми еквиваленти рутин по грам сува маса (mg RU/g \pm SD). Резултатот се прикажува како средна вредност на три последователни мерења за секој примерок.

4.3.7. Одредување на содржина на антоцијани

За одредување на содржината на антоцијани, е користен методот „pH 1“ (Vulic J., Tumbas V., Savatović S., Djilas S., Cetkovic G. Canadanovic-Brunet J., 2011).

Според овој метод измерената апсорбанца на растворот на антоцијани при pH 1 е пропорционална со содржината на вкупните антоцијани.

За одредување на содржината на антоцијанински мономери е користен диференцијалниот метод, кој се заснова на промена на бојата на антоцијанинските мономери во зависност од рН (при рН 1 тие се во форма на јони на оксониум - обоени се црвено, додека при рН 4,5 се во полукетална форма - тогаш се безбојни).

Постапка за работа:

Сувиот екстракт од испитуваните растителни видови се раствора во дестилирана вода во различни концентрации. 0,25mL од растворот на екстрактот се пренесува во два мерни садови од 10mL. Садовите се дополнуваат со пуфер со рН 1 односно рН 4,5 и по временски интервал од 15 минути, на спектрофотометар се мери апсорбанца на 515 nm и 700 nm бранова должина. Мерењата се повторуваат три пати.

Концентрацијата на вкупните антоцијани во екстрактот се пресметува како еквивалент на цијанидин-3-гликозид според следната формула:

$$\text{Вкупни антоцијани} = \frac{A_{vk} \cdot MM \cdot FF \cdot 1000}{\epsilon \cdot l}$$

при што:

$$AA_{vk} = (AA_{515} - AA_{700})_{pH1}$$

M = 449,2 g/mol (молекуларна маса на цијанидин-3-гликозид)

F = 20 (фактор на разредување на екстрактот или фактор на разредување)

$\epsilon = 26900 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ (коэффициент на моларна екстинкција, т.е. коэффициент на моларна апсорбанца на цијанидин-3-гликозид)

L = 1 cm (зголемена телесна тежина на кивета)

Концентрацијата на неразградени антоцијанински мономери во екстрактите се пресметува како еквивалент на цијанидин-3-гликозид според следната формула:

$$\text{Антоцијанински мономери} = \frac{A_{mon} \cdot M \cdot F \cdot 1000}{\epsilon \cdot l}$$

каде што:

- A_{mon} - апсорбанца на разреден екстракт.

- A_{vk} се пресметува според следната математичка формула:

$$A_{vk} = [(AA_{515} - AA_{700})_{pH1} - (AA_{515} - AA_{700})_{pH4.5}]$$

Пресметаните концентрации на вкупните и мономерни антоцијани во екстрактот се прикажуваат како милиграмски еквиваленти (mg) на цијанидин-3-гликозид (C3G) на грам (g) сув екстракт (mg/g C3G \pm SD).

Резултатот претставува средна вредност на три последователни мерења за секој примерок.

4.3.8. HPLC анализа на екстрактите од малина

Идентификација и квантификација на полифенолни соединенија присутни во различни екстракти од сортите малина Primalba и Willamette беше изведена со употреба на течна хроматографија со високи перформанси со детекција на диодна низа (HPLC/DAD).

Постапка за работа:

Колоната се термостира на температура од 25°C. Како мобилна фаза е користен систем на растворувачи:

- растворувач А: се состои од вода и 2% мравја киселина
- растворувач Б: содржи 80% ацетонитрил, 2% мравја киселина и вода.

Раздвојувањето на компонентите беше извршено со користење на следниот линеарен градиент:

- а) од 0 до 10 минути 0% Б,
- б) потоа за 10 до 28 минути се зголемува на 0-25% Б,
- в) од 28 до 30 минути достигнува 25% Б,
- г) потоа 30 до 35 минути 25-50% Б,
- д) од 35 до 40 минути 50-80 % Б и
- е) последните 5 минути 80-0% Б.

Стапката на проток на мобилната фаза изнесува 0,8mL/min. 5µL примерок се инјектирани, автоматски, со помош на автосемплер. Идентификацијата на полифенолните соединенија во испитуваните примероци е извршена со споредување на ретенционите времињата на стандардите и примероците како и со помош на спектри за апсорпција како метод на надворешен стандард.

Припремен е основен раствор од 1,0mg/ml со растворање во метанол. Од овој раствор е подготвена серија разредени стандардни раствори со соодветни масени концентрации. Конструирани се криви за калибрација и вкупната количина на полифенолни соединенија е пресметана врз основа на површината на добиените пикови. Резултатите се пресметуваат во зависност од масената концентрација на стандардот. Масените концентрации на компонентите во екстрактите се пресметани од добиените линеарни равенки за зависност.

Содржината на полифенолните соединенија се изразува во микрограми (µg) по грам (g) екстракт (µg/g).

4.4. АНАЛИЗА НА БИОХЕМИСКАТА АКТИВНОСТ НА ЕКСТРАКТИ ОД ПЛОДОВИТЕ НА СОРТИТЕ МАЛИНА PRIMALBA И WILLAMETTE

Добиени екстракти од сортите малина Primalba и Willamette беа подложени на определување на нивната биохемиска активност. Беа извршени следните анализи:

- Одредување на антиоксидативна активност,
- Одредување на антимикуробна активност,
- Одредување на цитотоксичната активност

За одредување на антиоксидативниот капацитет на екстрактите од проучуваните сорти малина Primalba и Willamette користени се методи, кои се засноваат на различни механизми на манифестација на антиоксидативна активност.

Антимикуробната активност беше определена со методот на микроразредување.

Цитотоксичната активност на екстрактите беше тестирана на три клеточни линии и тоа: Нер2с клетки (клеточна линија на човечки карцином на грлото на матката), RD-клетки (клеточна линија добиена од човечки рабдомиосарком) и L2ОВ клетки (клеточни линии добиени од фибробласти на глушец) со МТТ тест.

4.4.1. Одредување на антиоксидативната активност

За да се утврди антиоксидативната активност на анализираните екстракти од сортите малина Primalba и Willamette, користени се различни методи и тоа;

- одредување на вкупна антиоксидативна активност,
- одредување на инхибиторна активност на ниво на липидна пероксидација,
- одредување на антиоксидативна активност на ниво на хидроксилни радикали,
- одредување на антиоксидативна активност со DPPH и
- одредување на антиоксидативна активност со ABTS.

Материјалот е подготвен како што е опишано од Virtanen et al. (2007) и е искористен веднаш после подготовката (со одредени измени кои беа неопходни за прилагодување на методата кон условите за работа и апаратурата во лабораторијата). Нехидролизираниот казеин е отстранет. Дози од 15mL се земени од секој примерок и рН е адаптирана на 4,6 (само кај примероците со повисока рН од 4,6) со 1M HCl. Суспензијата е центрифугирана на центрифуга на 9000 rpm-1, RCF=7690g за време од 20 минути во центрифуга Hettich Universal 320R(Andreas Hettich GmbH - Germany), и супернатантот е филтриран преку груба филтерна хартија.

4.4.1.1. Одредување на вкупна антиоксидативна активност

Вкупната антиоксидативна активност на добиените растителни екстракти е одредена со методот на *Prieto et al. (1999)*. Принципот на методот се заснова на редукција на јоните на Мо(VI) до Мо(V) јони, при што во кисела средина во присуство на антиоксидативно соединение се формира комплексот фосфат-Мо (V).

Добиеното соединение има зелена боја, чија апсорбанца може да се мери на бранова должина од 695nm на спектрофотометар.

Постапка за работа:

По мешање на 0,3mL од екстрактот од малина со 3mL фосфомолибденски реагенс (0,6M сулфурна киселина, 28mM натриум фосфат и 4mM амониум молибдат), реакционата смеса се инкубира 90 минути на температура од 95°C.

Во контролната проба, наместо примерокот се додава 0,3mL раствор на етанол. Апсорбанцата се мери на бранова должина од 695nm.

Истовремено, е подготвена и серија на стандардни раствори на аскорбинска киселина (0,1-2 mg/mL) на ист начин. Вкупните вредности на антиоксидантната активност се пресметани врз основа на равенката на дијаграмот за калибрација на аскорбинска киселина. Резултатот се изразува во mg AA/g екстракт \pm SD. и се прикажува како средна вредност на три последователни мерења за секој примерок.

4.4.1.2. Одредување на антиоксидативна активност со мерење на инхибиторна активност на ниво на липидна пероксидација

Антиоксидативната активност на ниво на инхибиција на липидната пероксидација беше определена со методот на тиоцијанат според *Hsu et al (2008)*.

Постапка за работа:

Подготвената емулзија на линолеинска киселина (0,2804 g линолеинска киселина, 0,2804 g Tween-20 како емулгатор и 50 mL од 40 mM фосфатен пуфер) се меша додека смесата не стане хомогена. Кон крајот на мешањето, се додаваат се 5mL/40mM фосфатен пуфер за прилагодување на рН на 7,0. После тоа, растворот се остава во темно на температура од 37°C, 72 часа. . Потоа се мери 0,1mL од реакциониот раствор и се меша со 4,7mL етанол, 0,1mL FeCl₂ и 0,1mL амониум тиоцијанат, по што се мери апсорбанца на смесата на 500nm бранова должина.

Како стандарди се користат аскорбинска киселина, галска киселина, α -токоферол и β -хидрокситолуен. Со цел да се елиминира ефектот или влијанието на растворувачот, користен е контролен примерок, кој содржи иста количина на растворувач додаден во емулзија на линолна киселина во анализираниот примерок и референтното соединение.

Резултатот се прикажува како средна вредност на три последователни мерења за секој примерок. Процентуалната инхибиција на пероксидацијата на линолеинска киселина се пресметува со следната формула:

$$[\% \text{ инхибиција}] = [(A_k - A_p)/A_k] \times 100,$$

при што:

A_k = апсорбанца на контролниот примерок,

A_p = апсорбанца на примерокот.

4.4.1.3. Одредување на антиоксидативната активност на ниво на хидроксил радикали

Определувањето на антиоксидативната активност на ниво на хидроксилни радикали на екстрактите од испитуваните сорти малина е направено според методот на *Hinenburg et al* (2006).

Постапка за работа:

На реакционата смеса која содржи 100 μ L од екстрактот растворен во вода, се додаваат: 500 μ L 5,6 mM 2-деокси-D-рибоза во пуфер KH_2PO_4 - NaOH (50 mM, pH=7,4), 200 μ L смеса (100 μ L FeCl_3 и 100 μ L EDTA во сооднос од 1:1 v/v раствор), 100 μ L 1,0mM H_2O_2 и 100 μ L 1,0mM воден раствор на аскорбинска киселина. Потоа епруветите се мешаат на вортекс и се оставаат да отстојат 30 минути на температура од 50°C. По инкубацијата, 1mL од 2,8% TCA и 1mL од 1,0% TBA се додаваат во секоја секоја епрувета. Примероците се центрифугираат и загреваат во водена бања на 50°C, 30 минути. Како стандарди се користат аскорбинска киселина и β -хидрокситолуен. Потоа е извршено мерење на апсорбанца на бранова должина од 532nm, врз основа на кое е евалуиран степенот на оксидација на 2-деоксирибозата.

Вредностите на инхибиција се изразуваат како проценти на апсорбанцата на контролните и испитуваните примероци, при што контролниот примерок ги содржи сите компоненти освен екстрактот од малина.

Резултатот се прикажува како средна вредност на три последователни мерења за секој примерок. Процентуалната инхибиција на ниво на хидроксилни радикали се пресметува според следната формула.

$$\% \text{ Инхибиција}[\text{H}_2\text{O}_2] = \text{IC}_{50} = \frac{A^0 - A}{A^0} \times 100 \text{ или}$$

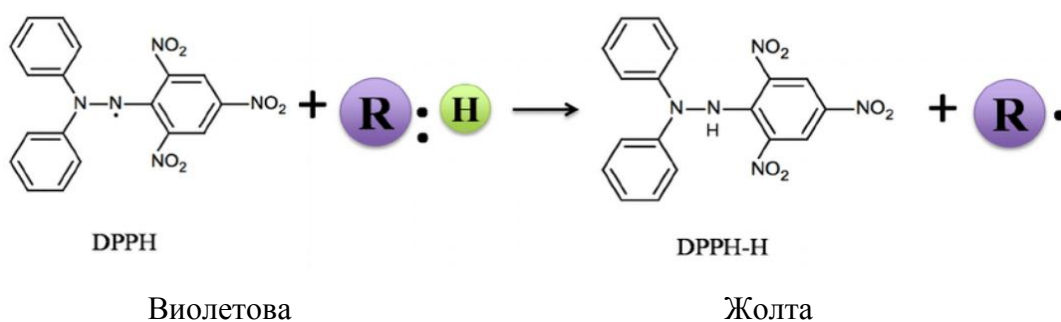
$$\% \text{ на отстранување} [\text{H}_2\text{O}_2] = \frac{A^0 - A}{A^0} \times 100$$

- IC_{50} – означува инхибиција или отстранување (чистење) на водороден пероксид (H_2O_2) и тоа инхибиција на 50% од вкупната содржина на H_2O_2 .

- A^0 е апсорбанца на контролата, а A е апсорбанца на анализираните примероци.

4.4.1.4. Одредување на антиоксидативна активност со DPPH

Анализата на DPPH се смета за валидна, точна, лесна и економична метода за проценка на активноста на антиоксидатите за неутрализација на слободните радикали (Kedare S.B., Singh R.P, 2011). Тестот се заснова на мерење на капацитетот за отстранување на антиоксидати со користење на α, α -дифенил- β -пикрилхидразил (DPPH) радикали. Неспарениот електрон на азотниот атом во DPPH се редуцира со примање на водороден атом од антиоксидативното соединение до соодветен хидразин (Contreras-Guzman E.S., Strong F.C., 1982). Активноста се манифестира со промена на бојата од виолетова во жолта, која се следи спектрофотометриски.



Слика 9. Реакција на антиоксидати со 2,2-дифенил-1-пикрилхидразил радикал

Промената на бојата (виолетова боја → жолта боја) овозможува визуелно следење на реакцијата. Степенот на обезбојување зависи од редуцирачката способност и присутните електрони, колку се тие со повисоки вредности толку е поголем степенот на промена на бојата. Определувањето на антиоксидативната активност на ниво на DPPH радикали беше испитувано според методот на *Takao et al (1994)* со мала модификација (Kumarasamy Y., et al., 2007).

Постапка за работа:

DPPH (8mg) се раствораат во 100mL етанол (концентрација од 80µg/mL). Од основниот раствор на екстракт на малина (1mg/mL), се подготвува серија стандардни раствори (2mL од секој раствор потоа се измешани со DPPH 2mL). Растворите се оставаат да отстојат 30 минути. Потоа се мери апсорбанца на 517nm.

Како референтни стандарди се користат аскорбинска киселина (AA), галска киселина (GA) и β-хидрокситолуен (BHT).

Подготвен е контролен примерок на тој начин што го содржи истиот волумен без анализирани соединенија или референтни антиоксидативи. Како слепа проба се е користен етанол. Резултатот се прикажува како средна вредност на три последователни мерења за секој примерок.

Неутрализацијата на DPPH се пресметува со следната формула:

Пресметка по формула:

$$[\% \text{ неутрализација}] = \frac{A_k - A_p}{A_k} * 100$$

Каде што:

A_k = апсорбанца на контролниот примерок.

A_p = апсорбанца на примерокот што се испитува.

IC_{50} е дефинирана како концентрација на анализираниот што доведува до неутрализација на 50% од радикалот DPPH. Вредноста на IC_{50} се изразува во µg/mL екстракт.

4.4.1.5. Одредување на антиоксидативна активност со ABTS

Одредувањето на антиоксидативната активност на ниво на ABTS радикали (2,2'-азино-бис(3-етилбензтиазолин-6-сулфонска киселина)) е една од методите која се користи за испитување на антиоксидативните својства на различни супстанции или екстракти.

Овој метод се базира на анализа на реакцијата помеѓу антиоксидатите и ABTS+ радикалите, кои се формираат со оксидација на ABTS со водород пероксид или други пероксиди. ABTS радикалите имаат апсорбанца на 734 (nm), која се менува во присуство на антиоксидати.

ABTS⁺ радикалниот катјон треба да биде подготвен и разреден така што апсорпцијата на растворот на 734nm ќе биде меѓу 0.7 и 1.0.

Постапка за работа:

Се подготвува антиоксидантен примерок во соодветен растворувач во различни концентрации, за да може да се добие калибрациска крива, се мери апсорпцијата на ABTS⁺ радикалот на 734nm пред додавање на примерокот за добивање на почетна вредност, се додава волумен (10-20 µL) од антиоксидантниот примерок во епруветата со ABTS⁺ радикален раствор (980-990 µL), се инкубира смесата 6 минути на собна температура, по што повторно се мери апсорпцијата на растворот на 734nm.

Пресметка по формула:

$$[\% \text{ неутрализација}] = \frac{Ak - Ap}{Ak} * 100$$

каде што:

Ak = е апсорбанца на ABTS⁺ радикалот без антиоксиданс (контрола),

Ap = апсорбанца е апсорпцијата по додаток на антиоксидантниот примерок.

4.4.2. Одредување на антимикуробна активност

За одредување на антимикуробната активност на анализираните екстракти, беа користени 8 соеви на различни видови бактерии и габи и тоа: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Candida albicans* ATCC 1023, *Aspergillus niger* ATCC 16404, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 13883, *Proteus vulgaris* ATCC 13315, *Proteus mirabilis* ATCC 14153).

Соевите на бактерии и габи беа добиени од микробиолошката лабораторија на Институтот за хигиена во Чачак.

4.4.2.2. Подготовка на бактериска клеточна суспензија

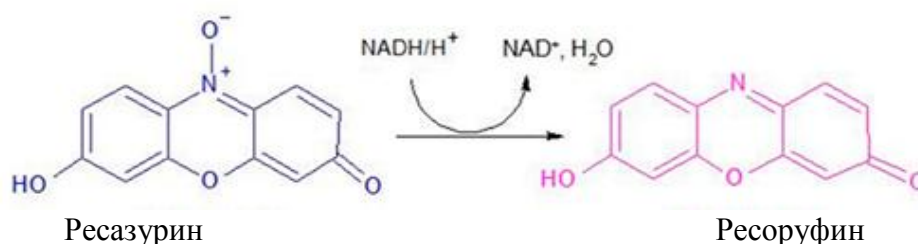
Во епруветите се поставува медиум како коса подлога и врз него се додаваат бактериите кои се испитуваат. Откако тие ќе се развијат се додава стерилна, дестилизирана вода со што се добива раствор од спори во суспензија. На вака подготвена суспензија се мери апсорбанцата. Со спектрофотометар се мери оптичката густина на 550nm при што се додава стерилна дестилирана вода или раствор на микроорганизми за да се добие $A_{550 \text{ nm}} = 0,045$. Опсегот на измерени апсорпции се

движи од $A=0,045$ до $A=0,04$. Опсегот се прилагодува со додавање стерилна дестилирана вода. Густината на суспензијата на спорите е $5,6 \times 10^6$ CFU/mL. Подготвената суспензија на спори се чува во фрижидер додека не се изврши експериментот.

4.4.2.3. Определување на антимикробната активност

Антимикробната активност на анализираните екстракти од малина беше одредена со мерење на нивната минималната инхибиторна концентрација (MIC) која може да го инхибира растот на испитуваните микроорганизми.

Во експериментот се користени микротитарни плочи со 96 конусни вдлабнувања. Како индикатор за редукција на оксидот беше користен резазурин. Принципот на определување се заснова на реакцијата на редуцирање на резазуринот на соединението ресорурфин. Реакцијата е обоена, почетниот индикатор резазурин ја менува бојата од виолетова до розова. Овој модифициран метод на резазурин е едноставен, чувствителен, брз и сигурен (Sarker S.D., Nahar L., Kumarasamy Y., 2007). Ензимите под чие влијание се одвива реакцијата потекнуваат од класата на оксидоредуктази (NADH и NADPH дехидрогенази). Минималната инхибиторна концентрација е концентрацијата во последниот дел од микротитарната плоча во кој нема промена на бојата на индикаторот.



Слика 10. Редукција на реакција на резазурин во ресорурфин

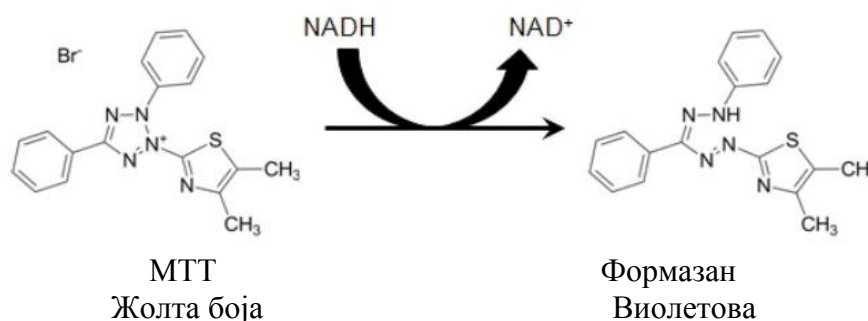
Постапка за работа:

Се става 50 μ L Müller-Hinton медиум (Müller-Hinton) и 50 μ L од екстрактот во плочата за микротитар. Потоа, од првата се зема 50 μ L од смесата и се префрла на втората, од втората 50 μ L на третата и на тој начин се прави серија разредувања. Потоа во секоја вдлабнатина се додава 10 μ L резазурин. Резазуринот е подготвен со растворање на таблета од 270mg во волумен од 40mL стерилна дестилирана вода. Откако е додаден резазурин, се додава 20 μ L суспензија на микробни соеви. Потоа на

секоја се додава уште 20 μ L подлога. Се остава во термостатот на 30°C 24 часа. Како стандард, го користевме антибиотикот Amrascin за контрола на чувствителноста на тестираните микробни соеви. По 24 часа се проверуваат плочите и се следи промената на бојата. Ако бојата на индикаторот е сменета од виолетова во розова или безбојна, во тој случај се зема реакцијата како позитивна. Потоа се бара првата вдлабнатина, почнувајќи од поконцентрираниот во кој бојата на индикаторот не е променета и таа концентрација се зема како минимална инхибиторна концентрација (MIC). Тестовите се извршени во три примероци и добиената вредност е земена како MIC за тестираниот примерок и стандардот.

4.4.3. Определување на цитотоксичната активност

Цитотоксичната активност беше одредена според методот на Mosman *at all* (1983). МТТ анализа во *in vitro* услови. Оваа анализа се базира на способноста на одржливите клетки да ја разградат тетразолиумската сол МТТ. МТТ е 3-(4,5диметилтиазол-2-ол)-2,5-дифенилтетразолиум бромид (Baviskar B.A., et al., 2012). Разградувањето се врши под дејство на митохондријалниот ензим сукцинат дехидрогеназа врз споменатите клетки, при што како производ се добива формазан, кој е виолетово обоен.



Слика 11. Редукција на МТТ под дејство на ензимот митохондријална редуктаза

Во ова испитување беа користени три типа на клеточни култури:

- Hep2 (медиум: MEM Eagle / 5% FCS) човечка клеточна линија - *карцином на човечки ларинкс*,
- RD (медиум: MEM Eagle / 10% FCS) - клеточна линија на човечки *рабдомиосарком*,
- L2OB (медиум: MEM Eagle / 10% FCS) - линија на фибробласт на тумор на *глушец*.

Постапка за работа:

Клеточна суспензија со густина од 10^4 cells/mL се инокулира во микротитарни плочи со 96 вдлабнатини, а потоа се инкубира 24 часа во инкубатор на температура од 37°C во присуство на 5% CO_2 . После инкубацијата медиумот кој зависи од видот на клеточна култура која се испитува, односно MEM Eagle / 5%FCS, MEM Eagle / 10% FCS или MEM Eagle / 10%FCS се заменува со 100 μL нов медиум, на кој овој пат се додава примерок од анализираните екстракти од малина (25-1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$). Во контролните бунарчиња на клетките се додава свеж медиум, но без екстракт. По додавањето, се оставаат примероците да отстојат 48 часа, а потоа се утврдува одржливоста на клетките. Тестот се базира на реакцијата на ензимот митохондријална дехидрогеназа од живите со МТТ. По инкубација на клетките со испитуваните екстракти, во секоја вдлабнатина од плочата се додава МТТ со концентрација 5mg/mL PBS. Плочата се инкубира 2 до 4 часа, на температура од 37°C . Притоа се создава виолетово обоено соединение - формаза во вид на кристали кои се раствораат во 150 μL растворувач (како растворувач е користен DMSO). Потоа се мери апсорбанца на 570nm бранова должина. Добиената вредност се множи со 100 и се добива процентот на одржливи клетки. Резултатот се добива како средна вредност на три последователни мерења за секој испитуван примерок.

4.5. СТАТИСТИЧКА ОБРАБОТКА НА РЕЗУЛТАТИТЕ

За анализа на степенот на корелација помеѓу испитуваните параметри во екстракти од сортите малина Primalba и Willamette како: вкупни феноли, кофеинска киселина, хлорогена киселина, p-кумарна киселина, ферулинска киселина, елагична киселина, рутин, q-глукозид, q-рамнозид, вредности на вкупен антиоксидативен капацитет, инхибиторна активност на ниво на липидна пероксидација, антиоксидативна активност на ниво на хидроксилни радикали, антиоксидативна активност со DPPH, антиоксидативна активност со ABTS, како и цитотоксичната активност кон клеточните линии: Hep2c, RD, L2OB и L929 клетки користен е Пирсоновиот коефициент на корелација.

За испитувањето на морфолошките и хемиски карактеристики на сортите малина Primalba и Willamette добиените податоци се обработени статистички со t-тест со два примерока претпоставувајќи нееднакви варијанси, исто така позната како Вилкохсонова анализа која вклучува разбирање на неколку клучни елементи од тестот: t-вредност, степени на слобода (df), p-вредност и интервал на доверба со што би се заклучило дали постои значителна разлика помеѓу морфолошките карактеристики од двете испитувани сорти на малина.

5. РЕЗУЛТАТИ

5.1. ТЕХНОЛОГИЈА ЗА ПРОИЗВОДСТВО НА МАЛИНИ

5.1.1. Анализа на физичко-хемиските карактеристики на почвата

Првичната хемиска анализа е направена во лабораторија 1 (PROANALIZ Laboratory) на четири примероци почва земени од различни локации во рамките на истиот расадник во ноември 2018 година, резултатите се прикажани во Табела 3.

Хемиски анализи на почва- анализа 1								
Анализирани параметри	Примерок 1		Примерок 2		Примерок 3		Примерок 4	
	Резултат	Заклучок	Резултат	Заклучок	Резултат	Заклучок	Резултат	Заклучок
<i>Ph</i>	7,7	слабо алкална	6,28	слабо кисела	6,35	слабо кисела	6,11	слабо кисела
<i>Var (%CaCO₃)</i>	1,0	варовита	1,3	варовита	1,6	варовита	2,1	варовита
<i>EC (ds/m)</i>	0,287 (21,7 ⁰ c)	без сол	0,237 (20,7 ⁰ c)	без сол	0,215 (21,16 ⁰ c)	без сол	0,225 (21,1 ⁰ c)	без сол
<i>Сол</i>	0,01	без сол	0,007	без сол	0,006	без сол	0,009	без сол
<i>Сатурација (Текстура)</i>	71,5	песоклива	51,04	глинесто карпеста	53,9	глинесто карпеста	55,44	глинесто карпеста
<i>Органски материи</i>	2,05	средно	2,80	средно	1,64	малку	1,24	малку
<i>Вкупен Азот (N) %</i>	0,10	доволно	0,14	доволно	0,08	малку	0,06	малку
<i>Апсорбиран Фосфор (P) P₂O₅ kg/da</i>	16,03	многу високо	40,36	многу високо	24,7	многу високо	14,77	многу високо
<i>Апсорбиран Калиум (K) K₂O kg/da</i>	17,1	многу малку	49,7	доволно	23,6	малку	14,0	многу малку
<i>Апсорбиран Калциум(Ca) Ppm</i>	3745,0	високо	1235,0	доволно	2170,0	доволно	1113,0	малку
<i>Апсорбиран Магнезиум (Mg) Ppm</i>	74,58	малку	138,7	малку	220,9	доволно	184,7	доволно
<i>Апсорбирано Железо (Fe) Ppm</i>	1,163	средно	81,92	доволно	157,8	Доволно	76,20	доволно
<i>Апсорбиран Манган (Mn) Ppm</i>	1,283	многу малку	21,00	доволно	24,25	Доволно	12,12	малку
<i>Апсорбиран Цинк Zn Ppm</i>	1,031	доволно	5,473	високо	2,570	Високо	1,848	доволно
<i>Апсорбиран Бакар Cu Ppm</i>	3,309	доволно	4,655	доволно	4,322	Доволно	2,822	доволно

Табела 3. Хемиска анализа на почвата во Ноември 2018 година
Извор: Јовица Момирчески, сопствено истражување (2018).

- **Органски материи во почвата**

Примероците под реден број 3 и 4 имаат ниска содржина на органски материи, додека примероците со реден број 1 и 2 имаат средна содржина на органски материи.

Се препорачува да се изврши гноење со 20 - 30t/ha прегорено шталско ѓубриво на целата површина од каде што се земено примероците, со цел да се збогати почвата со органски материи и да се постигнат оние вредности кои се потребни за задоволување на потребите за подигање на насад малина. Како замена за шталското ѓубриво, може да се изврши и расфрлање на компост. Просечниот компост содржи околу: 0,3% N, 0,1% P, 0,3% K и околу 2 – 3% CaO.

- **Закиселување на почвата**

Во однос на закиселувањето на почвата, потребно е тоа да се изврши само на површината од каде што е земен примерокот број 1, чија што рН вредноста е 7,7 (слабо алкална). Кога рН вредноста е над 7,0, може да дојде до неможност за искористување на одредени елементи како што се Fe и Zn. Во тој случај може да се изврши закиселување на почвата со пилевина или со комина (која се добива после варењето на ракијата).

- **Сатурација - текстура на почвата**

Од резултатите може да се види дека само во првиот примерок е добиена повисока вредност од 71,51% во однос на другите примероци чија вредност се движи од 51,04% до 55,44%. Од вредностите заклучуваме дека кај првиот примерок се работи за површина со наслаги од песок или песочна почва, додека за другите три примероци се работи со глинеста карпеста почва.

- **Електроспроводливост на почвата**

Резултатите од спроводливоста (ds/m) на јоните од елементите на примерокот кои се присутни со соодветна температура од 20,70°C - 21,70°C и без сол (NaCl) се во референен опсег што е резултат на отсуство или минимално присуство на сол во почвата. Процентот на NaCl се движеше од 0,009 до 0,07% и одговара на барањата за садење малина.

- **Калцизација**

рН вредноста укажува на содржината на калциум во почвата. Кај почви со рН вредност повисока од 7,0, може да дојде до блокирање и неможност за искористување на одредени микроелементи како Fe и Zn. Калциумот, како што е важен за почвата, така е важен и за достапноста на другите елементи во почвата. Калциумот има важна

урога за цврстината на плодот и неговата подложност кон физиолошки промени. Адекватната застапеност на калциум во почвата, ја олеснува апсорбанцата на останатите елементи и ја зголемува активноста во самата почва. Се препорачува минимално додавање на калциум на оваа површина, односно на расадникот од каде се земени примероците, се со цел да се доведе калциумот до идеалната содржина која ја побарува насадот од малини. Понатамошна калцизација може да се извршува на секои 3 години, за да се изврши дополнување на отстранетиот карбонат од почвата со природните процеси.

- **Азот (N)**

Со додавањето на шталското ѓубриво, автоматски се зголемува и содржината на азот во почвата. Со примена на ова ѓубриво, во почвата од каде што е земен примерокот 1, содржината на азотот ќе се зголеми, а во почвата од каде е земен примерокот 2 содржината на азот е доволна, а кај почвата од каде се земени примероците 3 и 4 ќе се додаде амониум нитрат за да се постигне посакуваната содржина на азот. Ова значи дека различни делови од расадникот ќе бидат различно третирани.

- **Фосфор (P)**

Фосфорот е важен за карактеристиките на плодот во текот на складирањето. Оптималата вредност на фосфор во почвата за овој тип на насад е над 10mg. Бидејќи малината нема големи потреби од фосфор, ретко доаѓа до симптоми на недоволна содржина на фосфор. Прекумерната застапеност на фосфор во почвата, може да доведе до успорување на растот и до појава на дамки или точки на листовите, што доведува до паѓање на листовите од растението. Застапеноста на фосфор кај испитуваните примероци почва е висока, а особено кај примерокот под реден број 2. Поради високата застапеност на фосфор во почвата се препорачува понатамошното ѓубрење да се изведува со ѓубрива кои не содржат фосфор или истиот е застапен во минимални количини.

- **Калиум (K)**

Калиумот е од голема важност за добивање на добри приноси кај овошките. Овошјето кое е добро снабдено со калиум во почвата е отпорно на сушење и на болести. Лошата застапеност со калиум, доведува до слаба или недоволна развивеност на плодовите. Недостатокот на калиум во почвата го спречува нормалниот развој на пупките и доведува до недоволна обоеност на плодот. Кај

примерокот почва број 2 содржината на К е задоволителна, додека кај останатите примероци 1, 3, 4 е недоволна. Кај овие примероци се препорачува да се изврши ѓубрење со калиум хлорид (60%).

- **Магнезиум (Mg)**

Кога се споменува магнезиумот, битно е да се истакне дека соодносот К/ Mg треба да изнесува од 2:1 до 3:1. Овој сооднос кај сите испитувани примероци почва не е поволен. Во ваков случај се препорачува да се користат поединечни ѓубрива, а не комбинирани кои содржат повеќе компонентни. Застапеноста на магнезиумот во почвата зависи од влагата на почвата и содржината на фосфор. Доколку содржината на К во почвата е висока, тој може да делува репресивно на содржината на Mg и на тој начин може да доведе до блокирање и недоволно искористување на Mg. Генерално, калцизацијата ја зголемува содржината на Mg, бидејќи во апсорпциониот микс доаѓа до замена на калциумот со магнезиумот. Недостатокот од магнезиум доведува до разградување на хлорофилот, а неговата прекумерна застапеност доведува до блокирање на апсорбанцата на К и Са. Поради неповолниот сооднос на К/ Mg кај испитуваните примероци почва не се препорачува ѓубрење со Mg.

Втората анализа на хемискиот состав на почвата беше извршена во март 2023 година. Анализирани беа 11 примероци почва од кои 10 се почва во длабочина од 15 – 25cm додека последниот број 11 одговара на ознака ладилник, врз кои е извршено физичко хемиско испитување со цел одредување на погодноста на почвата за насад на малини. Примероците беа земени во март 2023 година на различни локации во рамките на истиот расадник. Анализите беа направени на Факултетот за земјоделски науки и храна, Универзитет „Св.Кирил и Методиј“ - Скопје. Податоците добиени од испитувањата се прикажани во Табела 4.

<i>Хемиски анализи на почва- анализа 2</i>						
<i>Број на примерок</i>	<i>Хумус / %</i>	<i>N (вкупен азот) / %</i>	<i>CaCO₃ / %</i>	<i>pH во H₂O</i>	<i>P₂O₅ / (mg/100 g)</i>	<i>K₂O / (mg/100g)</i>
1	1,98	0.104	0,00	5,76	26,08	37,45
2	2,01	0.112	0,11	5,55	24,25	45,76
3	1,90	0.118	0,00	6,04	38,56	48,30
4	1,76	0.106	0,00	6,09	21,05	37,69
5	1,74	0.096	0,00	5,55	21,23	31,16
6	1,68	0.108	0,00	6,31	19,10	36,13
7	1,68	0.091	0,00	5,58	10,15	29,52
8	1,59	0.084	0,00	5,83	11,86	27,31
9	1,42	0.085	0,00	6,10	9,21	30,28

10	1,67	0.092	0,00	5,97	10,66	29,44
11	2,05	0.117	0,00	6,26	25,64	26,27

Табела 4. Хемиски анализи на почвата во март 2023 година

Извор: Јовица Момирчески, сопствено истражување (2023).

Резултатите од направените анализи укажуваат на следното:

- **pH во H₂O**

Според добиените резултати од хемиската анализа на испитуваните примероци почва е утврдено дека pH вредноста варира од слабо кисела (примероци: 6, 9 и 11), умерено кисела (примероци: 1, 3, 4, 8 и 10), па се до изразито кисела (примероци: 2, 5 и 7).

- **Хумус**

Резултатите од анализа на содржината на хумус во испитуваните примероци почва се движат од 1,42% до 2,05%. Добиените резултати укажуваат дека испитуваните примероци се почви со ниска содржина на хумус.

- **Вкупен Азот**

Испитувајќи ја количината на вкупен азот во примероците и имајќи ја во предвид класификацијата на почвите според содржината на вкупен азот, добиените резултати укажуваат дека почвите од кои се земено примероците 5, 8, 9 и 10 спаѓаат во почви кои се средно обезбедени со азот, додека почвите од кои се земено примероците 1, 2, 3, 4, 6 и 11 спаѓаат во почви кои се добро обезбедени со азот за задоволување на потребите на растенијата.

- **CaCO₃**

Анализата на примероците почви во однос на содржината на CaCO₃ покажува дека сите почви од локациите од каде беа земено примероците може да се класифицираат како почви без карбонати со исклучок на примерокот број 2 кој може да се класифицира како слабо карбонатна почва.

- **Макроелементи во почвата**

Резултатите добиени од анализа на содржината на P₂O₅ укажуваат дека кај пет од анализираните примероци почва (1,2, 4, 5 и 11) нивото на фосфор се движи во опсег од 20-30 mg/100g почва, кај примерокот 3 изнесува 38,56 mg/100g, што значи многу висока содржина на фосфор, додека примероците 6, 7, 8 и 9 имаат средно ниво на обезбеденост на фосфор.

Во поглед на K₂O, според добиените податоци од испитувањата, се заклучува дека почвата од каде се земено примероците 1, 4, 5 и 6 се почви со многу висока

содржина на калиум, што според класификацијата опфаќа почви кај кои оваа содржина е 35-45 мг/ 100g почва, додека пак примероците 2 и 3 излегуваат од овие граници и кај нив вредностите изнесуваат 45,76 и 48,30 mg/ 100g почва, што укажува на многу висока содржина на калиум во почвата. Примерокот број 9 спаѓа во почви со висока содржина за да примероците под реден број 7, 8, 10 и 11 спаѓаат во почви со средна содржина со калиум.

Во Февруари 2023 година, покрај претходните анализи направени се и анализи на пет примероци од 1kg почва (споредбени резултати) во „Проанализ лабораторија“, акредитирана од Агенцијата за акредитација „Туркак“ кои значително отстапуваат од реалната состојба на терен, која е утврдена со резултатите добиени од останатите две анализи. Добиените резултати од тестовите спроведени во февруари 2023 година се земени за споредба со првичните и се прикажани во следната Табела 5.

Хемиски анализи – анализа 3										
Анализиран и параметри	Примерок 1		Примерок 2		Примерок 3		Примерок 4		Примерок 5	
	Резултат	Заклучок	Резултат	Заклучок	Резултат	Заклучок	Резултат	Заклучок	Резултат	Заклучок
pH	7,48	неутрално	7,52	неутрално	7,95	неутрално	7,01	неутрално	6,86	неутрално
Вар (%CaCO ₃) %	6,8	средно	6,92	средно	2,9	средно	3,15	средно	3,10	средно
Спроводливост Ds/m	0,323	без сол	0,324	без сол	0,815	без сол	0,764	без сол	0,774	без сол
Сатурација (Текстура) %	56,10	тињеста	54,55	тињеста	60,0	тињеста	55,48	тињеста	55,00	тињеста
Органски материи %	1,6	ниско	1,58	ниско	1,2	ниско	1,93	ниско	1,84	ниско
Вкупен Азот (N) %	0,08	ниско	0,09	ниско	0,1	ниско	0,12	ниско	0,09	ниско
Апсорбиран Фосфор (P) P _{рт}	6,3	доволно	6,32	доволно	7,2	доволно	7,15	доволно	7,11	доволно
Апсорбиран Калиум (K) P _{рт}	77,2	доволно	77,4	доволно	84,1	доволно	99,44	доволно	99,40	доволно
Апсорбиран Калциум (Ca) P _{рт}	6544	високо	7880	високо	7438	високо	5549	високо	5547	високо
Апсорбиран Магнезиум (Mg)	720,9	високо	512,6	високо	300,9	високо	266,4	високо	241,1	високо

<i>Ррт</i>										
<i>Апсорбиран о Железо (Fe) Ррт</i>	7,19	доволно	7,25	доволно	4,15	доволно	5,12	доволно	5,11	доволно
<i>Апсорбиран Манган (Mn) Ррт</i>	1,33	малку	1,34	малку	11	малку	7,44	малку	7,43	малку
<i>Апсорбиран Цинк Zn Ррт</i>	1,65	доволно	1,77	доволно	1,0	доволно	1,22	доволно	1,23	доволно
<i>Апсорбиран Бакар Си Ррт</i>	3,56	доволно	3,52	доволно	0,58	доволно	1,10	доволно	1,11	доволно

Табела 5. Хемиски анализи на почвата во февруари 2023 година – компаративна студија

Извор: Јовица Момирчески, сопствено истражување (2023).

5.1.2. Морфолошки карактеристики на плодовите и семето од сортите малина Primalba и Willamette

Анализата на морфолошките карактеристики на испитуваните сорти малина беше направена во Институтот за овоштарство во Чачак, Србија. Со испитувањата беа опфатени вкупно 40 примероци плод (по 20 примероци од секоја испитувана сорта посебно). Беа направени морфометриски анализи на плодовите и костелките на секој примерок плод.

Во однос на морфометриските анализи на плодот беа анализирани следните карактеристики: маса (g), висина (mm) и две ширини односно ширина 1 од лева кон десна страна (h1/mm) и ширина од напред кон назад 2 (h2/mm).

Добиените податоци се статистички обработени со студентов со t-тест и прикажани во табела 6.

	Маса / (g)		Висина / (mm)		Ширина 1/ (mm)		Ширина 2/ (mm)	
	<i>Primalba</i>	<i>Willamette</i>	<i>Primalba</i>	<i>Willamette</i>	<i>Primalba</i>	<i>Willamette</i>	<i>Primalba</i>	<i>Willamette</i>
<i>Средна вредност</i>	3,81	3,03	21,71	20,05	17,70	17,50	16,25	15,75
<i>Варијанса</i>	0,29	0,14	3,89	2,47	1,16	0,68	1,67	1,04
<i>Број на примероци</i>	20,00	20,00	20,00	20,00	20,00	20,00	20,00	20,00
<i>Df</i>	34,00		36,00		36,00		36,00	
<i>t cTAT</i>	5,29		2,94		0,64		1,36	
<i>p(t<=t) еднонасочен</i>	3,61		0,00		0,26		0,09	
<i>t критична</i>	1,69		1,69		1,69		1,69	

<i>еднонасочен</i>								
<i>P(T<=t)</i> <i>двонасочен</i>	0,00		0,01		0,52		0,18	
<i>t критична</i> <i>двонасочен</i>	2,03		2,03		2,03		2,03	

Табела 6. Студентов t-тест на морфолошки карактеристики на плодовите од сортите малина Primalba и Willamette

Извор: сопствено истражување – резултати во прилог Табела 15 и Табела 17

Според податоците презентирани во табела 6, може да се заклучи дека во поглед на масата на самиот плод од тестираните 20 примероци од секоја од двете сорти малина, постојат значајни разлики помеѓу Primalba и Willamette според масата, со тоа што кај сортата Primalba средната вредност на масата и варијабилноста на примерокот е повисока. Табелата исто така покажува релативно висока вредност t статистички, која изнесува 5,290271, што укажува на забележителна разлика помеѓу двете групи. P-вредностите и во двата случаи, пак, укажуваат на исклучително мала веројатност дека набљудуваната разлика се должи на случајност. Од податоците презентирани во табелата се заклучува дека не постои статистички значајна разлика помеѓу средните резултати на Primalba и Willamette.

При испитување на висина исто така постојат значајни разлики помеѓу Primalba и Willamette со тоа што и средна вредност и варијансата на испитуваните 20 примероци од сортата Primalba е поголема отколку за Willamette. t-тест статистиката изнесува 2,942879 што е релативно висока вредност и укажува на значителна разлика помеѓу двете групи. Може да се заклучи дека средните вредности за Primalba и Willamette се значително различни, односно постои статистички значајна разлика помеѓу средните вредности на Primalba и Willamette.

Во рамките на испитување на ширина 1 нема значајни разлики помеѓу Primalba и Willamette, односно резултатите од t-тестот укажуваат дека нема статистички значајна разлика помеѓу средните вредности Primalba и Willamette во однос на пресметување на ширина 1.

Во поглед на ширина 2, согласно добиените податоци, се заклучува дека нема доволно докази кои укажуваат дека постои значајна разлика, односно нема статистички значајна разлика помеѓу средните вредности на ширината 2 на Primalba и Willamette

Во следната Табела 7 се прикажани резултатите добиени од морфолошките анализи на семето од плодовите на сортите малина Primalba и Willamette.

	Број на семки		Маса (mg)		Висина (mm)		Пречник (mm)	
	Primalba	Willamette	Primalba	Willamette	Primalba	Willamette	Primalba	Willamette
Средна вредност	92,05	89,90	1,53	1,75	5,95	5,70	4,90	4,73
Варијанса	169,84	461,25	0,09	0,19	0,63	0,90	0,44	0,80
Број на примероци	20,00	20,00	20,00	20,00	20,00	20,00	20,00	20,00
Df	31,00		34,00		37,00		35,00	
t Стат	0,38		-1,89		0,91		0,69	
p(t<=t) еднонасочен	0,35		0,03		0,18		0,25	
t критична еднонасочен	1,70		1,69		1,69		1,69	
P(T<=t) двонасочен	0,70		0,07		0,37		0,49	
t критична двонасочен	2,04		2,03		2,03		2,03	

Табела 7. Морфолошки карактеристики на семето од плодовите на сортите малина Primalba и Willamette

Извор: сопствено истражување – резултати во прилог Табела 16 и Табела 18

Согласно прикажаните податоци во Табелата 7 може да се заклучи дека нема доволно докази кои укажуваат дека постои значајна разлика во вредностите на сортите на Primalba и Willamette, во поглед на бројот на семки во еден плод.

Табелата 7 ги покажува и резултатите на масата на двете сорти, Primalba и Willamette каде резултатите покажуваат дека, според едностраната проверка, постои статистички значајна разлика помеѓу средните вредности на масата на Primalba и Willamette. Меѓутоа, според двостраната проверка, нема доволно докази за да се заклучи дека постои значајна разлика помеѓу средните вредности.

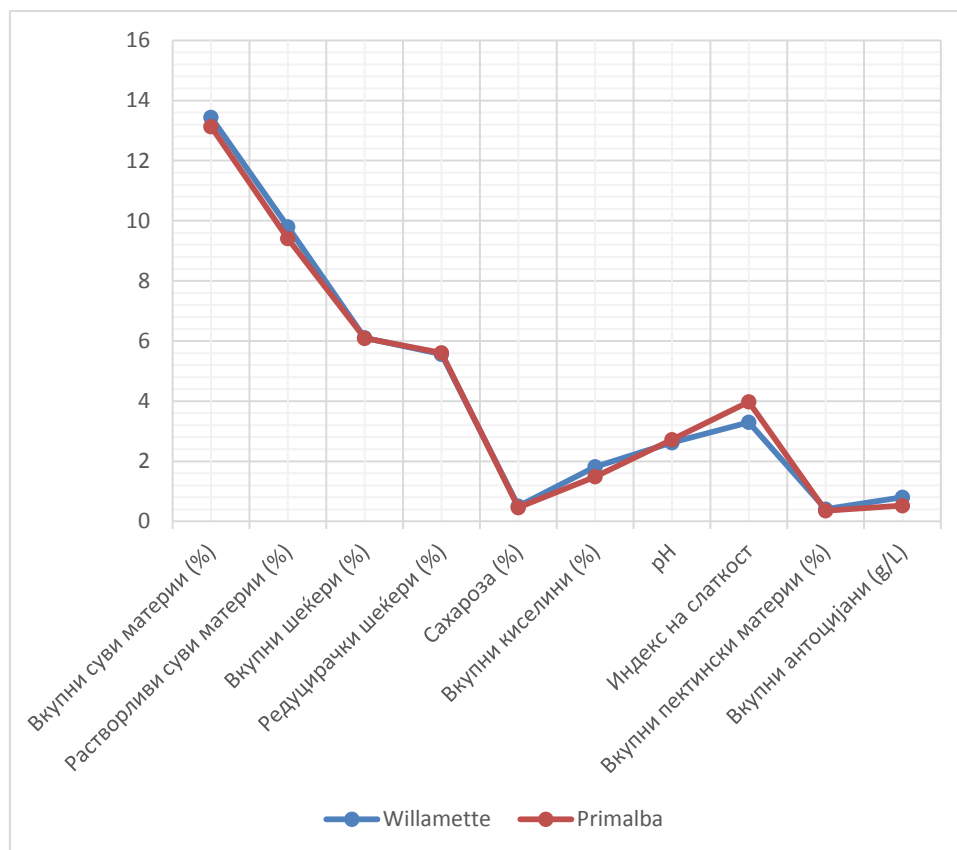
Покрај тоа испитувањата на вредностите на висината на семките на двете сорти, Primalba и Willamette укажуваат дека нема статистички значајна разлика помеѓу вредностите на висината на семките на плодот од Primalba и Willamette.

На крај Табелата 7, покажува резултати од вредности на пречникот на семките на две групи, Primalba и Willamette и според добиените податоци нема статистички значајна разлика помеѓу нив.

5.2. АНАЛИЗА НА ХЕМИСКИОТ СОСТАВ НА ПЛОДОВИТЕ ОД СОРТИТЕ МАЛИНА PRIMALBA И WILLAMETTE

5.2.1. Хемиски состав на плодот од сортите малина Primalba и Willamette

Во рамките на овие испитувања направена е и анализа на хемискиот состав на плодовите од двете сорти малина. Анализирани беа по 20 примероци од секоја сорта, а добиените резултати се прикажани во Прилози - Табела 19, графикон 2.



Графикон 2. Хемиски состав на плодот од сортите малина Primalba и Willamette
Извор: сопствено истражување – резултати во прилог Табела 19

Од графиконот 2, може да се заклучи дека вредностите во поглед на хемискиот состав на плодовите од двете сорти малина се слични, без позначителни отстапувања. Но, сепак, кај најголем дел од испитуваните хемиски карактеристики повисоки вредности се утврдени кај сортата Willamette. Така, на пример, вкупната содржина на сува материја кај сортата Willamette изнесува 13,44% додека, пак, кај Primalba изнесува 13,13%. Содржината на растворлива суви материји кај сортата Willamette изнесува 9,80%, а кај Primalba 9,41%. Содржината на вкупни шеќери кај сортата Willamette изнесува 6,11%, кај Primalba 6,09%. Сортата Willamette содржи 5,56%

редуцирачки шеќери, додека Primalba содржи 5,61%. Сортата Willamette содржи поголема количина сахароза (0,51%), а Primalba помала (0,46%). Количината на вкупни киселини (изразени преку содржината на лимонска киселина) кај сортата Willamette изнесува 1,82%, додека кај Primalba изнесува 1,49%. pH вредноста кај сортата Willamette е пониска и изнесува 2,62, додека кај Primalba вредноста изнесува 2,72. Индексот на слаткост кај сортата Willamette има вредност 3,30%, а кај Primalba 3,98%. Содржината на вкупни пектински материи кај сортата Willamette изнесува 0,409%, кај Primalba 0,357%. Вкупната содржина на антоцијани, одредени според методот на Никетик-Храждина, кај сортата Willamette изнесува 0,805% додека пак кај Primalba 0,524%.

5.2.2. Анализа на вкупни феноли и фенолен профил на екстракти од плодовите на сортите малина primalba и willamette

Квантитативната идентификација на полифенолните соединенија присутни во испитуваните екстракти од сортите малина Primalba и Willamette, беше изведена со употреба на течна хроматографија со високи перформанси со детекција на диодна низа (HPLC/DAD). Идентификацијата на полифенолните соединенија во испитаните примероци беше извршена со споредување на ретенционите времиња на стандардите. Резултатите се пресметани врз основа на калибрациони криви од референтни стандарди. За секој стандард беше конструирана калибрациона крива, а количината на секое од испитуваните полифенолни соединенија беше пресметана врз основа на површината на соодветниот пик. Содржината на полифенолните соединенија се изразува во микрограми (μg) по грам (g) екстракт ($\mu\text{g/g}$).

Во Табела 8 прикажани се равенките на кривата на калибрација, коефициентот на регресија (R^2), опсегот ($\mu\text{g}/\mu\text{L}$), границата на откривање (LOD $\mu\text{g/L}$) и границата на квантификација (LOQ $\mu\text{g}/\mu\text{L}$) за секој стандард поединечно.

Соединение		Крива на калибрација	R^2	Опсег (mg/mL)	LOD	LOQ
Кофеинска киселина	1	$y = 33525.38x - 0.8$	0.9988	0.010-35.00	0.009	0.030
Хлорогена киселина	2	$y = 10525.53x - 0.5$	0.9997	0.050-26.00	0.033	0.109
p-кумарна киселина	3	$y = 16622.13x + 0.6$	0.9998	0.050-20.00	0.040	0.132
Ферулинска киселина	4	$y = 24815.20x - 0.8$	0.9996	0.050-22.00	0.032	0.106
Елагична киселина	5	$y = 6013.25x + 0.8$	0.9997	0.100-30.00	0.052	0.172
Рутин	6	$y = 4315.25x - 0.5$	0.9998	0.060-20.00	0.032	0.106
q-глюкозид	7	$y = 4617.82x + 0.3$	0.9995	0.055-20.00	0.033	0.110

<i>q</i> -рамнозид	8	$y = 4912.32x - 0.7$	0.9993	0.060-20.00	0.030	0.100
--------------------	---	----------------------	--------	-------------	-------	-------

Табела 8. Равенки на калибрациони криви и параметри на валидација (HPLC-DAD анализа)

Извор: Јовица Момирчески, сопствено истражување (2023/24)

Од табелата 8 може да се заклучи дека сите соединенија покажуваат многу висока линеарност, со коефициент на корелација R^2 блиску до 1 (од 0.9988 до 0.9998) што укажува на висока прецизност и сигурност на аналитичката метода за секое соединение.

Опсегот на концентрации е различен за секое соединение и варира од 0.010mg/mL до 35.00mg/mL, со широк спектар на мерење за различните киселини и флавоноиди. На пример, кофеинската киселина има најголем опсег (0.010-35.00 mg/mL), додека елагичната киселина има опсег од 0.100-30.00mg/mL.

Границата на детекција (LOD) е многу ниска за сите соединенија, што укажува на способноста на аналитичката метода да открие дури и многу мали концентрации. На пример, кофеинската киселина има LOD од 0.009mg/mL, што значи дека може да се детектира многу мала количина на соединението.

Границата на квантификација (LOQ) исто така е ниска, што укажува на способноста на метода да ги квантификува малите концентрации на овие соединенија со прецизност. LOQ вредностите варираат од 0.030mg/mL за кофеинска киселина до 0.172mg/mL за елагична киселина.

За идентификација на фенолните соединенија, содржани во плодовите на испитуваните сорти малина, најпрво беше извршена мацерција на плодвите. Потоа од добиениот мацерирани материјал беа издвоени екстракти. За екстракција беа користени: Soxhlet екстракција и екстракција со ултразвук.

Преку квантитативната анализа на составот на полифенолните соединенија во екстрактите од сортите малини Pribalba и Willamette се утврди присуство на: кофеинска киселина, хлорогена киселина, *p*-кумарна киселина, ферулинска киселина, елагична киселина, рутин, *q*-глукозид и *q*-рамнозид.

Редоследот на елуирање на фенолните компонентите под опишаните хроматографски услови беше следниот: 1- кофеинска киселина, 2- хлорогена киселина, 3 - *p*-кумарна киселина, 4- ферулинска киселина, 5 - елагична киселина, 6 - рутин, 7 – *q* глукозид, 8 - *q*-рамнозид. Раздвојувањето на овие компоненти беше постигнато за време од 45 минути.

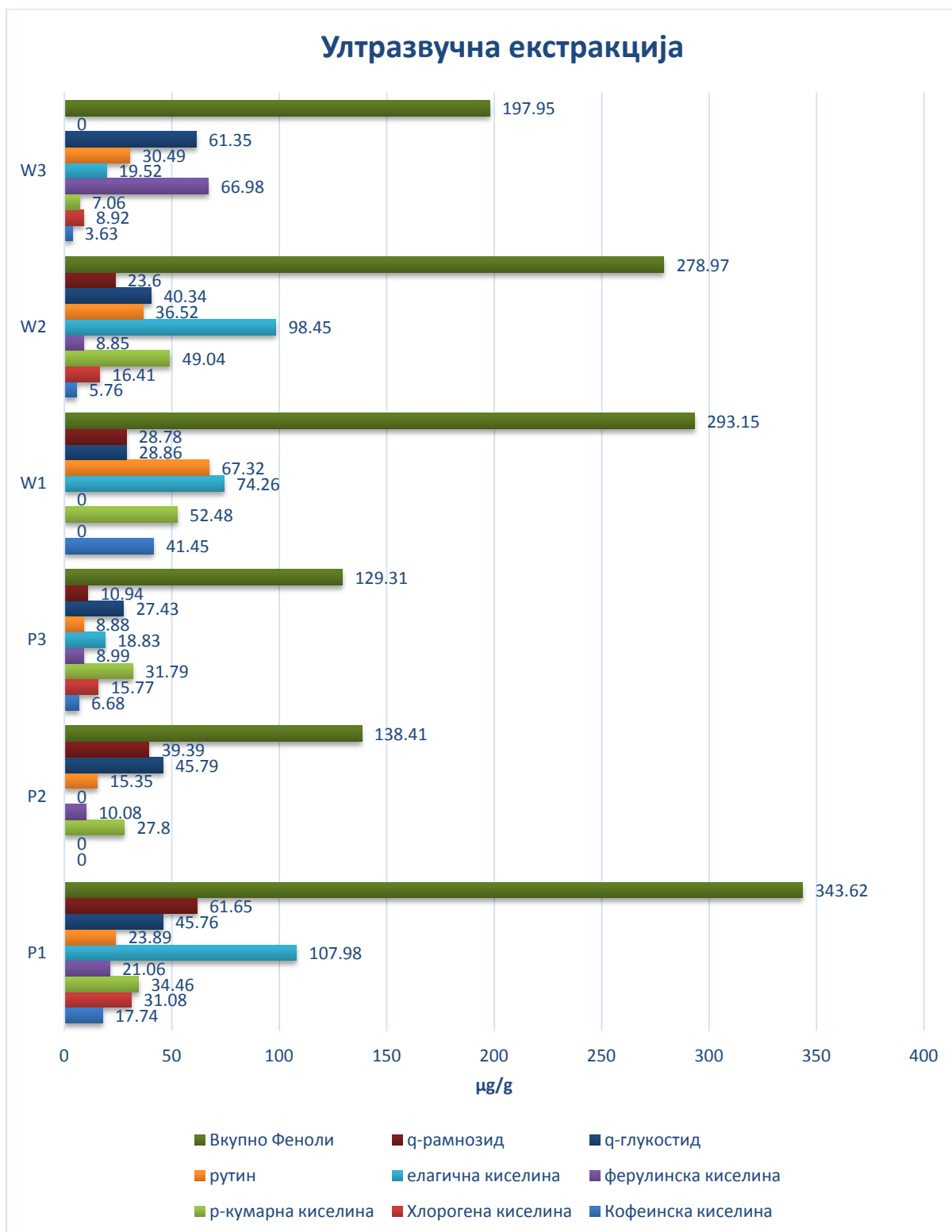
<i>Содржина на фенолни соединенија изразена во µg/g екстракт</i>										
		<i>КК</i>	<i>ХК</i>	<i>Р - КК</i>	<i>ФК</i>	<i>ЕК</i>	<i>Р</i>	<i>q - Г</i>	<i>q - Р</i>	<i>Вкупно</i>
<i>Ултразвучна екстракција</i>	P1	17,74	31,08	34,46	21,06	107,98	23,89	45,76	61,65	343,62
	P2	-	-	27,8	10,08	-	15,35	45,79	39,39	138,41
	P3	6,68	15,77	31,79	8,99	18,83	8,88	27,43	10,94	129,31
	W1	41,45	-	52,48	-	74,26	67,32	28,86	28,78	293,15
	W2	5,76	16,41	49,04	8,85	98,45	36,52	40,34	23,6	278,97
	W3	3,63	8,92	7,06	66,98	19,52	30,49	61,35	-	197,95
<i>Мацерација</i>	P1	4,42	43,91	37,61	10,1	39	15,47	46,54	16,7	213,75
	P2	14,78	22,44	40,8	18,03	19,02	17,07	44,67	26,1	202,91
	P3	3,37	21,72	51,53	10,55	17,53	14,63	41,09	6,98	167,4
	W1	-	46,4	121,66	29,93	41,47	54,13	34,39	75,97	403,95
	W2	23,06	106,33	59,69	35,55	52,82	41,28	66,61	58,25	443,59
	W3	-	37,84	108,44	5,68	37,63	-	35,56	-	225,15
<i>Сокслетова екстракција</i>	P1	17,83	82,04	43,36	9,21	104,09	21,03	30,27	-	307,83
	P2	38,69	-	38,28	12,66	41,66	29,33	35,54	41,58	237,74
	P3	14,03	49,67	54,56	11	66,21	26,59	45,47	50,92	318,45
	W1	15,91	-	62,96	12,49	56,69	42,56	51,37	164,21	406,19
	W2	3,75	82,49	8,28	-	92,61	38,67	49,63	56,48	331,91
	W3	19,98	63	24,76	11,63	107,15	31,95	66,48	-	324,95

Табела 9. Содржина на полифенолни соединенија во екстракти од сортите малини Primalba и Willamette

Извор: сопствено истражување – резултати во прилог Табела 14

Според Табела 9 може да се заклучи дека методот на екстракција има доста голема улога при одредувањето на поединечните, а со тоа и вкупните фенолни соединенија во сортите малини Primalba и Willamette.

Во следните неколку графикони се прикажани податоците добиени од анализираните примероци одделно по примерок, како и вкупните содржини на фенолни соединенија и нивните средни вредности кои се добиени со различни екстракциони методи. Како прв од испитуваните методи кој е претставен е методот на ултразвучна екстракција.



Графикон 3. Содржина на вкупни и поединечни фенолни соединенија во екстракти од плодовите на малина од сортите Primalba и Willamette добиени со ултразвучна екстракција

Извор: сопствено истражување – резултати во прилог Табела 14

Во Графикон 3 може да се забележат најзастапените соединенија во секоја од сортите поединечно, но и вкупниот број на соединенија кои се среќаваат кај одделна сорта. Согласно податоците презентирани во овој графикон, при постапката на ултразвучна екстракција вкупната количина на феноли во секој од примероците поединечно, може да се види дека сортата на малини Primalba кај првиот примерок има најголеми количини детектирани феноли со $343,62\mu\text{g/g}$, додека кај вториот примерок има $138,41\mu\text{g/g}$ и најмали количини има кај третиот примерок со $129,31\mu\text{g/g}$ што прави голема разлика помеѓу примероците. Кај сортата Willamette, пак, овие разлики не се толку големи, со тоа што во најголеми количини се јавуваат кај првиот примерок со $293,15\mu\text{g/g}$, кај вториот примерок се нешто пониски $278,97\mu\text{g/g}$ и кај третиот примерок се $197,95\mu\text{g/g}$.

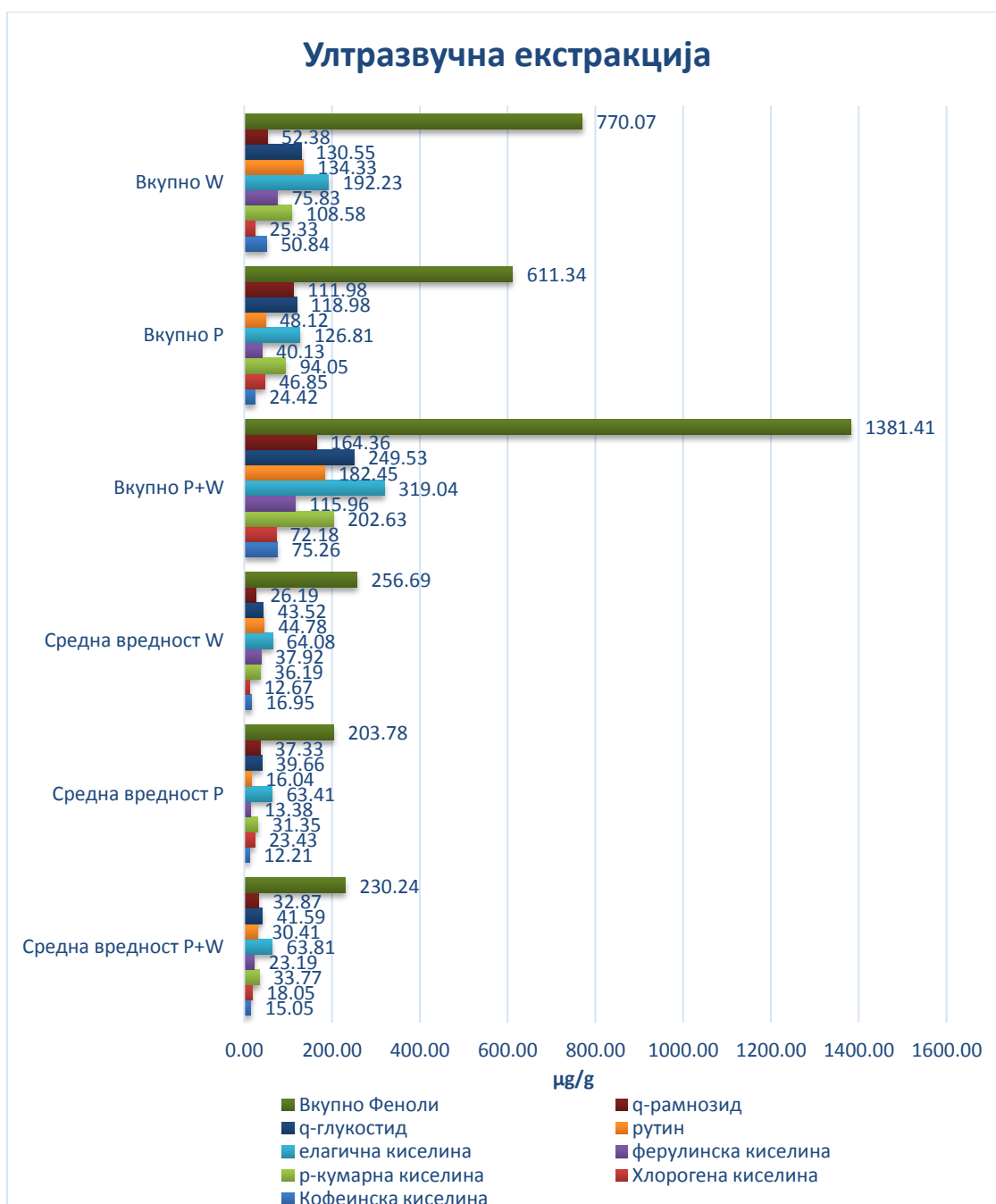
Следно, според податоците кои се презентирани, се заклучува дека при постапката на ултразвучна екстракција најзастапена е елагичната киселина која ја има во најголем број кај првиот примерок од сортата Primalba во количина од $107,98\mu\text{g/g}$, односно во вториот примерок од сортата Willamette со $98,45\mu\text{g/g}$, што сочинува и највисок процент од вкупниот број на фенолни соединенија присутни во сите испитувани примероци заедно, односно $319,04\mu\text{g/g}$ што всушност прави $23,10\%$ од нив.

Покрај неа, следно најзастапено фенолно соединение, добиено со постапката на ултразвучна екстракција е q-глукоцид кое во вкупната количина на примероци сочинува $249,53\mu\text{g/g}$ односно $18,06\%$. Интересен е податокот дека испитувано по одделни сорти на малина, q-глукоцид е второ најзастапено соединение кое сочинува $118,98\mu\text{g/g}$ од вкупната количина на феноли во сортата Primalba, каде е најзастапен во вториот испитуван примерок, со количина од $45,79\mu\text{g/g}$, што и не се разликува значително од првиот примерок, каде го има во количина од $45,76\mu\text{g/g}$. Во сортата Willamette, пак, q-глукоцидот се јавува како трето најзастапено фенолно соединение, со вкупно $130,55\mu\text{g/g}$ од кои највисока количина се среќава кај третиот испитуван примерок, каде се јавува со количина од $61,35\mu\text{g/g}$.

При користење на оваа постапка кај сортата Willamette второ најзастапено фенолно соединение е рутин чија вкупна количина кај трите испитувани примероци изнесува $134,33\mu\text{g/g}$, од кои најголема количина содржи првиот примерок со $(67,32\mu\text{g/g})$.

Она што е најкарактеристично за добиените податоци е тоа што одредени соединенија кај некои од примероците се среќаваат во значително високи количини, а во други примероци се застапени во многу помали количини или воопшто не се

присутни, дури и кај примероци од иста сорта на малини. Еден пример за тоа е присуството на ферулинска киселина, која кај сортата Willamette се среќава во 66,98 $\mu\text{g/g}$ во испитувањето на третиот примерок, кај вториот примерок од истата сорта е застапена со само 8,85 $\mu\text{g/g}$, а во првиот примерок воопшто не е детектирана.



Графикон 4. Содржина на вкупни и поединечни фенолни соединенија во екстракти од плодовите на малина од сортите Primalba и Willamette добиени со ултразвучна екстракција - збирно и средни вредности

Извор: сопствено истражување – резултати во прилог Табела 14

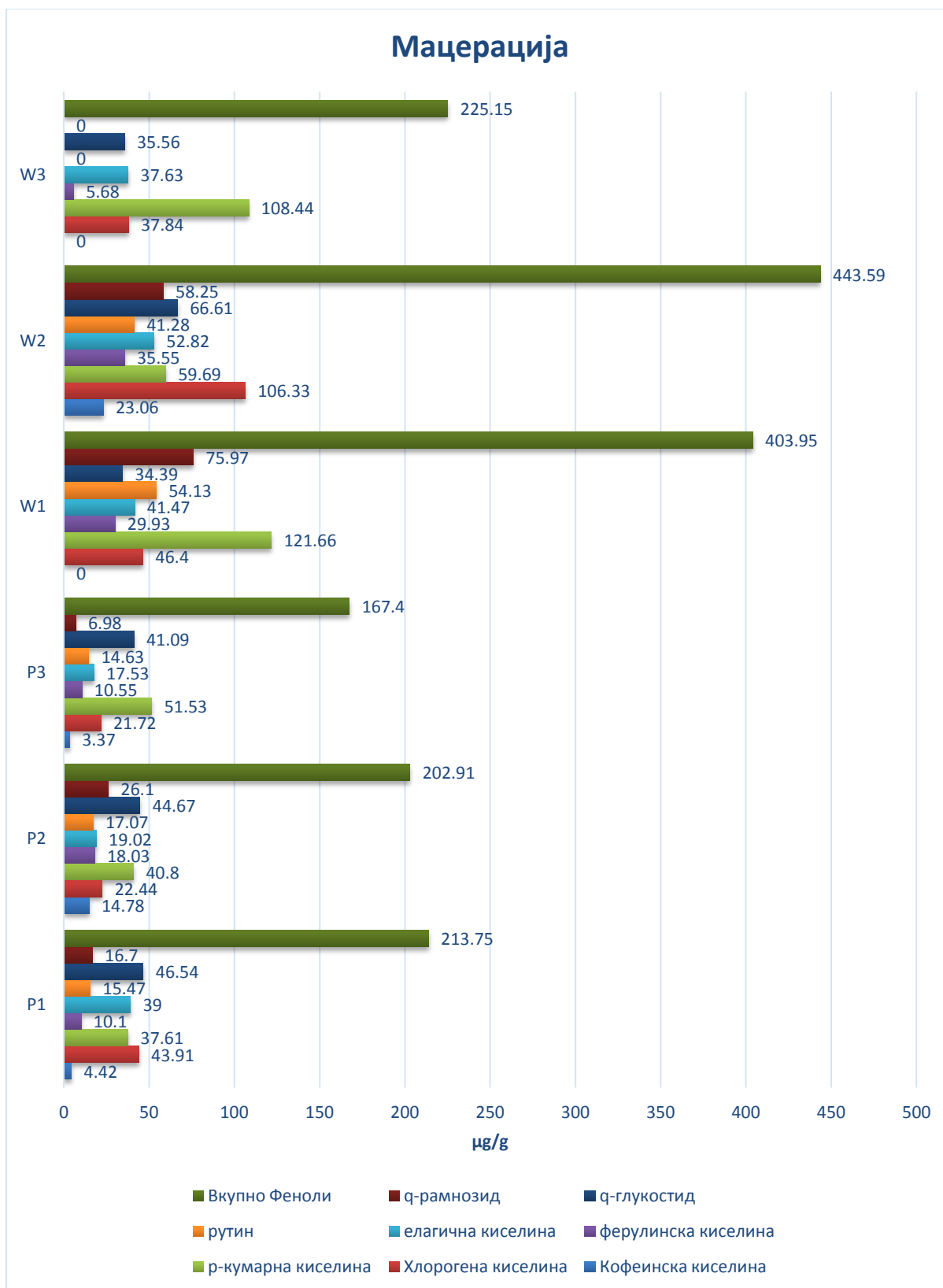
Во графикон 4 се графички презентирани податоците кои се добиени по одделно соединение во секој од анализираните примероци од двете сорти малина но и во вкупниот број на примероци за двете сорти малини збирно како и средните вредности добиени за нив.

Согласно добиените податоци претставени во графикон 4 се заклучува дека вкупниот број на феноли во сите примероци, добиени како збир од фенолите присутни во три примероци од сортата малина Primalba и три примероци од сортата малина Willamette е $1381,41\mu\text{g/g}$ од кои $770,07\mu\text{g/g}$ припаѓаат на сортата Willamette додека останатите $611,34\mu\text{g/g}$ припаѓаат на сортата Primalba. Помеѓу поединечните соединенија најзастапени кај вкупниот број на примероци е елагичната киселина со $319,04\mu\text{g/g}$ што прави $63,81\mu\text{g/g}$ средна вредност меѓу сите примероци.

Како втор најзастапен фенол се јавува q-глукозид со $249,53\mu\text{g/g}$ или $41,59\mu\text{g/g}$ средна вредност помеѓу сите примероци.

Покрај овие два се јавуваат и p-кумарна киселина со значителни количини од $202,63\mu\text{g/g}$ кои се во поголема количина застапени кај сортата Willamette со $108,58\mu\text{g/g}$, рутин со вкупна количина од $182,45\mu\text{g/g}$, q-рамнозид со вкупна количина од $164,36\mu\text{g/g}$ q-рамнозид од кои поголем дел односно $111,98\mu\text{g/g}$ q-рамнозид припаѓаат на сортата Primalba, ферулинска киселина со $115,96\mu\text{g/g}$, кофеинска киселина со $75,26\mu\text{g/g}$ и хлорогена киселина со $72,18\mu\text{g/g}$.

Во продолжение, на следните неколку графикони се прикажани податоците добиени со користење на методот на мацерација.



Графикон 5. Содржина на вкупни и поединечни фенолни соединенија во екстракти од плодовите на малина од сортите Primalba и Willamette добиени со мацерација

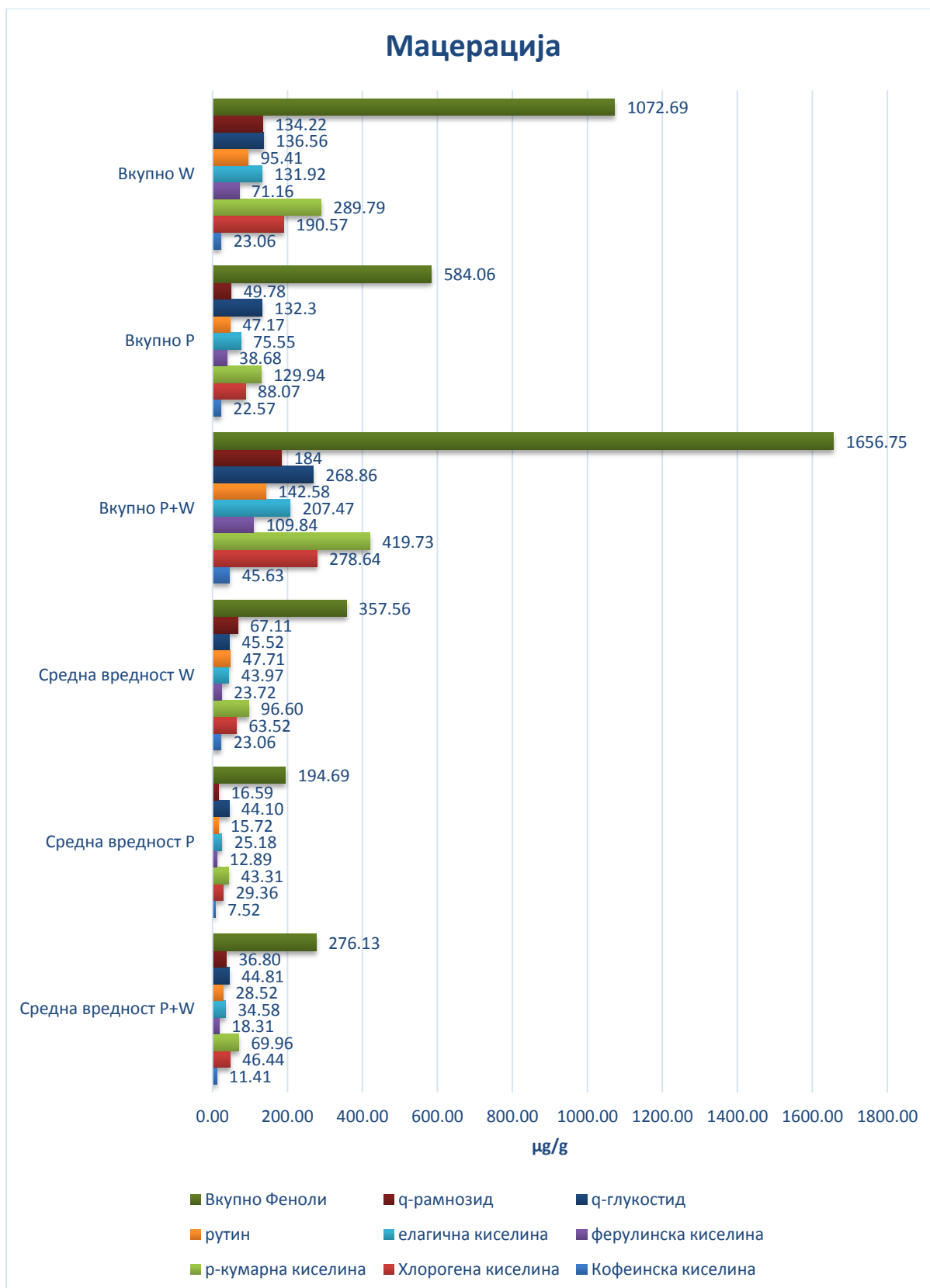
Извор: сопствено истражување – резултати во прилог Табела 14

Од Графикон 5 може да се забележат најзастапените соединенија во секоја од сортите поединечно, но и вкупниот број на соединенија кои се среќаваат кај одделна сорта, испитувани со методот на мацерација.

Податокот кој може да се извлече од Графиконот 5 е тоа што кај сортата на малини Willamette во секој од примероците има значително повисоки количини на вкупно детектирани феноли во однос на сортата Primalba. Со најголеми количини од 443,59 $\mu\text{g/g}$ се карактеризира вториот примерок од оваа сорта, каде е и најзастапена хлорогената киселина со 106,33 $\mu\text{g/g}$, за потоа да следи првиот примерок со 403,95 $\mu\text{g/g}$, во кој што е најзастапена p-кумарна киселина со 121,66 $\mu\text{g/g}$, за на крај од оваа сорта да е третиот примерок со 225,15 $\mu\text{g/g}$ каде што е најзастапена p-кумарна киселина со 108,44 $\mu\text{g/g}$. Во сортата Primalba, пак, вкупните количини се пониски од овие со тоа што највисоки количини има првиот примерок, каде вкупните количини се 213,75 $\mu\text{g/g}$ и најзастапен е q-глукозид со 46,54 $\mu\text{g/g}$, за потоа да следи вториот примерок со 202,91 $\mu\text{g/g}$ каде што најзастапен исто е q-глукозид со 44,67 $\mu\text{g/g}$ и на крај е третиот примерок кој има 167,4 $\mu\text{g/g}$ вкупни феноли, што е значително понизок број од претходните, особено од сортата Willamette, каде најзастапена е p-кумарна киселина со 51,53 $\mu\text{g/g}$.

Забележително во овој случај е што одредени соединенија во некои примероци се среќаваат во значително високи количини, а во други примероци се застапени во многу помали количини или воопшто не се присутни, а тоа се случува во иста сорта на малина, а тоа се гледа од податоците добиени со метод на ултразвучна екстракција. Во случајот е пример присуството на q-рамнозид кој кај сортата Willamette се среќава во 75,97 $\mu\text{g/g}$ во испитувањето на првиот примерок, додека пак, кај третиот примерок воопшто не е детектиран.

Во следниот Графикон 6, графички се презентирани податоците кои се добиени по одделно соединение во секој од анализираните примероци од двете сорти малина, но и во вкупниот број на примероци за двете сорти малини збирно, како и средните вредности добиени за нив.



Графикон 6. Содржина на вкупни и поединечни фенолни соединенија во екстракти од плодовите на малина од сортите Primalba и Willamette добиени со мацерација - збирно и средни вредности

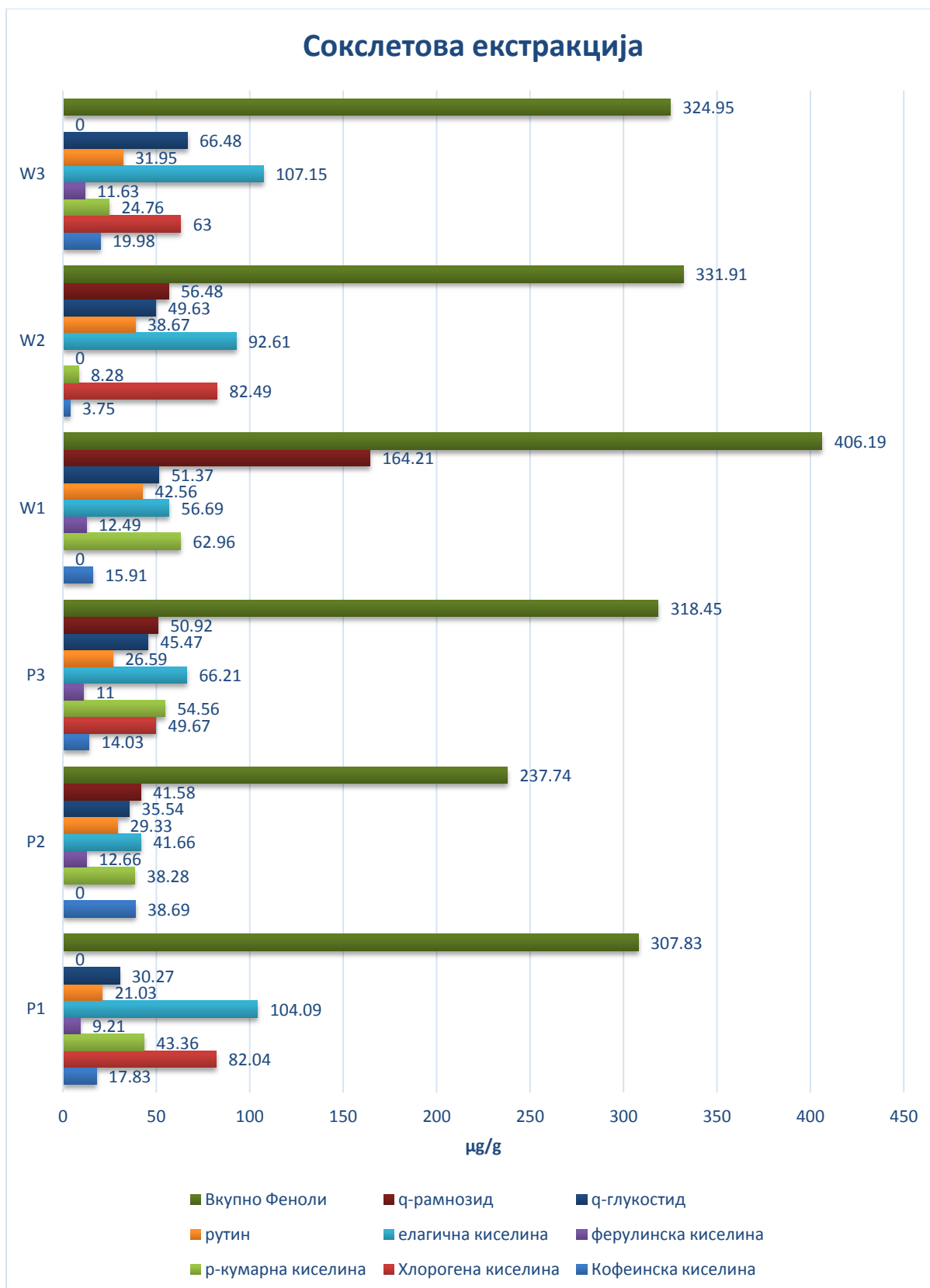
Извор: сопствено истражување – резултати во прилог Табела 14

Од графикон 6 се заклучува дека вкупниот број на феноли во сите примероци, односно добиени како збир од фенолите кои се среќаваат кај сите три примероци од сортата малина Primalba и три примероци од сортата малина Willamette е 1656,75 $\mu\text{g/g}$, што е значително повисок број од вкупниот број на феноли добиени со постапката на ултразвучна екстракција, од кои 1072,69 $\mu\text{g/g}$ се на сортата Willamette додека останатите 584,06 $\mu\text{g/g}$ се на сортата Primalba. Помеѓу поединечните соединенија најзастапени кај вкупниот број на примероци е *p*-кумарна киселина со 419,73 $\mu\text{g/g}$ што прави 69,96 $\mu\text{g/g}$ средна вредност меѓу сите примероци.

Како втор најзастапен фенол се јавува хлорогената киселина со значителни количини од 278,64 $\mu\text{g/g}$ кои се повеќе застапени кај сортата Willamette со 190,57 $\mu\text{g/g}$ или 46,44 $\mu\text{g/g}$ средна вредност помеѓу сите примероци.

Покрај овие два се јавуваат и *q*-глюкостид со 268,86 $\mu\text{g/g}$, кои се во поголема количина застапени кај сортата Willamette со 136,56 $\mu\text{g/g}$, елагична киселина со вкупна количина од 207,47 $\mu\text{g/g}$ од кои 131,92 $\mu\text{g/g}$ се кај сортата Willamette, *q*-рамнозид со вкупно 184 $\mu\text{g/g}$ од кои поголем дел, односно 134,22 $\mu\text{g/g}$ припаѓаат на сортата Willamette, рутин со 142,58 $\mu\text{g/g}$, ферулинска киселина со 109,84 $\mu\text{g/g}$ и кофеинска киселина со 45,63 $\mu\text{g/g}$.

Во следните графикони 7 и 8 се прикажани податоците добиени со користење на методот на Сокслетова екстракција.



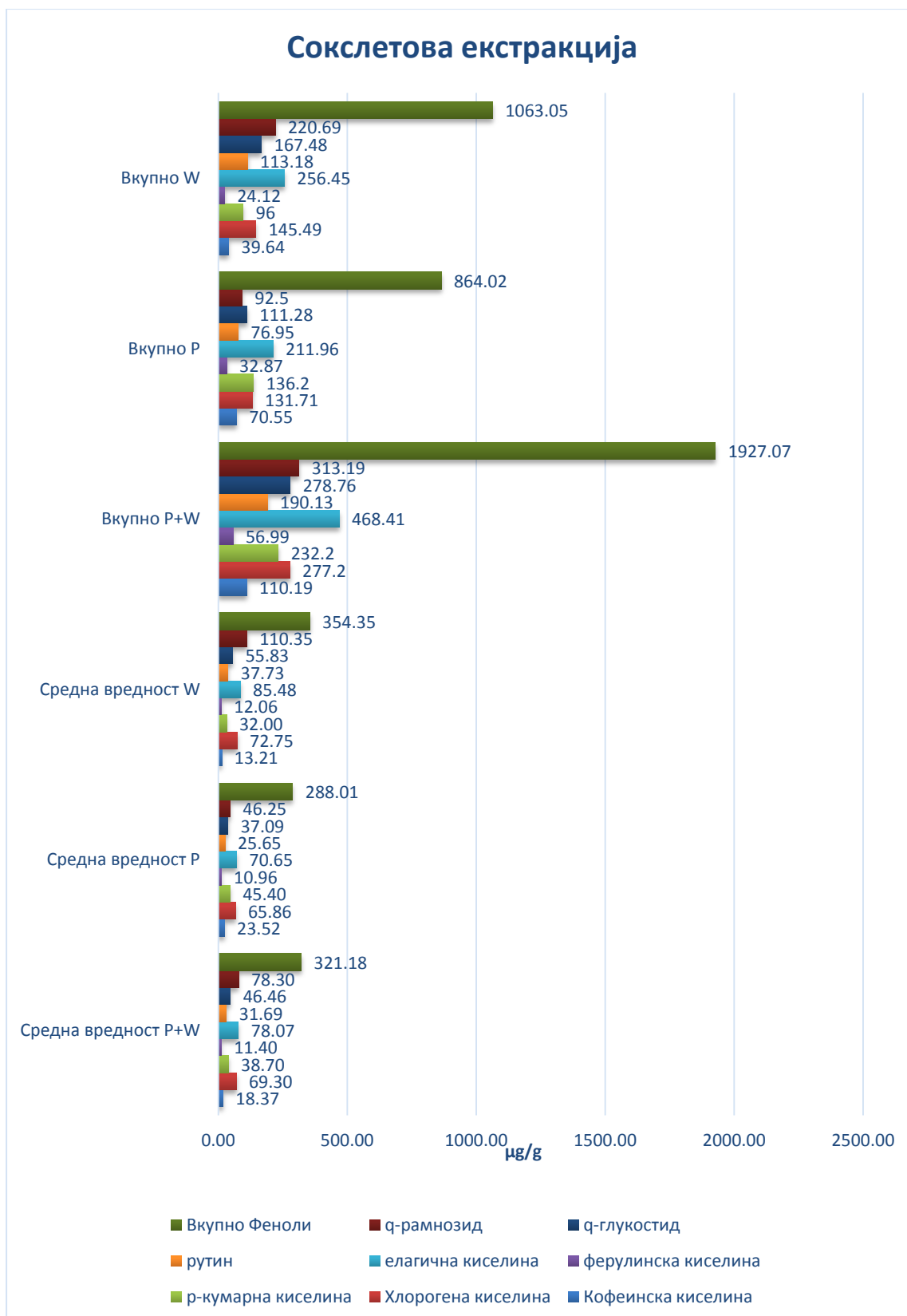
Графикон 7. Содржина на вкупни и поединечни фенолни соединенија во екстракти од плодовите на малина од сортите Primalba и Willamette добиени со Соклетова екстракција

Извор: сопствено истражување – резултати во прилог Табела 14

Од овој Графикон 7 може да се забележат најзастапените соединенија во секоја од сортите поединечно, но и вкупниот број на соединенија кои се среќаваат кај одделна сорта испитувани со методот на мацерација.

И во овој случај, како и при претходните две методи кои се користени, забележително е тоа што одредени соединенија кај некои од примероците се среќаваат во значително високи количини, во други примероци се застапени во многу помали количини или воопшто не се присутни, дури и кај примероци од иста сорта на малини што исто беше случај и кај податоците добиени со метод на ултразвучна екстракција. Во овој случај, еден пример за тоа е присуството на q-рамнозид, кој кај сортата Willamette се среќава во 164,21µg/g во испитувањето на првиот примерок, додека пак кај третиот примерок воопшто не е детектиран, исто како кај првиот примерок од сортата Primalba. Уште нешто кое е карактеристично за овој графикон е дека вкупните количини на феноли по примерок се забележително повисоки во споредба со податоците добиени од другите два користени методи. Исто така во овој случај скоро и да нема големи разлики во добиените вкупни фенолни соединенија кои се содржани во примероците. Сепак, од вкупната количина на феноли во секој од примероците поединечно, може да се види дека во секој од примероците од сортата на малини Willamette има значително повисоки количини на вкупно детектирани феноли, со најголеми количини од 406,17µg/g кај првиот примерок, каде е и најзастапен q-рамнозид со 165,21µg/g, за потоа да следи вториот примерок со 331,91µg/g во кој што е истовремено и најзастапена елагичната киселина со 92,61µg/g, за на крај од оваа сорта да е третиот примерок со 324,95µg/g каде што е најзастапена елагичната киселина со 107,15 µg/g. Во сортата Primalba, пак, вкупните количини се пониски од овие, со тоа што највисоки количини има третиот примерок каде вкупните количини се 318,45µg/g и најзастапена е елагичната киселина со 66,21 µg/g, потоа следи првиот примерок со 307,83µg/g каде што исто така е најзастапена елагичната киселина со 104,09µg/g и на крај е вториот примерок кој има 237,74µg/g вкупни феноли што е значително понизок број од претходните, особено од сортата Willamette, каде што е најзастапена елагичната киселина со 41,66 µg/g.

Во следниот Графикон 8, графички се презентирани податоците што се добиени по одделно соединение во секој од анализираните примероци од двете сорти малини, но и во вкупниот број на примероци за двете сорти малини збирно како и средните вредности добиени за нив.



Графикон 8. Содржина на вкупни и поединечни фенолни соединенија во екстракти од плодовите на малина од сортите Primalba и Willamette добиени со Соклетова екстракција - збирно и средни вредности

Извор: сопствено истражување – резултати во прилог Табела 1

Од овој Графикон 8 се заклучува дека вкупната содржина на феноли во сите примероци, односно во три примероци од сортата малина Primalba и три примероци од сортата малина Willamette, изнесува $1927,07\mu\text{g/g}$, што е значително повисока во споредба со вкупната содржина на феноли добиени со постапките на ултразвучна екстракција и мацерација, од кои $1063,05\mu\text{g/g}$ содржи сортата Willamette, додека останатите $864,02\mu\text{g/g}$ ѝ припаѓаат на сортата Primalba. Во однос на поединечните соединенија најзастапена во вкупниот број на примероци е елагичната киселина ($468,41\mu\text{g/g}$) што прави $78,07\mu\text{g/g}$ средна вредност меѓу сите примероци.

Како втора фенолна компонента по застапеност е *q*-рамнозид, со значителни количини од $313,19\mu\text{g/g}$ кои се во поголема количина застапени кај сортата Willamette со $220,69\mu\text{g/g}$ или $78,30\mu\text{g/g}$ средна вредност помеѓу сите примероци.

Покрај овие два се јавуваат и *q*-глукозид со $278,76\mu\text{g/g}$ кои се во поголема количина застапени кај сортата Willamette со $167,48\mu\text{g/g}$, хлорогена киселина со вкупна количина од $277,2\mu\text{g/g}$ од кои $145,49\mu\text{g/g}$ се кај сортата Willamette, *p*-кумарна киселина со вкупно $232,2\mu\text{g/g}$ од кои поголем дел односно $136,2\mu\text{g/g}$ припаѓаат на сортата Primalba, рутин со $190,13\mu\text{g/g}$, кофеинска киселина со $110,19\mu\text{g/g}$ и ферулинска киселина со $56,99\mu\text{g/g}$.

5.3. БИОХЕМИСКА АКТИВНОСТ НА ЕКСТРАКТИТЕ ОД СОРТИТЕ МАЛИНА PRIMALBA И WILLAMETTE

Биохемиската активност на добиените екстракти од сортите малина Primalba и Willamette вклучува *in vitro* тестови на антиоксидативен капацитет, антибактериска активност и цитотоксична активност.

5.3.1. Антиоксидативен капацитет на екстрактите од сортите малина Primalba и Willamette

За одредување на антиоксидативниот капацитет на екстрактите од испитуваните сорти малина Primalba и Willamette користени се пет тестови засновани на различни механизми на манифестација на антиоксидативна активност со користење на три различни методи на екстракција, ултразвучна екстракција, мацерација и сокслетова екстракција. Антиоксидативниот потенцијал на тестираните екстракти е одреден со помош на следниве тестови:

- вкупна антиоксидативна активност,
- антиоксидативна активност на ниво на инхибиција на липидната пероксидација,
- антиоксидативна активност на ниво на хидроксилни радикали,
- антиоксидативна активност со DPPH тест и
- антиоксидативна активност со ABTS тест.

Добиените антиоксидативни анализи се прикажани во следната Табела 10.

Примероци	BAK ($\mu\text{gAA/g}$)	ИАЛП $^a\text{IC}_{50}$ ($\mu\text{g/mL}$)	AAXP $^a\text{IC}_{50}$ ($\mu\text{g/mL}$)	AA со DPPH $^a\text{IC}_{50}$ ($\mu\text{g/mL}$)	AA со ABTS
P1	9,78 \pm 0,34	16,45 \pm 0,70	14,37 \pm 0,29	23,38 \pm 0,63	30,41 \pm 0,23
P1 Mac	8,23 \pm 0,52	17,48 \pm 0,23	17,85 \pm 0,90	25,63 \pm 0,71	36,14 \pm 0,53
P1 Sox	7,70 \pm 0,53	19,59 \pm 0,50	18,79 \pm 0,66	34,59 \pm 0,53	39,21 \pm 0,99
P2	9,88 \pm 0,46	10,45 \pm 0,32	21,41 \pm 0,44	32,46 \pm 0,42	33,40 \pm 0,63
P2 Mac	3,67 \pm 0,89	12,68 \pm 0,87	23,70 \pm 0,23	35,39 \pm 0,98	36,15 \pm 0,29
P2 Sox	7,90 \pm 0,46	18,29 \pm 0,99	35,65 \pm 0,87	37,38 \pm 0,12	37,84 \pm 0,56
P3	6,61 \pm 0,87	15,89 \pm 0,09	30,42 \pm 0,12	27,29 \pm 0,30	36,70 \pm 0,23
P3 Mac	8,73 \pm 0,82	19,54 \pm 0,22	36,94 \pm 0,79	34,67 \pm 0,51	37,48 \pm 0,85
P3 Sox	6,72 \pm 0,66	23,45 \pm 0,76	37,82 \pm 0,25	35,34 \pm 0,36	39,97 \pm 0,76
W1	8,69 \pm 0,29	17,39 \pm 0,59	20,68 \pm 0,10	32,41 \pm 0,49	36,46 \pm 0,95

<i>W1 Mac</i>	7,57±0,51	19,69±0,51	32,58±0,26	34,67±0,50	38,58±0,36
<i>W1 Sox</i>	5,86±0,74	21,63±0,30	34,56±0,82	36,44±0,90	39,85±0,84
<i>W2</i>	4,63±0,77	16,82±0,81	25,79±0,80	33,23±0,41	34,94±0,61
<i>W2 Mac</i>	9,23±0,62	18,28±0,77	28,59±0,52	35,40±0,27	36,56±0,84
<i>W2 Sox</i>	6,48±0,78	19,98±0,91	31,60±0,12	37,66±0,24	39,34±0,96
<i>W3</i>	7,73±0,72	17,71±0,24	25,21±0,51	34,49±0,64	32,96±0,34
<i>W3 Mac</i>	9,58±0,52	19,74±0,10	26,84±0,79	35,96±0,17	35,55±0,87
<i>W3 Sox</i>	3,23±0,45	21,82±0,38	28,51±0,62	39,65±0,50	38,76±0,69
<i>Употребени стандарди</i>					
<i>Галска киселина</i>	-	255.43±11.68	59.14±1.10	3.79±0.69	-
<i>Аскорбинска киселина</i>	-	> 1000	160.55±2.31	6.05±0.34	-
<i>ВНТ</i>	-	1.00±0.23	33.92±0.79	15.61±1.26	-
<i>α- токоферол</i>	-	0.48±0.05	-	-	-

Табела 10. Антиоксидативен капацитет на испитуваните примероци од сортите малина Primalba и Willamette

Кратенки во табела 10: Вкупен антиоксидативен капацитет ($\mu\text{gAA/g}$) – ВАК ($\mu\text{gAA/g}$); Инхибиторна активност на ниво на липидна пероксидација $^{\circ}\text{IC}_{50}$ ($\mu\text{g/mL}$) – ИАЛП $^{\circ}\text{IC}_{50}$ ($\mu\text{g/mL}$); Антиоксидативна активност на ниво на хидроксилини радикали $^{\circ}\text{IC}_{50}$ ($\mu\text{g/mL}$)- ААХР $^{\circ}\text{IC}_{50}$ ($\mu\text{g/mL}$); Антиоксидативна активност со DPPH $^{\circ}\text{IC}_{50}$ ($\mu\text{g/mL}$) – АА со DPPH $^{\circ}\text{IC}_{50}$ ($\mu\text{g/mL}$); Антиоксидативна активност со ABTS – АА со ABTS.

Во поглед на одредувањето на вкупната антиоксидативна активност, резултатите се изразени во микрограми (μg) аскорбинска киселина (АА) на грам (g) сув екстракт. Од податоците презентирани во Табела 10 се заклучува дека највисоки вредности на вкупен антиоксидативен капацитет по примерок одделно се добиени кај вториот примерок испитуван со метод на ултразвучна екстракција од сортата Primalba ($9,88\pm 0,46 \mu\text{g AA/g}$) за по него, со незначително пониски вредности, да следат вредностите на првиот примерок од сортата Primalba, кој е исто така испитуван со метод на ултразвучна екстракција ($9,78\pm 0,34 \mu\text{g AA/g}$). Следни според вредностите на вкупен антиоксидативен капацитет се третиот ($9,58\pm 0,52 \mu\text{g AA/g}$), односно вториот примерок ($9,23\pm 0,62 \mu\text{g AA/g}$) од сортата Willamette кој е испитуван со метод на мацерација. Резултатите добиени со метод на Сокслетова екстракција покажуваат најниски вредности и за двете сорти на малини кои се испитувани. Од ова може да се

заклучи дека вредностите кои се добиени со конвенционални методи се разликуваат од оние кои се добиени со неконвенционалниот метод, при што може да се каже дека варијациите во резултатите се должат на тоа кој метод е користен при екстракција, односно утврдените разлики се должат на различните видови на хемиски реакции до коишто доаѓа при изведување на самата анализа, но и поради различните реакциони механизми на антиоксидативниот капацитет. Одредени испитувања докажале дека постои поврзаност помеѓу користениот метод на екстракција, односно помеѓу тоа што различни екстракциони методи влијаат на ист состав на екстрактот, а со тоа и на антиоксидативната активност .

Резултатите од анализата на антиоксидативното дејство на испитуваните екстракти на ниво на инхибиторна активност на липидна пероксидација $^aIC_{50}$, антиоксидативна активност на ниво на хидроксилни радикали $^aIC_{50}$ и антиоксидативна активност со DPPH $^aIC_{50}$, се изразени како концентрација на тестираното соединение ($\mu\text{g/mL}$) која ја намалува почетната концентрација на видовите слободни радикали за 50%.

Пониската вредност на инхибиторна активност на ниво на липидна пероксидација укажува на поголема или подобра способност да го инхибира штетниот процес на липидна пероксидација во клетките. Врз основа на резултатите од антиоксидативната активност утврдена на ниво на инхибиција на липидната пероксидација на анализираните екстракти, може да се заклучи дека екстрактот добиен со ултразвучна екстракција поседува најголема моќ на инхибиција на липидната пероксидација која се движи од $10,45 \pm 0,32 \mu\text{g/mL}$ кај вториот примерок од сортата Primalba, па се до $17,71 \pm 0,71 \mu\text{g/mL}$ кај третиот примерок од сортата Willamette. Следни по активност се резултатите добиени со постапката на мацерација кои се движат од $12,68 \pm 0,87 \mu\text{g/mL}$ кај вториот примерок од сортата Primalba до $19,74 \pm 0,10 \mu\text{g/mL}$ кај третиот примерок од сортата Willamette. Најмала антиоксидативна активност на ниво на инхибиторна активност на липидна пероксидација, покажуваат резултатите добиени со Сокслетова екстракција кои се движат од $18,29 \pm 0,99 \mu\text{g/mL}$ кај вториот примерок добиен од сортата Primalba, се до $23,45 \pm 0,76 \mu\text{g/mL}$ кај третиот примерок од сортата Primalba. Сите анализирани екстракти покажуваат висока способност да ја инхибираат липидната пероксидација. Високиот антиоксидативен потенцијал на овие екстракти е во корелација со содржината на феноли во тестираните екстракти.

Исто така, во истражувањата на оваа докторска дисертација, антиоксидативната активност на анализираните екстракти од сортите малина Primalba и Willamette е

споредена и со синтетичките антиоксиданти: галска киселина, аскорбинска киселина, ВНТ и α -токоферол, при што беше забележано дека растителните екстракти покажуваат повисок степен на инхибиција на липидната пероксидација (пониски вредности на ICP_{50}) во споредба со галската киселина и аскорбинската киселина, како и значително послаба активност во споредба со ВНТ и α -токоферол. Способноста на полифенолите да навлезат во клеточниот липиден двослој е несомнено од клучна важност за заштита од оксидација. За полифенолите кои делуваат во неполарниот регион на липидниот двослој од клеточните мембрани, откриено е дека можат да го инхибираат ширењето на оксидацијата на липидите со помош на два механизми кои го дезорганизираат и го попречуваат ширењето на радикалите. Според истражувањата на други автори, антиоксидативниот капацитет на поларните соединенијата кои ја инхибираат оксидацијата на липидите во храната, е по следниот редослед: ферулинска киселина > кумарна киселина > пропил галат > галска киселина > аскорбинска киселина, додека пак редоследот на неполарните соединенија е следниот: розмаринска киселина > бутилиран хидрокситолуен > терц-бутилхидрохинон > алфа-токоферол.

Пониската антиоксидативна активност на ниво на хидроксилни радикали, покажува дека тестираното соединение има подобра способност да ги неутрализира хидроксилните радикали. Добиените резултати покажуваат дека вредностите на анализираните екстракти добиени со ултразвучна екстракција од сортите малина Primalba и Willamette се движат од $14,37 \pm 0,29 \mu\text{g/mL}$ за екстрактот од првиот примерок од сортата Primalba до $30,42 \pm 0,12 \mu\text{g/mL}$ за екстрактот од третиот примерок од сортата Primalba.

Антиоксидативната активност на екстрактите добиени со мацерација се движат од $17,85 \pm 0,90 \mu\text{g/mL}$ кај првиот примерок од сортата Primalba до $36,94 \pm 0,79 \mu\text{g/mL}$ кај третиот примерок од сортата Primalba.

Кај екстрактите добиени со Сокслетова екстракција, вредностите на антиоксидативната активност се движат од $18,79 \pm 0,66 \mu\text{g/mL}$ кај првиот примерок од сортата Primalba до $37,82 \pm 0,25 \mu\text{g/mL}$ за екстрактот добиен од третиот примерок од сортата Primalba. Во споредба со синтетичките антиоксиданти, галска киселина и аскорбинска киселина, овие екстракти покажуваат поголема способност за неутрализирање на хидроксилните радикали кај сите примероци, додека пак во споредба со ВНТ покажуваат помала активност само кај одредени примероци од секоја од користените методи на екстракција.

Пониската вредност од анализата на антиоксидативна активност со DPPH анализа покажува дека испитуваното соединение има подобра способност да ги неутрализира радикалите на DPPH и на тој начин антиоксидативната активност на соединението е поголема. Добиените резултати покажуваат дека вредностите на антиоксидативна активност со DPPH анализа на анализирани екстракти добиени со ултразвучна екстракција се движат од $23,38 \pm 0,63 \mu\text{g/mL}$ кај првиот примерок од сортата Primalba до $34,49 \pm 0,64 \mu\text{g/mL}$ за екстрактот од третиот примерок од сортата Willamette. Антиоксидативната активност на екстрактите добиени со мацерација се движи од $25,63 \pm 0,71 \mu\text{g/mL}$ кај првиот примерок од сортата Primalba до $35,96 \pm 0,17 \mu\text{g/mL}$ за екстрактот добиен од третиот примерок од сортата Willamette. Кај екстрактите добиени со Сокслетова екстракција антиоксидативната активност се движи од $34,59 \pm 0,53 \mu\text{g/mL}$ кај првиот примерок од сортата Primalba до $39,65 \pm 0,50 \mu\text{g/mL}$ кај третиот примерок од сортата Willamette. Современите методи на екстракција покажуваат многу посилна способност да ги неутрализираат радикалите DPPH. Вредностите на екстрактите добиени со конвенционални методи се значително повисоки. Исто така, може да се заклучи дека активноста на DPPH има послаба активност од синтетичките антиоксидати, ВНТ, аскорбинска и галска киселина и α -токоферол.

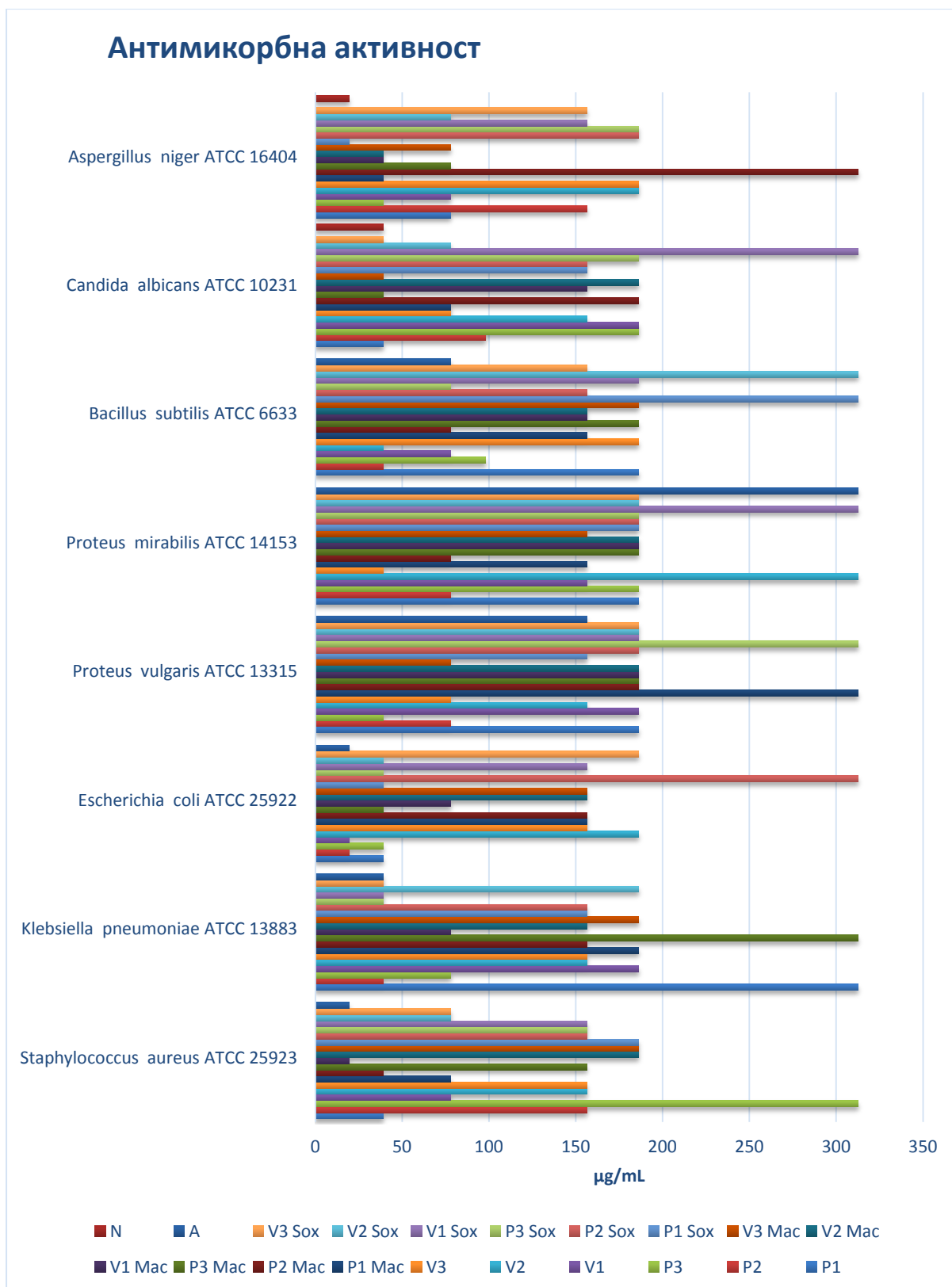
Ако тестот за антиоксидативна активност ABTS даде помала вредност, тоа обично укажува на помала антиоксидативна активност во супстанцијата што се тестира. Антиоксидатите играат клучна улога во неутрализирање на штетните слободни радикали во телото, кои можат да предизвикаат оксидативен стрес и да ги оштетат клетките. Затоа, пониските вредности од анализата на антиоксидативна активност со ABTS може да сугерираат дека супстанцијата има послаби антиоксидативни својства, што потенцијално би можело да биде помалку ефикасно во борбата против оксидативниот стрес и неговите поврзани ризици по здравјето. Во испитуваните примероци, добиените резултати се движат од $30,41 \pm 0,23 \mu\text{g/mL}$ кај првиот примерок од сортата Primalba до $36,70 \pm 0,23 \mu\text{g/mL}$ за екстрактот добиен од третиот примерок од сортата Primalba добиени со ултразвучна екстракција, додека пак кај екстрактите добиени со мацерација резултатите се движат од $25,63 \pm 0,71 \mu\text{g/mL}$ кај првиот примерок од сортата Primalba, до $35,96 \pm 0,17 \mu\text{g/mL}$ за екстрактот добиен од третиот примерок од сортата Willamette. И, на крај, кај екстрактите добиени со Сокслетова екстракција резултатите се движат од $34,59 \pm 0,53 \mu\text{g/mL}$ кај првиот примерок од сортата Primalba, до $39,65 \pm 0,50 \mu\text{g/mL}$ за екстрактот добиен од третиот примерок од сортата Willamette.

5.3.2. Антимикробна активност на екстрактите од сортите малина Primalba и Willamette

Антимикробната активност на добиените екстракти од испитуваните сорти малина беше анализирана со методот на микроразредување. Беа направени тестови на 8 соеви на различни видови бактерии и габи. Користени беа следните соеви *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Candida albicans* ATCC 1023, *Aspergillus niger* ATCC 16404, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 13883, *Proteus vulgaris* ATCC 13315, *Proteus mirabilis* ATCC 14153.

Добиените резултати од анализата на антимикробната активност на анализираните растителни екстракти се изразени преку минималната инхибиторна концентрација (MIC), што претставува најмала концентрација на соединението што може да го инхибира растот на микроорганизмите. MIC се изразува во $\mu\text{g/mL}$. Во анализата, за споредба на антимикробната активност на добиените екстракти, беа користени референтните антибиотици амрацин (A) и антибиотикот користен во рамките на истражувањето (N) .

На следниот графикон (Графикон 9) прикажани се резултатите од антимикробната активност на екстракти од три примероци од сортите малина Primalba и Willamette, добиени со различни екстракциони методи.



Графикон 9. Антимикробна активност на екстракти од сортите малина Primalba и Willamette

Извор: сопствено истражување – резултати во прилог Табела 13.

Од податоците презентирани во Графикон 9 може да се заклучи дека екстрактите добиени со различни екстракциони техники покажуваат различни ефекти кои се манифестираат во анализираните соеви микроорганизми. Овие разлики, како и претходните во однос на антиоксидативниот капацитет, се должат на разликите во хемискиот профил на екстрактите добиени со различни техники на екстракција. Генерално, можеме да забележиме дека екстрактите добиени со современи техники на екстракција покажуваат подобра антимикуробна активност во споредба со екстрактите добиени со класични, конвенционални методи, при што екстрактите добиени со техниката на екстракција со ултразвук покажуваат највисока антимикуробна активност кон сите анализирани соеви на микроорганизми.

Уште нешто што е карактеристично за добиените резултати тоа се значајните разлики меѓу резултатите добиени со ист екстракционен метод од истата сорта малина, но од различен примерок. Еден пример за ова е антимикуробната активност на екстрактот добиен со ултразвучна екстракција во однос на *Staphylococcus aureus* која изнесува 39,1µg/mL кај првиот примерок од сортата Primalba, до 312,5µg/mL кај третиот примерок од сортата Primalba.

Резултатите од тестот покажуваат дека екстрактите добиени со техниката на екстракција со ултразвук покажуваат најголема антимикуробна активност кај првиот примерок од сортата Willamete (19,53µg/mL). Иста антимикуробна вредност е утврдена и за вториот примерок од сортата Primalba, но во однос на бактеријата *Escherichia coli*.

Кога станува збор за резултатите добиени со методот на мацерација најголема антимикуробна активност е утврдена кај првиот примерок од сортата Willamette (19,53 µg/mL) во однос на *Staphylococcus aureus*.

При анализа на антимикуробната активност на екстрактите добиени со методот на соклетова екстракција може да се забележи дека имаа послаба активност, чија највисока вредност е утврдена кај екстрактот од првиот примерок од сортата Primalba со 19,53µg/mL во однос на *Aspergillus niger*.

5.3.3. Цитотоксична активност на екстрактите од сортите малина Primalba и Willamette

Цитотоксична активност на испитуваните екстракти од сортите малина Primalba и Willamette беше анализирана на следните четири клеточни линии:

- Hep2c клетки (клеточна линија на човечки карцином на грлото на матката),

- RD клетки (човечка клеточна линија добиена од човечки рабдомиосарком),
- L2OB клетки (клеточни линии добиени од фибробласти на глушец) и
- L929 клетки (нормално поткожно ареоларно масно ткиво).

Добиените резултати се изразени преку IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$) вредности. Како критериум за многу добра цитотоксична активност, беше земен критериумот на Американскиот национален институт за малигни заболувања (*NCI*), кој за цитотоксична активност за растителни екстракти е $IC_{50} < 30 \mu\text{g/mL}$ (Itharat A., Houghton P.J., Eno-Amoquaye E., Burke P.J. Sampson J.H. Raman A., 2004). Во рамките на испитувањето беше користен *Cis-diamminedichloroplatinum* (*Cis-DDP*), како референтно соединение за определување.

Примероци	IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)			
	<i>Hep2c cells</i>	<i>RD cells</i>	<i>L2OB cells</i>	<i>L929 cells</i>
<i>P1</i>	25,37±0,09	20,43±0,88	18,38±0,18	59,55 ± 0,82
<i>P2</i>	39,36±0,82	28,53±0,34	25,81±0,71	75,74 ± 0,39
<i>P3</i>	25,45±0,71	27,65±0,79	27,22±0,47	67,91 ± 0,61
<i>V1</i>	21,89±0,47	17,95±0,41	23,92±0,77	65,95 ± 0,37
<i>V2</i>	19,53±0,31	18,23±0,57	12,12±0,21	35,91 ± 0,47
<i>V3</i>	14,44±0,27	13,23±0,53	9,43±0,33	29,91 ± 0,86
<i>P1 Mac</i>	28,17±0,71	23,69±0,53	22,62±0,39	63,97 ± 0,37
<i>P2 Mac</i>	41,31±0,29	30,85±0,71	27,23±0,74	76,69 ± 0,91
<i>P3 Mac</i>	27,93±0,75	29,53±0,73	28,12±0,31	69,76 ± 0,28
<i>V1 Mac</i>	35,13±0,35	19,73±0,53	26,38±0,24	66,95 ± 0,56
<i>V2 Mac</i>	29,11±0,56	20,12±0,38	18,91±0,62	37,72 ± 0,75
<i>V3 Mac</i>	18,21 ±0,67	17,91±0,47	10,32±0,39	30,15 ± 0,28
<i>P1 Sox</i>	30,17±0,30	27,87±0,69	31,55±0,32	69,65 ± 0,34
<i>P2 Sox</i>	45,79±0,82	31,25±0,65	30,17±0,57	79,89 ± 0,62
<i>P3 Sox</i>	30,39±0,34	31,45±0,85	30,53±0,23	71,84 ± 0,93
<i>V1 Sox</i>	37,17±0,29	24,74±0,89	28,96±0,29	69,99 ± 0,94
<i>V2 Sox</i>	34,89±0,43	24,51±0,24	20,94±0,39	74,55 ± 0,34
<i>V3 Sox</i>	20,35±0,28	19,35±0,83	12,16±0,85	32,25 ± 0,49

<i>Cis-diammine- dichloroplatinum</i> (<i>Cis-DDP</i>)	0.94±0.55	1.40±0.97	0.72±0.64	52.23±0,92
---	-----------	-----------	-----------	------------

Табела 11. Цитотоксична активност на различни екстракти од сортите малина Primalba и Willamette

Цисплатинот е еден од најчесто користените антитуморни лекови. Сепак, клиничката ефикасност на цисплатинот е ограничена поради токсичните несакани ефекти, особено нефротоксичноста. Постарите пациенти со рак на белите дробови може да бидат изложени на зголемен ризик од нефротоксичност на цисплатин поради коморбидитети кои водат до забрзано бубрежно стареење (Máthé C., et al., 2011). Како резултат на тоа, постои напор да се тестираат растителни состојки кои би можеле да покажат успешна антитуморна активност без несакани ефекти (Duan Z., et al., 2020).

Во Табела 11 се прикажани резултатите од тестирањето на цитотоксичната активност на екстракти од сортите малина Primalba и Willamette на избрани клеточни линии (Manohar S., Leung N., 2018).

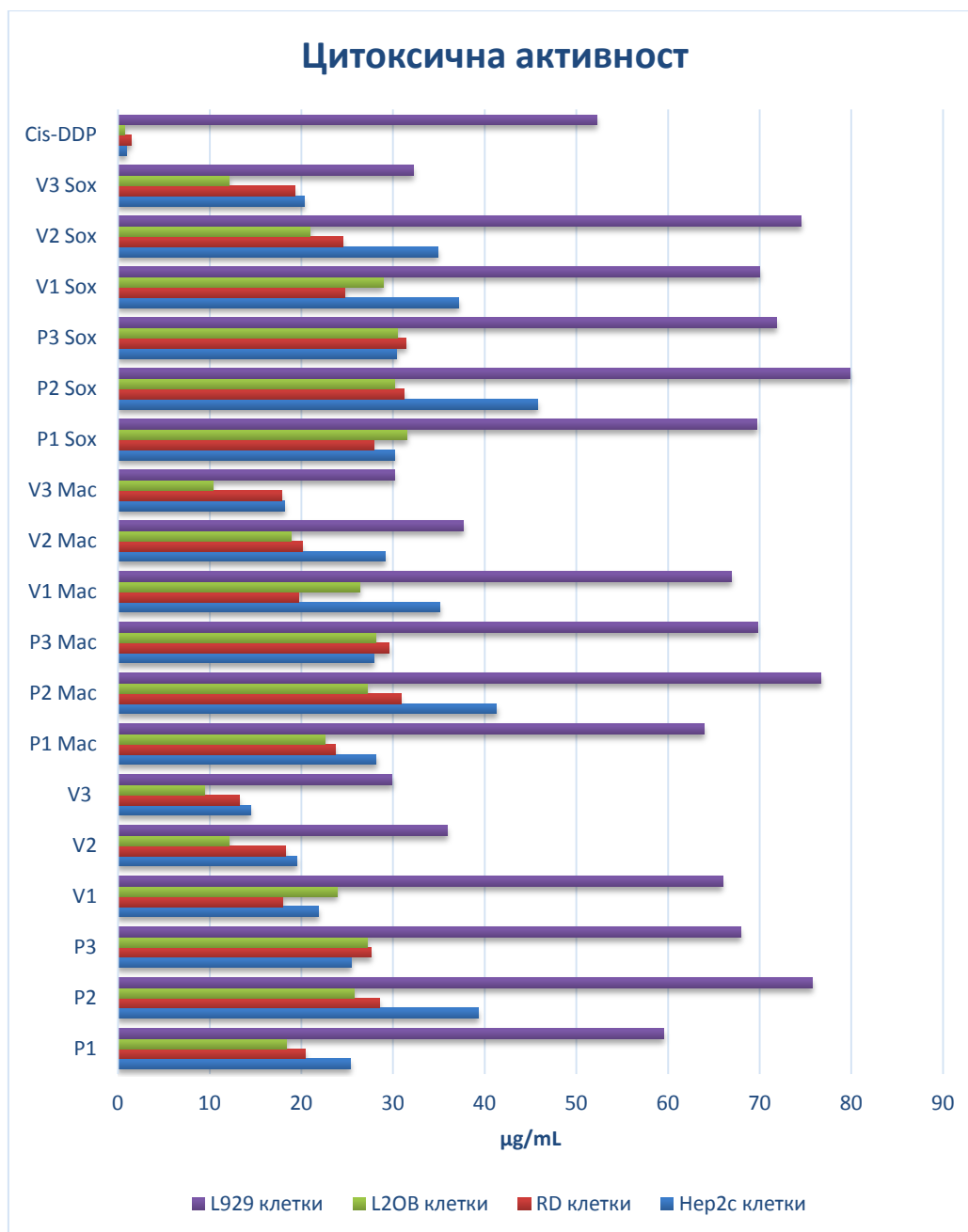
Најсилна цитотоксична активност покажа екстрактот добиен со ултразвучна екстракција, затоа што на сите видови на клеточни линии има пониски вредности кај сите испитувани примероци во споредба со екстрактите добиени со мацерација и Сокслетова екстракција (за последниот може да се каже дека има најниска цитотоксична активност во сите клеточни линии).

Екстрактот добиен со ултразвучна екстракција за сите видови примероци покажува највисока цитотоксична активност во однос на L2OB клетките, која се движи од 9,43µg/mL кај третиот примерок од сортата Willamette, па сè до 27,22µg/mL кај третиот примерок од сортата Primalba. И останатите два екстракциони методи покажуваат значајна цитотоксична активност во однос на L2OB клетките, со тоа што во поглед на екстрактот добиен со мацерација значајна цитотоксична активност е утврдена кај третиот примерок од сортата Willamette (10.32µg/mL) и кај третиот примерок од сортата Primalba.(28,12µg/mL). Кај екстрактите добиени со Сокслетова екстракција овие вредности се движат од 12,16µg/mL кај третиот примерок од сортата Willamette до 30,53µg/mL кај третиот примерок од сортата Primalba.

Во однос на клеточната линија L929, без разлика на примерокот (дали е од сортата Primalba или од сортата Willamette) и екстракциониот метод, може да се

заклучи дека анализираните екстракти имаат помала цитотоксична кон оваа клеточна линија.

За подобро да може да се претстави оваа ситуација добиените резултати се прикажани графички во следниот Графикон 10.



Графикон 10. Цитоксична активност на екстракти од сортите малина Primalba и Willamette

5.4. КОЕФИЦИЕНТ НА КОРЕЛАЦИЈА ПОМЕЃУ АНАЛИЗИРАНИТЕ ПАРАМЕТРИ ВО ЕКСТРАКТИТЕ ОД СОРТИТЕ МАЛИНА PRIMALBA И WILLAMETTE

За анализа на степенот на корелација помеѓу испитуваните параметри во екстракти од сортите малина Primalba и Willamette како: вкупни феноли, кофеинска киселина, хлорогена киселина, р-кумарна киселина, ферулинска киселина, елагична киселина, рутин, q-глукозид, q-рамнозид, вредности на вкупен антиоксидативен капацитет, инхибиторна активност на ниво на липидна пероксидација, антиоксидативна активност на ниво на хидроксилни радикали, антиоксидативна активност со DPPH, антиоксидативна активност со ABTS, како и цитотоксичната активност кон клеточните линии: Hep2c, RD, L2OB и L929 клетки, користен е Пирсоновиот коефициент на корелација.

Пирсоновиот коефициент на корелација, понекогаш наречен и Пирсонова корелација, се користи за одредување на степенот на линеарна врска помеѓу две променливи. Со овој коефициент се одредува насоката и јачинта на линеарната врска помеѓу променливите и неговите вредности се движат од -1 и 1 каде што:

- доколку вредноста на коефициентот е помеѓу 0 и 1, тоа укажува на позитивна корелација, што значи дека кога едната променлива се менува, другата променлива се менува во иста насока (колку вредноста на коефициентот е поблиску до 1 толку е посилна корелацијата меѓу променливите),
- доколку вредноста на коефициентот е помеѓу 0 и -1, тоа укажува на негативна корелација, што значи дека кога едната променлива се менува во една , другата променлива се менува во спротивна насока и
- доколку, пак, вредноста на коефициентот е 0, тоа укажува дека помеѓу променливите нема корелација, односно промената на едната не влијае врз промената на другата променлива.

Резултатите добиени од оваа статистичка анализа се прикажани во Табела 12 и Графикон 11.

	KK	XK	p-KK	FK	EK	P	q-Г	q-P	BAK	IALP	AAHR	AA DPPH	AA ABTS	Нер2c	RD	L2OB	L929
KK	1,00																
XK	0,07	1,00															
p-KK	0,13	0,06	1,00														
FK	0,15	0,02	0,08	1,00													
EK	0,34	0,44	0,11	0,28	1,00												
P	0,47	0,03	0,12	0,11	0,37	1,00											
q-Г	0,07	0,35	0,35	0,50	0,09	0,10	1,00										
q-P	0,12	0,10	0,24	0,02	0,08	0,45	0,15	1,00									
BAK	0,03	0,03	0,21	0,10	0,27	0,12	0,21	0,02	1,00								
IALP	0,12	0,39	0,27	0,06	0,46	0,25	0,16	0,21	0,18	1,00							
AAHR	0,04	0,02	0,22	0,04	0,22	0,10	0,06	0,30	0,25	0,54	1,00						
AA DPPH	0,13	0,20	0,12	0,01	0,05	0,24	0,29	0,08	0,40	0,42	0,60	1,00					
AA ABTS	0,15	0,34	0,22	0,37	0,16	0,24	0,08	0,25	0,42	0,66	0,65	0,61	1,00				
Нер2c	0,18	0,07	0,02	0,24	0,26	0,03	0,15	0,49	0,04	0,22	0,27	0,19	0,34	1,00			
RD	0,09	0,07	0,14	0,44	0,26	0,38	0,30	0,10	0,09	0,11	0,33	0,06	0,39	0,75	1,00		
L2OB	0,25	0,10	0,07	0,35	0,21	0,03	0,47	0,34	0,06	0,01	0,28	0,03	0,49	0,75	0,83	1,00	
L929	0,16	0,22	0,09	0,43	0,20	0,02	0,48	0,33	0,06	0,19	0,16	0,12	0,32	0,80	0,80	0,91	1,00

Табела 12. Пирсонов коефициент на корелација помеѓу анализираните параметри од екстракти на сортите малина Primalba и Willamette

Од Табела 12 може да се заклучи дека постојат големи варијации во добиените резултати за меѓусебната поврзаност за испитуваните елементи во овие две сорти на малини, односно додека кај некои од нив постојат големи меѓусебни корелации кај другите тие се слаби или дури и негативни, во најголем број од нив.

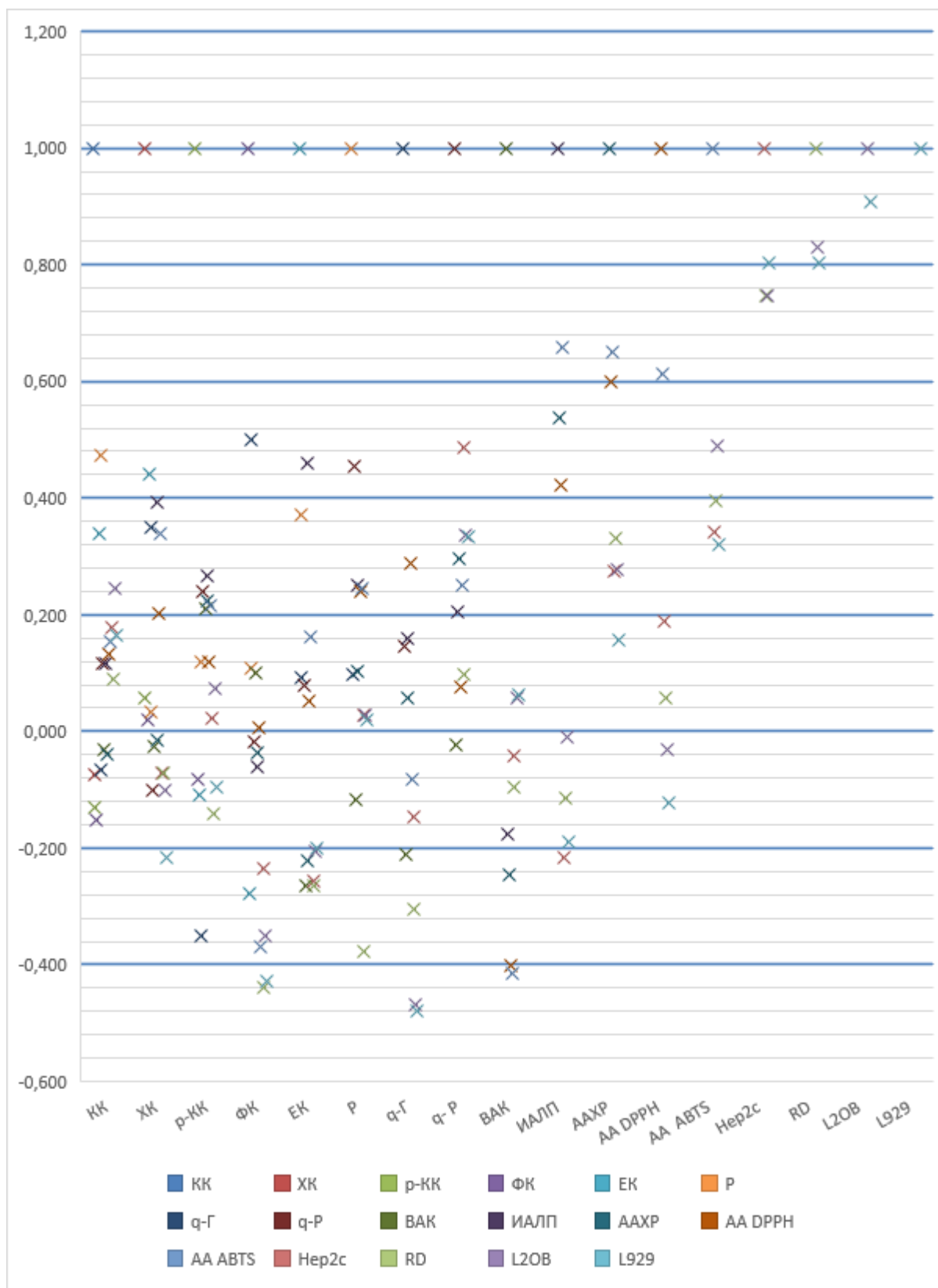
Најсилните позитивни корелации се јавуваат помеѓу KK и P (0.472) каде има висока позитивна корелација, помеѓу EK и XK (0.441) каде постои силна позитивна врска, помеѓу AAHR и IALP(0.537) постои позитивна врска, што значи дека

параметрите имаат тенденција да растат заедно, помеѓу RD и L2OB (0.747) кои се параметри што се исто така доста позитивно корелирани, а пак, L929 и L2OB (0.907) покажуваат највисока позитивна корелација во табелата.

Слаба негативна корелација постои помеѓу FK и p-KK (-0.082) и L929 и q-Г (-0.478), додека пак, силна негативна корелација помеѓу RD и FK (-0.440) се параметри кои се движат во спротивни правци. Помеѓу AA ABTS и ВАК (-0.416) постои забележителна негативна врска.

Помеѓу ХК и Р (0.034) има слаба или никаква корелација, исто така и помеѓу FK и ВАК (0.099) има многу слаба врска, а помеѓу q-Р и FK (-0.018) практично и нема корелација.

За да се добие подобра слика како изгледаат, добиените податоци се презентирани во следниот Графикон 11.



Графикон 11. Коэффициент на корелација помеѓу анализираниите параметри во екстракти од сортите малина Primalba и Willamette

6. ДИСКУСИЈА

Во рамките на оваа докторска дисертација испитани се неколку аспекти на малините од сортите Primalba и Willamette, односно, извршена е анализа на физичко-хемиските карактеристики на почвата на која се одгледуваат, анализа на морфолошките карактеристики на плодовите и семето од сортите малина, извршена е и анализа на хемискиот состав на плодовите, како и анализа на биохемиска активност на екстрактите од сортите малина Primalba и Willamette.

Во технологијата за производство на малини важен е изборот на земјиште, т.е. квалитетот на почвата за одгледување на сортите Primalba и Willamette. Сортите на малини се повеќегодишни растенија, во форма на грмушка или полугрмушка, со неколку едногодишни корени и едногодишни или двегодишни ластари од фамилијата Rosaceae. Малината која се наводнува со систем капка по капка, преку земја се рехабилитира и се додаваат соодветните ѓубрива. Испитувањето на хемискиот состав на почвата беше во три лаборатории, во различни периоди. Резултатите добиени во првиот период на испитување покажуваат дека азотот е елемент со најголемо движење во самата почва и неговата содржина е 0,08 - 0,14 %. Киселоста (рН вредноста-содржина на водородниот катјон) влијае на содржината на калциум, кој игра важна улога во тврдоста на плодот, во чувствителноста на физиолошки нарушувања и изнесува 1113,0-3745,0ppm. Фосфорот е важен елемент за својствата на овошјето при складирањето и изнесува 14,77–40,36 P₂O₅kg/ден . Калиумот игра улога во производството на добри приноси и количината е околу 14,0–50.49.7 K₂Okg/ден. Магнезиумот ја нема најважната улога, тој е застапен со 74,58-220,9 ppm. Главната улога на магнезиумот е во односот на калиумот (K/Mg) и треба да се движи од 2:1 до 3:1. Од податоците добиени од анализата на почвата, покрај климатските услови, видот и структурата, кои се подеднакво важни за одгледување малини, добиваме целосна слика за процесите на почвата и упатства за соодветни услови за одгледување малини.

Почвата е еден од најважните фактори што треба да се земат предвид пред да се засадат малини. Малините бараат добро исцедена почва. Повеќето од корените се наоѓаат во најгорните 20 cm почва и лесно се оштетуваат со прекумерно наводнување. Пред садењето, треба да се додаде органска материја за да се подобри дренажата на почвата и капацитетот за задржување на хранливи материи. Во тешки почви, садењето на подигнати кревети, исто така, може да помогне да се подобри одводот на водата од горниот дел од креветот. Кревет висок околу 10 до 12cm е доволен. Малините

претпочитаат рН на почвата од 5,5 до 7,0, што е пониско (покисело). Железната хлороза често произлегува од ова. Може да се направат измени и дополнувања на почвата кои ќе помогнат во управувањето со алкалните почви. Контролата на плевелот, особено на повеќегодишните плевели, пред садењето, е од клучно значење бидејќи садењето малина ќе биде на истото место многу години и повеќето хербициди што се користат за контрола на повеќегодишните плевели не може да се користат на насадите на малини без да се оштети културата.

Во контекст на првите испитувања, односно испитувањата на почвата кои се извршени во две различни лаборатории во временска разлика од четири години на три примероци почва, извлечени се неколку заклучоци. Од првичните испитувања од 2018 година извлечени се заклучоци за почвата, како би се подобрил нејзиниот состав и квалитет со што би се добиле подобри и поквалитетни производи во поголеми количини. Така, една од препораките кои произлегоа од направените анализи беше дека е потребно да се изврши гноење со 20 - 30t/ha прегорено шталско ѓубриво на целата површина од каде што беа земено примероците, со цел да се збогати почвата со органски материи и да се постигнат оние вредности кои се потребни за задоволување на потребите за подигање на насад малина, а со тоа ќе се зголеми и количината на азот. Исто така, потребно е да се изврши закиселување на делови од почвата, како и да се изврши минимално додавање на калциум на површините под насад, сè со цел да се доведе калциумот до идеалната содржина која ја побарува насадот од малини и да се продолжи со понатамошно калцинизирање на секои три години. Со испитувањата се докажа дека фосфорот е застапен во високи концентрации и се препорачува негово избегнување, исто како и магнезиумот поради неповолниот сооднос K/Mg, додека пак препорачано е ѓубрење со калиум хлорид. Во 2023 година се извршени нови анализи на почва земена од истите насади, третирана согласно препораките од претходните испитувања за која може да се заклучи дека е со подобар квалитет во однос на првичните испитувања.

Според податоците од литературата, претходно добиени од повеќе испитувања, хемискиот состав на плодите на малината зависи не само од генетските карактеристики и возраста на растенијата, туку и од агрохемиските фактори (Rybczyński, R., et al., 2001). Според една спроведена студија (Sawicka, B., et al., 2023), највисоко ниво на принос е добиено со примена на 135kg N/ha. Истражувањето спроведено во Шкотска (Lawson, H.M.; Waister, P.D., 1972) покажува дека повисоките дози на азот го зголемуваат приносот во првата и втората година од одгледувањето

малина, но не влијаат на приносот во следните години, а реакцијата на ѓубрењето со азот зависи од возраста на растението. Зголемувањето на дозите на N во одгледувањето малини во Унгарија (Papp, J. et al., 1984) резултирало со зголемување на приносите, но и со помала големина на плодовите. Слични резултати биле добиени и во Јужен Бразил кај есенската црвена сорта Bliss (Rizzi, R., et al., 2019). Добиени биле повисоки приноси при примена на 200 или 300kg N/ha, во споредба со приносите кои биле добиени со примена на 100kg N/ha, што укажува дека ѓубрењето што ги надминува потребите на растенијата може да нема позитивно влијание врз приносите. Различни резултати биле добиени во истражувањата што ги направил Хајберг во 2002 на сортата „Ветен“ во Норвешка. Во овие истражувања, утврдено е дека високата доза на азот (178kg N/ha) не го зголемила приносот во споредба со ниската доза азотно ѓубриво (40kg N/ha) (Heiberg, N., 2002). Недостаток на ефектот на дозата на азот врз приносот и квалитетот на плодовите, исто така е забележан и во истражувања на црвената сорта малина „Микер“, во северозападениот регион на Вашингтон (САД) (Lu, Q., et al., 2022). Според авторите, ова може да биде поврзано со минерализацијата на хранливите материи во почвата и користењето на резервите на хранливи материи акумулирани во растението.

Исто така, испитуван е и ефектот на ѓубрење со 4 дози на азот (0, 60, 120 и 240 kg N/ha–1) и 3 дози P (0,43 и 86 kg P/ha) врз приносот на сортата малина (Ali, L., 2012). Во овие истражувања утврдено е дека, по примената на азот во доза од 240kg N/ha, дошло до најголем вегетативен раст и принос на малините. Меѓутоа, не е утврден ефект од примената на фосфор, односно нивната меѓусебна интеракција т.е. азот со фосфор.

Примената на течни ѓубрива составени од пет макронутриенти (N, P, K, Ca и Mg) во три различни дози (0 mg/L, контрола и 10× контрола) на сортата Dormangred е анализирано од страна на Spiers et al. (1999). Утврдено е дека примената на 10-кратна доза на N резултира со висока концентрација на Fe, но пониски концентрации на Ca и Mg во листовите. Високата доза на P ја зголемува содржината на P, K и Cu во листовите, но го инхибира навлегувањето на Ca. 10-кратното ѓубрење со K го инхибира навлегувањето на Ca и Mg, но ја зголемува содржината на P, K, Fe и Cu во листовите. Ѓубрењето со висока содржина на Ca ја зголемува содржината на P во листовите, а го намалува внесот на Mg и Mn. 10-кратна доза на Mg ја зголемува содржината на Mg во листовите, но ја намалува содржината на Ca. Содржината на микроелементи и тешки метали во плодовите на малина од сортата Willamette, одгледувани на органски и конвенционални насади, беше анализирана од српски научници (Milinković, M.; Vranić,

D.; Đurić, M.; Paunović, S.M., 2021). Утврдената содржина на испитуваните елементи била според следниот редослед: $Mn > Fe > Zn > Cu > Ni > Cr > C$. Авторите не утврдиле значајна разлика во концентрациите на анализираните елементи во плодовите на малина од органско и конвенционално одгледување, освен за содржина на Fe во органските малини. Според Lu *et al.*, (2022), зголемувањето на нивото на ѓубрење со азот, како и оптималното ниво на хидратација им обезбедува на растенијата поголем принос. Авторите утврдиле зголемување на приносите на сортите „Норна“ и „Ветен“ како резултат на наводнување за скоро 52% во споредба со природните врнежи. Ѓубрењето на двете анализирани сорти со азот (120kg/ha) се покажа како најсоодветно. Покрај тоа, наводнувањето значително го зголемува приносот на плодови, како и интензитетот на асимилација и транспирација на листовите. Слични резултати беа добиени и од Treder (1993).

За испитувањето на морфолошките и хемиски карактеристики на сортите малина Primalba и Willamette направени се испитувања на вкупно 40 примероци плод (по 20 примероци од секоја анализирана сорта).

Во поглед на масата на плодот, може да се заклучи дека резултатите од тестирањето покажуваат дека просечните вредности значително се разликува меѓу двете сорти малина. Високата t-вредност и многу ниските p-вредности укажуваат на тоа дека разликата во средните вредности не е резултат на случајност. Значи, постои статистички значајна разлика меѓу средните маси на плодот на сортите Primalba и Willamette, што сугерира дека Primalba има значително поголема маса на плодот во споредба со Willamette. Средните вредности за висината на плодот на Primalba и Willamette се значително различни. Високата t-вредност и многу ниските p-вредности укажуваат на тоа дека разликата во висината не е резултат на случајност. Значи, постои статистички значајна разлика во висината на плодот меѓу сортите Primalba и Willamette. Нема статистички значајна разлика во средните вредности на ширината 1 на плодот помеѓу сортите Primalba и Willamette. Разликата во средните вредности е веројатно резултат на случајност и нема доволно докази да се заклучи дека вистинските средни вредности се различни. Исто така, и резултатите во однос на ширина 2 покажуваат дека нема статистички значајна разлика во средните вредности на втората ширина на плодот меѓу сортите Primalba и Willamette. Иако Primalba има малку поголема средна вредност, разликата не е доволно голема за да биде статистички значајна. Тестот на значајност (t-тест) укажува дека разликата, веројатно е резултат на случајност, бидејќи t-вредноста е помала од критичните вредности, а p-вредностите се

поголеми од нивото на значајност (0,05). Следствено, нема доволно докази да се заклучи дека постои значајна разлика во средните вредности на ширината 2 на Primalba и Willamette.

Заклучоците во поглед на испитувањето на морфолошките карактеристики на семето од плодовите, можат да се сумираат со тоа што во поглед на број на семки нема статистички значајна разлика помеѓу двете сорти, исто како и во поглед на висината и пречникот на семето, додека пак кај масата на семето постои статистички значајна разлика (семето од сортата Willamette има поголема маса).

Помеѓу двете сорти малина, единствената значајна разлика е во масата на плодот и семето, каде што Willamette има поголема маса во споредба со Primalba. Во сите други морфолошки карактеристики, разликите не се статистички значајни.

Во студијата од Лепосавиќ и сор. (2013) испитувани се карактеристиките на различни сорти малини во однос на квалитетот и приносот на плодовите, при што тие заклучуваат дека различните сорти покажуваат значителни разлики во приносот и карактеристиките на квалитетот на плодовите. Одредени сорти се повеќе наменети за свежа потрошувачка, додека други за преработка.

Анализата на хемискиот состав на плодовите од испитуваните сорти малина покажуваат дека плодовите од сортата Willamette содржат нешто повеќе вкупни и растворливи суви материи во однос на сортата Primalba, додека двете сорти имаат слични вредности во содржината на редуцирачки шеќери. Во однос на содржината на сахароза, плодовите на сортата Willamette имаат малку повисока концентрација, а пак, плодовите на сортата Primalba имаат пониско ниво на вкупни киселини и повисока рН вредност, повисок индекс на слаткост, додека Willamette имаат повисок процент на пектински материи. Исто така, Willamette имаат повисоко ниво на антоцијани, што може да укажува на посилна боја и поголема содржина на антиоксидати. Може да се каже дека Willamette покажува поголеми вредности за поголем дел од анализираните параметри, освен за рН вредноста и индексот на слаткост, каде Primalba има повисоки вредности. Ова укажува на различни потенцијали за употреба на двете сорти во зависност од потребите (свежа консумација, преработка и др.).

Во студијата на Leposavic (2013) анализиран е квалитетот на плодовите и приносот на различни сорти малина одгледувани во западниот дел на Србија, опфаќајќи неколку важни параметри, вклучувајќи го приносот по единица површина, содржината на суви материи, растворливи цврсти материи, редуцирачки шеќери, вкупната киселост, рН вредност, содржина на вкупни пектини и антоцијани, при што

добиените резултати укажуваат на тоа дека сортата Willamette има потенцијал за висока продуктивност и квалитет, што ја прави погодна за комерцијално одгледување и преработка.

Црвената малина содржи бројни органски и неоргански соединенија (шеќери, киселини, пектини, антоцијани, фенолни соединенија, минерални материи итн.). Нивната содржина варира меѓу сортите (Janda L.J., Gavrilovic J., 1983), и зависи од различни фактори и тоа: фактори на животната средина (температура, врнежи, тип на почва), наводнување, ефикасност на приносот, зрелост на собраните плодови (Tešović Ž., 1988), агротехнички мерки, контрола на штетници и болести итн. Во своето истражување на седум сорти малини, Маринковиќ (2008) го поврзува падот на приносот и квалитетот на плодовите (значителен пад на растворливите цврсти материи и лошата конзистентност на плодот), предизвикан од несоодветните климатски услови (несоодветна температурна дистрибуција, мали разлики помеѓу дневните и ноќните температури). Според Ријаз и Бушвеј (1996) значајните разлики во хемискиот состав се регулирани од специфичните карактеристики на сортата и можат повеќе или помалку да бидат засегнати од различни временски услови (особено малите разлики помеѓу дневните и ноќните температури) за време на периодот на растење. Во неговите студии за хемискиот состав на свежите и замрзнатите малини, Станчев (1991) укажува на можно големо влијание на метеоролошките фактори и локацијата на голем дел од карактеристиките на плодот. Авторот додава дека органолептичката проценка на свежите плодови малина укажува на значително повисок квалитет на плодовите кај примоканските сорти. Слични резултати добиле и Eyduran и Agaoglu (2006) во истражувањето на технолошките својства (маса на плодот, содржина на растворливи суви материи, вкупна содржина на суви материи и содржина на вкупни киселини) кај плодови од сорти примокан и флорикана.

Во последните години, антиоксидативното и антипролиферативното дејство на фенолните соединенија, содржани во плодовите на малината, се предмет на се поголем број истражувања во светот. (Leposavic A., et al., 2013). Во рамките на анализата на фенолниот профил на испитаните екстракти, со различни методи на екстракција, од сортите малина Primalba и Willamette идентификувани се следните соединенија: кофеинска киселина, хлорогена киселина, р-кумарна киселина, ферулинска киселина, елагична киселина, рутин, q-глукозид и q-рамнозид.

Треба да се напомене дека, иако при користење на трите методи на екстракција е добиен истиот профил на фенолни соединенија, сепак, нивната застапеност варира врз

основа на користениот метод, што кореспондира со податоци добиени од студијата на Величковиќ (2021), според која екстрактите добиени со современи техники на екстракција содржат значително повисоки количини на фенолни соединенија во споредба со екстрактите добиени со конвенционални методи. Така, при користење на методот на ултразвучна екстракција вкупната содржина на феноли кај сите анализирани примероци малина, од двете сорти малина Primalba и Willamette изнесува 1381,41 $\mu\text{g/g}$, кај сортата Willamette 770,07 $\mu\text{g/g}$, а кај сортата Primalba 611,34 $\mu\text{g/g}$. Во однос на профилот на фенолни соединенија доминира елагичната киселина (319,04 $\mu\text{g/g}$), по која следи *q*-глукозид со 249,53 $\mu\text{g/g}$.

При користење на методот на мацерација, пак, вкупната содржина на феноли кај сите анализирани примероци, од двете сорти малина Primalba и Willamette е 1656,75 $\mu\text{g/g}$. Во однос на профилот на фенолни соединенија доминира *p*-кумарна киселина со 419,73 $\mu\text{g/g}$, а како втор најзастапен фенол се јавува хлорогена киселина со значителни количини од 278,64 $\mu\text{g/g}$.

При користење на методот на Сокслетова екстракција вкупната содржина на феноли кај сите анализирани примероци, од двете сорти малина Primalba и Willamette е 1927,07 $\mu\text{g/g}$. Во однос на профилот на фенолни соединенија доминира елагичната киселина со 468,41 $\mu\text{g/g}$ и како втор најзастапен фенол, се јавува *q*-рамнозид со значителни количини од 313,19 $\mu\text{g/g}$.

Студијата на Häkkinen и Töggönen (2006) дава вредни сознанија за факторите кои влијаат на содржината на флавоноли и фенолни киселини во плодовите малина. Ова истражување го нагласува значењето на селекцијата на сортата, местото на одгледување и применетите агротехники за фенолниот состав на плодовите. Овие наоди имаат импликации врз земјоделските практики, програмите за одгледување и препораките за исхрана на луѓето, насочени кон максимизирање на здравствените придобивки од потрошувачката на малини. Студијата на Mattila, Hellström и Törrönen (2006) обезбедува сеопфатна анализа на содржината на фенолни киселини кај различни видови јагодесто овошје. Во ова истражување испитувано е влијанието на видот јагодесто овошје, како и влијанието на преработката и складирањето на плодовите врз содржината на фенолни соединенија. Со истражувањата утврдени се значајни разлики во содржината на фенолни киселини помеѓу различни видови јагодесто овошје, што укажува дека различни видови и сорти имаат уникатни фенолни профили. Кај јагодестото овошје, доминираат деривати на елагичната киселина и деривати на *p*-кумарната киселина. Во истражувањата утврдена е и значителна количина на

хидроксibenзоична киселина и хидроксицинаминска киселина во плодовите. Покрај тоа, оваа студија открива дека содржината на фенолни киселини во плодовите е под влијание на условите за обработка и складирање.

Антиоксидативниот капацитет на сортите малина Primalba и Willamette е анализиран со користење на тестови за вкупна антиоксидативна активност (ТА), антиоксидативна активност на ниво на инхибиција на липидна пероксидација (ILP₅₀), антиоксидативна активност на ниво на хидроксилни радикали (OH₅₀), антиоксидативна активност со DPPH анализа и антиоксидативна активност со ABTS тест. Екстрактите од анализираните примероци малина беа добиени со три различни методи на екстракција, при што треба да се нагласи дека согласно користениот методот утврдени се разлики во добиените резултатите. Во поглед на одредувањето на вкупната антиоксидативна активност, највисоки вредности се добиени при користење на методот на ултразвучна екстракција и тоа кај примероците од сортата Primalba. Врз основа на резултатите од антиоксидативната активност, утврдена на ниво на инхибиција на липидната пероксидација на анализираните екстракти, може да се заклучи дека екстрактот добиен со ултразвучна екстракција поседува најсилна моќ на инхибиција на липидната пероксидација кај двете сорти кои се анализираат. Во однос на антиоксидативната активност на ниво на хидроксилни радикали, овие екстракти (од сите анализирани примероци) покажуваат поголема способност за неутрализирање на хидроксилните радикали, додека пак во споредба со ВНТ добиените вредности покажуваат помала активност само кај одредени примероци од секој од користените методи на екстракција. Вредностите на антиоксидативна активност со DPPH анализа на тестираните екстракти покажуваат дека современите методи на екстракција имаат многу посилна способност да ги неутрализираат радикалите DPPH. Вредностите на екстрактите добиени со конвенционални методи се значително повисоки, што значи дека активноста на DPPH за чистење на слободните радикали на малината е послаба од синтетичките антиоксидати, ВНТ, аскорбинска, галска киселина и α -токоферол. Тестот за антиоксидативна активност ABTS покажува највисоки резултати при користење на методот на Сокслетова екстракција. Во студијата на Mullen (2002), антиоксидативниот капацитет на црвените малини е спореден со стандардните антиоксидати како што се галска киселина, аскорбинска киселина, ВНТ (бутилиран хидрокситолуен) и α -токоферол, при што е утврдено дека вкупната содржина на феноли во црвените малини изнесува 287mg GAE на 100g свежа тежина. Студијата укажува дека антиоксидативната активност на фенолите од малина, особено елагитанините, е

споредлива со галската киселина кога се зема предвид нивниот придонес во вкупниот антиоксидативен капацитет. Аскорбинската киселина (витамин Ц) е добро познат антиоксидат. Студијата покажа дека, иако аскорбинската киселина е ефикасна, комбинираниите фенолни соединенија во малините обезбедуваат поширок спектар на антиоксидативна активност. ВНТ е синтетички антиоксидат кој се користи за зачувување на храната. Откриено е дека антиоксидативниот капацитет на фенолите од малина е споредлив со оној на ВНТ, истакнувајќи го потенцијалот на природните антиоксидати во малините да дејствуваат како конзерванси. α -токоферол (витамин Е) е уште еден силен антиоксидат. Истражувањето заклучува дека антиоксидативниот капацитет на екстрактите од малина е значителен и обезбедува слична антиоксидативна заштита како α -токоферол. Покрај тоа, истакнува дека природните фенолни соединенија во црвените малини, особено елагитанините и флавоноидите, се ефективни антиоксидативи. Антиоксидативниот капацитет на малините може да се припише на високата содржина на овие фенолни соединенија, што ги прави споредливи со добро познатите антиоксидати како што се галска киселина, аскорбинска киселина, ВНТ и α -токоферол.

Антимикробната активност на добиените екстракти од анализираните сорти малина, во рамките на оваа докторска дисертација, е извршена со користење на следните соеви микроорганизми: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Candida albicans* ATCC 1023, *Aspergillus niger* ATCC 16404, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 13883, *Proteus vulgaris* ATCC 13315, *Proteus mirabilis* ATCC 14153, со примена на методот на микроразредување. Резултатите се изразени преку минималната инхибиторна концентрација МИС, што претставува најмала концентрација на одредено соединение што може да го инхибира растот на микроорганизмите. Од добиените резултати се заклучува дека екстрактите добиени со различни екстракциони техники покажуваат различни ефекти кои се манифестираат во различна мера против анализираните соеви микроорганизми. Екстрактите добиени со техниката на екстракција со ултразвук покажуваат најсилна антимикробна активност кај скоро сите анализираните соеви микроорганизми, што кореспондира со резултатите добиени од Величковиќ (2021). Антимикробното дејство на малините е проучувано во голем број на различни студии, меѓу кои и онаа на Mullen (2002), во која е констатирано дека антибактериските својства на малините првенствено се припишуваат на нивната висока содржина на фенолни соединенија, вклучувајќи ги елагитанини, флавоноиди и антоцијани. Овие природни соединенија

можат ефикасно да го инхибираат растот на различни патогени бактерии преку повеќе механизми, вклучително и деградација на клеточните сидови на бактериските клетки, инактивација на микробните ензимски системи и инхибиција на синтезата на ДНК. Антимикробниот капацитет на малините сугерира потенцијална примена на екстрактите од малина во зачувување на храната и како природна алтернатива на синтетичките антибиотици.

Цитотоксична активност на испитуваните екстракти од сортите малина Primalba и Willamette беше тестирана на четири клеточни линии: Hep2c клетки (клеточна линија на човечки карцином на грлото на матката), RD клетки (човечка клеточна линија добиена од човечки рабдомиосарком), L2OB клетки (клеточна линија добиени од фибробласти на глушец) и L929 клетки (нормално поткожно ареоларно масно ткиво). Екстрактот добиен со ултразвучна екстракција има најсилна цитотоксична активност на сите видови клеточни линии, во споредба со екстрактите добиен со мацерација и Сокслет екстракција кои покажуваат пониски вредности на цитотоксична активност. Екстрактот добиен со Сокслет екстракција има најниска цитотоксична активност кон сите клеточни линии. Најизразена цитотоксична активност на екстрактот добиен со ултразвучна екстракција е кон L2OB клетките (од 9.43 $\mu\text{g/mL}$ - трет примерок од сортата Willamette до 27.22 $\mu\text{g/mL}$ - трет примерок од сортата Primalba). Исто така и екстрактот добиен со мацерација покажува најизразена цитотоксична активност кон L2OB клетките (од 10.32 $\mu\text{g/mL}$ – трет примерок од сортата Willamette до 28.12 $\mu\text{g/mL}$ кај третиот примерок од сортата Primalba). Кај екстрактите добиени со Сокслет екстракција, овие вредности се движат од 12.16 $\mu\text{g/mL}$ кај третиот примерок од сортата Willamette до 30.53 $\mu\text{g/mL}$ кај третиот примерок од сортата Primalba. За клеточните линии L929, без оглед на екстракциониот метод, активноста на добиените екстракти е помала кон сите анализирани клеточни линии. Ултразвучната екстракција е најефикасниот метод за добивање екстракти со висока цитотоксична активност, особено кон клеточните линии L2OB. Екстрактите добиени со мацерацијата покажуваат умерена, додека оние добиени со Сокслетовата екстракција имаат најниска цитотоксична активност. Клеточните линии L929 се помалку подложни на цитотоксичните ефекти на екстрактите споредени со клеточните линии L2OB, без оглед на методот на екстракција. Според Величковиќ (2021) екстрактите добиени со ултразвучна екстракција покажуваат добра цитотоксична активност кон сите клеточни линии, додека екстрактот добиен со конвенционален метод на мацерација покажува изразена активност против клеточната линија L2OB.

Цитотоксичните карактеристики на малините се предмет на различни истражувања кои ги испитуваат ефектите на екстрактите од малини врз различни клеточни линии. Екстрактите од малини, особено оние добиени со ултразвучна екстракција, покажуваат изразено цитотоксично дејство, кое варира во зависност од сортата малина и од методот на екстракција. Овие екстракти покажуваат потенцијал за употреба во третманот на различни видови малигни заболувања, но потребни се дополнителни истражувања за да се утврди нивната ефикасност и безбедност во клинички услови. Истражувањето на Ponder (2020) покажува дека екстрактите од малини имаат силни антиоксидативни и цитотоксични својства, особено против клеточни линии на рак на дојка (MCF-7) и рак на дебело црево (HT-29), со IC50 вредности од 50-150µg/mL. Иако трудот на Häkkinen (2000) се фокусира на јагоди и боровинки, споредбените анализи покажуваат дека и малините имаат висока концентрација на флавоноиди со значајни цитотоксични ефекти кон различни клеточни линии.

Добиените податоци, во рамките на ова дисертација, во поглед на корелациите кои постојат помеѓу присуството на вкупните феноли, кофеинска киселина, хлорогена киселина, р-кумарна киселина, ферулинска киселина, елагична киселина, рутин, q-глукозид, q-рамнозид, вредностите на вкупниот антиоксидативен капацитет, инхибиторната активност на ниво на липидна пероксидација, антиоксидативната активност на ниво на хидроксилни радикали, антиоксидативна активност со DPPH, антиоксидативна активност со ABTS, како и Hep2c клетки, RD клетки, L2OB клетки и L929 клетки присутни во сортите малина Primalba и Willamette, се пресметани со Пирсоновиот коефициент на корелација при што едни од најзначајните врски кои се утврдени се оние помеѓу AA ABTS и AA DPPH, каде што е утврдена позитивна корелација (0,612), што значи дека повисоките вредности на едните параметри кореспондираат со повисоки вредности кај други параметри на антиоксидативните својства на малините. Исто така помеѓу цитотоксичната активност на екстрактите малина кон L2OB и RD има многу висока позитивна корелација (0,747). Помеѓу TAC и p-KK, пак, постои слаба позитивна корелација (0,210), што може да индицира дека постои некоја многу слаба врска помеѓу цитотоксичноста и антиоксидативните својства на малините. Според Величковиќ (2021) коефициентот помеѓу вкупните феноли, OH 50, RD и L2OB, како и помеѓу кондензираните танини и TA, е висок ($0,8 > r > 0,7$). Корелацијата помеѓу TA и вкупните феноли, галотанини и вкупните антоцијани, како и помеѓу TA и антиоксидативните тестови и цитотоксичните активности се умерени ($0,7 > r > 0,5$).

7. ЗАКЛУЧОК

Резултатите од испитувањата реализирани во рамките на оваа докторска дисертација, покажаа дека почвата на која се насадите со малина е соодветна за одгледување на сортите малина Primalba и Willamette.

Со мали интервенции и соодветно ѓубрење постигнат е оптимален квалитет на почвата.

Во поглед на анализата на морфолошките испитувања може да се заклучи дека статистички значајни разлики се утврдени само во однос на масата на плодот од анализираните сорти малина. Генерално, плодот на сортата Willamet има поголема маса во споредба со плодот на сортата Primalba.

Примероците плод од сортата Primalba содржат поголем број на семки, но семето кај оваа сорта има помала маса, поголема висина и пречник во споредба со плодот од сортат Willamet.

Од анализата на хемискиот состав на плодовите малина од сортите Primalba и Willamet, може да се констатира дека во поглед на хемискиот состав, плодовите од двете сорти малина се слични, без позначителни отстапувања. Но, сепак, за дел од испитуваните хемиски параметри (вкупни и растворливи суви материи, содржината на сахароза, содржина на вкупни киселини) утврдени се повисоки вредности кај сортата Willamette. А повисока рН вредност, повисок индекс на слаткост имаат маилините од сортата Willamette. Додека, пак, двете сорти имаат слични вредности во содржината на редуцирачки шеќери.

Во рамките на овој докторски труд беше извршена идентификација и квантитативна одредување на полифенолните соединенија присутни во анализираните екстракти од сортите малина Primalba и Willamette, добиени со различен метод на екстракција (ултразвук, мацерација и сокслет екстракција) при што е утврдена содржината на: кофеинска киселина, хлорогена киселина, р-кумарна киселина, ферулинска киселина, елагична киселина, рутин, q-глукозид и q-рамнозид.

Врз основа на добиените резултати може да се заклучи дека методот на екстракција има доста голема влијание врз содржината, како на поединечните така и на вкупните фенолни соединенија во плодовите на сортите малина Primalba и Willamette.

Во екстрактите добиени со примена на ултразвук и Сокслет метод, најзастапена е елагичната киселина, а кај екстрактите добиени со методот на мацерација е р-кумарната киселина.

При испитување на биохемиската активност на добиените екстракти од сортите малина Primalba и Willamette, направени се *in vitro* тестови на антиоксидативниот капацитет, антимицробната активност и цитотоксична активност. Анализирани се: вкупна антиоксидативна активност (ТА), антиоксидативна активност на ниво на инхибиција на липидна пероксидација (ILP50), антиоксидативна активност на ниво на хидроксилни радикали (ОН50), антиоксидативна активност со DPPH анализа и антиоксидативна активност со ABTS тест. Овие испитувања покажаа дека постои поврзаност помеѓу користениот метод на екстракција и антиоксидативната активност на анализираниите екстракти.

Во поглед на антимицробната активност на испитуваните екстракти, може да се констатира дека екстрактите добиени со современи техники на екстракција (пр: ултразвук) имаат поизразено антимицробно дејство, во споредба со екстрактите добиени со класични, конвенционални методи (мацерација и Соклет метод).

Во однос на резултатите од анализа на цитотоксичната активност на испитуваните екстракти, утвредно е дека екстрактите добиени со техниката на екстракција со ултразвук покажуваат најизразена цитотоксична активност кон сите анализирани клеточни линии.

Најсилна цитотоксична активност покажа екстрактот добиен со ултразвучна екстракција и тоа кон клеточната линија L2OB.

Врз основа на истражувањата и добиените резултати може да се заклучи дека оваа докторска дисертација дава значјни информации во однос на технологијата на производство, морфолошките карактеристики, хемискиот состав, антиоксидативните карактеристики, антимицробниот капацитет и цитотоксичното дејство на сортите малина Primalba и Willamette, кои согласно литературните податоци во РС Македонија не се доволно истражени.

Врз основа на добиените резултати може да се заклучи дека малините од сортите Primalba и Willamette одгледувани како насад во РС Македонија покажуваат многу висок биолошки потенцијал и содржат бројни биоактивни соединенија кои имаат изразено поволно влијание врз здравјето на луѓето.

КОРИСТЕНА ЛИТЕРАТУРА

1. A.V., & Snyder, D. M. (2010). Raspberries and human health: A review. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 58(7):3871-83. doi: 10.1021/jf903484g. PMID: 20178390.
2. Ali, L. (2012). Pre-harvest factors affecting quality and shelf-life in raspberries and blackberries (*Rubus* spp. L.). (Doctoral Thesis, Swedish University of Agricultural Sciences, Alnarp, Sweden). <https://publications.slu.se/?file=publ/show&id=78525>
3. Antonius-Klemola, K. (1999). Molecular markers in *Rubus* (Rosaceae) research and breeding. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, Antonius-Klemola, K. (1999). Molecular markers in *Rubus* (Rosaceae) research and breeding. *Journal of Horticultural Science & Biotechnology*, 74, 149-160, [https://www.semanticscholar.org/paper/Molecular-markers-in-Rubus-\(Rosaceae\)-research-and-Antonius-Klemola/a57edf8a768fd5459d552d02f8f59dde331da387](https://www.semanticscholar.org/paper/Molecular-markers-in-Rubus-(Rosaceae)-research-and-Antonius-Klemola/a57edf8a768fd5459d552d02f8f59dde331da387)
4. Aprea, E., Biasioli, F., & Gasperi, F. (2015). Volatile compounds of raspberry fruit: From analytical methods to biological role and sensory impact. *Molecules*, 20(11), 1862–1882. www.mdpi.com/1420-3049/20/11/1862
5. Arab, Lenore & Liu, Weiqing & Elashoff, David. (2009). Green and Black Tea Consumption and Risk of Stroke A Meta-Analysis. *Stroke; a journal of cerebral circulation*. 40. 1786-92. 10.1161/STROKEAHA.108.538470.
6. Azwanida, N. N. (2015). A review on the extraction methods use in medicinal plants, principle, strength and limitation. *Medicinal & Aromatic Plants*, 4(3), <https://doi.org/10.4172/2167-0412.1000196>
7. Ball, J. (2001). Mind your P's and K's. *Ag News and Reviews Soils and Crops*. Retrieved from <http://www.noble.org/ag/soils/psandks/>
8. Baranowska, A., Mystkowska, I., Zarzecka, K., & Gugala, M. (2017). Cenne owoce maliny właściwej (*Fructus Rubi idaei*). *Herbalism*, 3 (1):70-79. <https://doi.org/10.12775/HERB.2017.005>.
9. Baviskar, B. A., Khadabadi, S. S., Deore, S. L., & Shiradkar, M. R. (2012). Synthesis of clubbed triazolyl indeno[1,2-C]isoquinolines as a novel anticancer agent. *Der Pharmacia Sinica*, 3(3), 337-344, DOI:10.1002/chin.201350174.
10. Beattie, J., Crozier, A., & Duthie, G.G. (2005). Potential health benefits of berries. *Current Nutrition & Food Science*, DOI:10.2174/1573401052953294

11. Bloom, O. J., McDiarmid, T., & Scoville, C. (2002). Do antioxidants (vitamins C, E) improve outcomes in patients with coronary artery disease? *Journal of Family Practice*, 51(1), 12–15.
12. Bobinaitė, R., Viškelis, P., & Venskutonis, P. R. (2020). Variation of total phenolics, anthocyanins, ellagic acid and radical scavenging capacity in various raspberry (*Rubus* spp.) cultivars. *Food Chemistry*, 246, 170–176. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.11.064>
13. Bojkovska, K., Jankulovski, N., Mihajlovski, G., & Momirceski, J. (2020). Analysis of market opportunities for raspberry production in the Republic of North Macedonia. *Journal of Agricultural Economics and Rural Development. International Journal of Research-Granthaalayah*, 8(12):149-154. DOI:10.29121/granthaalayah.v8.i12.2020.2698.
14. Bojkovska, K., Joshevska, F., Tosheva, E., & Momirceski, J. (2021). Global raspberries market trends and their impact on the Macedonian raspberries market. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 23(1), 101–110. www.jagst.journals/
15. Bradshaw, H. D., & Schemske, D. W. (2003). Allele substitution at a flower colour locus produces a pollinator shift in monkeyflowers. *Nature*, 426, 176–178. <https://doi.org/10.1038/nature02038>
16. Bravo, L. (1998). Polyphenols: Chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. *Nutrition Reviews*, 56(11), 317–333. <https://doi.org/10.1111/j.1753-4887.1998.tb01670.x>
17. Brighente, I. M. C., Dias, M., Verdi, L. G., & Pizzolatti, M. G. (2007). Antioxidant activity and total phenolic content of some Brazilian species. *Pharmaceutical Biology*, 45(2), 156–161. <https://doi.org/10.1080/13880200701254183>
18. Bristow, P. R. (1991). Fruit and flower diseases caused by fungi: Botrytis fruit rot (gray mold) and blossom blight. In M. A. Ellis, R. H. Converse, R. N. Williams & B. Williamson (Eds.), *Compendium of Raspberry and Blackberry Diseases and Insects* (pp. 20-22). St. Paul, Minnesota: APS Press.
19. Burton-Freeman, B. M., Sandhu, A. K., & Edirisinghe, I. (2016). Red raspberries and their bioactive polyphenols: Cardiometabolic and neuronal health links. *Advances in Nutrition*, 7(1), 44-65.
20. Bushway, L., Pritts, M., & Handley, D. (2008). *Bramble production guide* (NRAES-35). Northeast Regional Agricultural Engineering Service, Cooperative Extension, Ithaca, N.Y. <https://hdl.handle.net/1813/66930>
21. Can, A., Ozcelik, B., & Gunes, G. (2005). Antioxidant capacities of fruits and vegetables. In *GAP IV Agricultural Congress Proceedings*, 56(11):4757-4774.

doi: 10.1007/s13197-019-03952-x

22. Cao, G. H., & Prior, R. L. (1999). Anthocyanins are detected in human plasma after oral administration of an elderberry extract. *Clinical Chemistry*, 45(4):574-6. PMID: 10102922.
23. Cao, K., Cui, L. R., Zhou, X. T., Ye, L., Zou, Z. R., & Deng, S. L. (2016). Four tomato FLOWERING LOCUS T-like proteins act antagonistically to regulate floral initiation. *Frontiers in Plant Science*, 6, 1213. <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.01213>
24. Carew, J. G., Mahmood, K., Darby, J., Hadley, P., & Battey, N. H. (2001). The effect of low temperature on the vegetative growth and flowering of the primocane fruiting raspberry 'Autumn Bliss'. *Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 76(3), 264-270, DOI:10.1080/14620316.2001.11511361
25. Challies, E. R. T. (2010). Agri-food globalisation and rural transformation in Chile: Smallholder livelihoods in the global value chain for raspberries. Victoria University of Wellington.
<http://researcharchive.vuw.ac.nz/bitstream/handle/10063/1389/thesis.pdf?sequence=1>
26. Challies, E. R. T., & Murray, W. E. (2011). The interaction of global value chains and rural livelihoods: The case of smallholder raspberry growers in Chile. *Journal of Agrarian Change*, 11(1), 29-59.
http://www.clas.ufl.edu/users/reneemarie/Removable%20Disk/LIT/VALUE%20CHAINS/Challies%20and%20Murray%202011%20The%20interaction%20of%20GVCs%20and%20rural%20livelihoods_comments.pdf
27. Chemat, F., Rombaut, N., Sicaire, A. G., Meullemiestre, A., Fabiano-Tixier, A. S., & Abert-Vian, M. (2017). Ultrasound assisted extraction of food and natural products: Mechanisms, techniques, combinations, protocols and applications. *Ultrasonics Sonochemistry*, 34, 540-560, <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2016.06.035>.
28. Chemat, F., Tomao, V., & Viot, M. (2008). Ultrasound assisted extraction in food analysis. In S. Otlés (Ed.), *Handbook of Food Analysis Instruments* (pp. 85-103). CRC Press.
29. Cherniack, E. P. (2011). Polyphenols: Planting the seeds of treatment for the metabolic syndrome. *Nutrition*, 27(6), 617-623, <https://doi.org/10.1016/j.nut.2010.10.013>
30. Clifford, M. N., & Scalbert, A. (2000). Ellagitannins—Nature, occurrence and dietary burden. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80(7), 1118-1125, DOI:10.1002/(SICI)1097-0010(20000515)80:7<1118::AID-JSFA570>3.0.CO;2-9.

31. Contreras-Guzman, E. S., & Strong, F. C. (1982). Determination of tocopherols (Vitamin E) by reduction of cupric ion. *Journal of the Association of Official Analytical Chemists*, 65(5), 1215-1222, <https://doi.org/10.1007/s13197-011-0251-1>
32. Cosme, F., Pinto, T., Aires, A., Morais, M. C., Bacelar, E., Anjos, R., ... & Gonçalves, B. (2022). Red fruits composition and their health benefits—A review. *Foods*, 11(1), 35, <https://doi.org/10.3390/foods11050644>
33. Cowan, M. M. (1999). Plant products as antimicrobial agents. *Clinical Microbiology Reviews*, 12(4), 564-582, <https://doi.org/10.1128/CMR.12.4.564>.
34. Crandall, P. (1995). *Bramble production: The management and marketing of raspberries and blackberries*. Food Products Press.
35. Darrow, G. M. (1937). *Blackberry and Raspberry Improvement*. United States Department of Agriculture Yearbook of Agriculture, 496-533, <https://www.semanticscholar.org/paper/Blackberry-and-raspberry-improvement.-Darrow/b404010811c313b18ac794d9461a02c254c5a59c>
36. Daubeny, H. A. (1996). Brambles. In J. Janick & J. N. Moore (Eds.), *Fruit Breeding Volume 11: Vines and Small Fruits* (pp. 109-190). Hoboken, NJ: John Wiley, <https://doi.org/10.1002/9780470650301.ch8>, .
37. Dolan, A. (2018). Pathogen Testing Requirements for Raspberry Material Entering the EU Certification Scheme. In J. Graham & R. Brennan (Eds.), *Raspberry: Breeding, Challenges and Advances*. Springer International Publishing, 10.1007/978-3-319-99031-6..
38. Dossett, M., Bassil, N. V., Lewers, K. S., & Finn, C. E. (2012). Genetic diversity in wild and cultivated black raspberry (*Rubus occidentalis* L.) evaluated by simple sequence repeat markers. *Genetic Resources and Crop Evolution*.
39. Dossett, M., Lee, J., & Finn, C. E. (2008). Inheritance of phenological, vegetative, and fruit chemistry traits in Black raspberry. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 133:408-417. DOI:10.21273/JASHS.133.3.40.
40. Dossett, M., Lee, J., & Finn, C. E. (2010). Variation in anthocyanins and total phenolics of black raspberry populations. *Journal of Functional Foods*, DOI:10.1016/j.jff.2010.10.004.
41. Dossett, M., Lee, J., & Finn, C. E. (2011). Characterization of a novel anthocyanin profile in wild black raspberry mutants: An opportunity for studying the genetic control of pigment and color. *Journal of Functional Foods*, DOI:10.1016/j.jff.2011.04.003.
42. Duan, Z., Cai, G., Li, J., & Chen, X. (2020). Cisplatin-induced renal toxicity in elderly people. *Therapeutic Advances in Medical Oncology*,

<https://doi.org/10.1177/1758835920923430>

43. Dujmović Purgar, D., Duralija, B., Voća, S., Vokurka, A., & Ercisli, S. (2012). A comparison of fruit chemical characteristics of two wild grown *Rubus* species from different locations of Croatia. *Molecules*, DOI: 10.3390/molecules170910390.
44. Đukić, M. M. (2008). Oksidativni stres - slobodni radikali, prooksidansi i antioksidansi. *Mono i Manjana*, Beograd.
45. Duncan, D. B. (1955). Multiple range and multiple F tests. *Biometrics*, 11, 1-42.
<http://dx.doi.org/10.2307/3001478>
46. EC Commission. (2006). Report from the commission to the council and the European Parliament on the situation of the sector of soft fruits and cherries intended for processing. Review of the Sector of Soft Fruits and Cherries Intended for Processing in the EU, Commission of the European Communities. Brussels, Commission staff working document. Retrieved from
http://ec.europa.eu/agriculture/publi/reports/fruitveg/softfruit/workdoc_en.pdf
47. Eyduran, S. P., & Agaoglu, Y. S. (2006). A preliminary examination regarding ten raspberry cultivars. *Research Journal of Agriculture and Biological Sciences*,
https://www.researchgate.net/publication/238752487_A_Preliminary_Examination_Regardin_g_Ten_Raspberry_Cultivars
48. Farmer Service. (2012). Introduction of Raspberry.
<http://www.farmerservice.com/category/article/fruits/raspberry-76/introduction-of-raspberry-94>
49. Felgines, C., Talavera, S., Gonthier, M. P., Texier, O., Scalbert, A., Lamaison, J. L., & Remesy, C. (2003). Strawberry anthocyanins are recovered in urine as glucuro- and sulfoconjugates in humans. *Journal of Nutrition*, 133(5), 1296-1301.
50. Fernandez, G., Louws, F., Ballington, J., & Poling, B. (2014). Growing Raspberries in North Carolina. North Carolina State University Cooperative Extension. Publication AG-569,
<https://content.ces.ncsu.edu/raspberries-in-the-home-garden>
51. Finn, C. C., & Hancock, J. F. (2008). Raspberries. In J. F. Hancock (Ed.), *Temperate Fruit Crop Breeding: Germplasm to Genomics*. Springer Netherlands.
52. Forney, C. F., Jamieson, A. R., Pennell, K. D. M., Jordan, M. A., & Fillmore, S. A. E. (2015). Relationships between fruit composition and storage life in air or controlled atmosphere of red raspberry. *Postharvest Biology and Technology*, DOI:10.1016/j.postharvbio.2015.07.017.

53. Galletta, G., & Himelrick, D. (1990). *Small Fruit Crop Management*. Prentice Hall, Englewood Cliffs, N.J.
54. Gasperotti, M., Masuero, D., Vrhovsek, U., Guella, G., & Mattivi, F. (2010). Profiling and accurate quantification of *Rubus* ellagitannins and ellagic acid conjugates using direct UPLC-Q-TOF HDMS and HPLC-DAD analysis. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, DOI: 10.1021/jf904543w.
55. Giovanelli, G., Limbo, S., & Buratti, S. (2014). Effects of new packaging solutions on physico-chemical, nutritional and aromatic characteristics of red raspberries (*Rubus idaeus* L.) in post-harvest storage. *Postharvest Biology and Technology*, 98:72–81 DOI:10.1016/j.postharvbio.2014.07.002.
56. Giuggioli, N. R., Briano, R., Baudino, C., & Peano, C. (2015). Effects of packaging and storage conditions on quality and volatile compounds of raspberry fruits. *CyTA—Journal of Food*, 13(4):1-10, DOI:10.1080/19476337.2015.1011238.
57. González-Barrio, R., Borges, G., Mullen, W., & Crozier, A. (2010). Bioavailability of anthocyanins and ellagitannins following consumption of raspberries by healthy humans and subjects with an ileostomy. *J Agric Food Chem*, DOI: 10.1021/jf100315d.
58. González-Barrio, R., Edwards, C. A., & Crozier, A. (2011). Colonic catabolism of ellagitannins, ellagic acid, and raspberry anthocyanins: in vivo and in vitro studies. *Drug Metab Dispos*.
59. González-Orozco, B. D., Mercado-Silva, E. M., Castaño-Tostado, E., Vázquez-Barrios, M. E., & Rivera-Pastrana, D. M. (2020). Effect of short-term controlled atmospheres on the postharvest quality and sensory shelf life of red raspberry (*Rubus idaeus* L.). *J. Food*, DOI:10.1080/19476337.2020.1758216.
60. Graham, J., & Brennan, R. (2018). Introduction to the *Rubus* Genus. In *Raspberry: Breeding, Challenges and Advances*, DOI:10.1007/978-3-319-99031-6_1.
61. Graham, J., Hackett, C. A., Smith, K., Woodhead, M., Hein, I., & McCallum, S. (2009). Mapping QTLs for developmental traits in raspberry from bud break to ripe fruit. *Theoretical and Applied Genetics*, 118, DOI: 10.1007/s00122-009-0969-6
62. Graham, J., Smith, K., MacKenzie, K., Jorgenson, L., Hackett, C., & Powell, W. (2004). The construction of a genetic linkage map of red raspberry (*Rubus idaeus* subsp. *idaeus*) based on AFLPs, genomic-SSR and EST-SSR markers. *Theoretical and Applied Genetics*, 109(4), 740-749, DOI: 10.1007/s00122-004-1687-8.

63. Graham, J., Smith, K., McCallum, S., Hedley, P. E., Cullen, D. W., Dolan, A., Milne, L., McNicol, J. W., & Hackett, C. A. (2015). Towards an understanding of the control of 'crumbly' fruit in red raspberry. *Springerplus*, 4, 4, 223.
<https://doi.org/10.1186/s40064-015-1010-y>
64. Gu, S. (2010). *Organic Vegetable Gardening Techniques*. University of Missouri Extension. Bul. G6220.
65. Gulcin, I. (2012). Antioxidant activity of food constituents: an overview. *Arch Toxicol*, DOI: 10.1007/s00204-011-0774-2.
66. Guo, Zt., Luo, Xq., Liang, Jp., Yang, Z., & Ai, X. (2015). Comparative study on extraction of febrifugine from traditional Chinese medicine *Dichroa febrifuga* by reflux method and ultrasonic method. *Shizhen Guoyi Guoyao*.
67. Häkkinen, S. H., & Törrönen, A. R. (2000). Content of flavonols and selected phenolic acids in strawberries and *Vaccinium* species: Influence of cultivar, cultivation site, and technique. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(12), 5338–5342.
<https://doi.org/10.1021/jf0005955>
68. Hall, H., & Kempler, C. (2011). Raspberry breeding. *Fruit, Vegetable and Cereal Science and Biotechnology*, 5(1), 44–62.
<https://www.globalsciencebooks.info/Online/GSBOnline>
69. Hall, H., Hummer, K. E., Jamieson, A., Jennings, S., & Weber, C. (2009). Raspberry breeding and genetics. In *Plant Breeding Reviews* (pp. 39–109).
<https://doi.org/10.1002/9780470593783.ch2>
70. Hanson, E., D. Brown-Rytlewski. (2014). *Raspberry Variety Choices for Michigan*. Michigan State University Fact Sheet.
http://msue.anr.msu.edu/uploads/files/AABI/raspberry_variety_factsheet-final.pdf.
71. He, K., Li, X., Chen, X., et al. (2011). Evaluation of antidiabetic potential of selected traditional Chinese medicines in STZ-induced diabetic mice. *Journal of Ethnopharmacology*, 137(3), 1135–1142. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2011.07.033>
72. Heiberg, N. (2002). Effect of vegetation control and nitrogen fertilization in red raspberry. *Acta Horticulturae*, 585, 477–482.
<https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2002.585.71>
73. Heide, O., & Sønsteby, A. (2011). Physiology of flowering and dormancy regulation in annual- and biennial-fruited red raspberry (*Rubus idaeus* L.) - A review. *Journal of Horticultural Science & Biotechnology*, 86(6), 433–442.
<https://doi.org/10.1080/14620316.2011.11512899>

74. Heidenreich, C., Pritts, M., Demchak, K., Hanson, E., Weber, C., & Kelley, M. (2012). High tunnel raspberries and blackberries. Cornell University Publication No. 47. <https://www.hort.cornell.edu/>(<https://www.hort.cornell.edu/>
75. Hinneburg, I., Dorman, H. J. D., & Hiltunen, R. (2006). Antioxidant activities of extracts from selected culinary herbs and species. *Food Chemistry*, 97(1), 122–129. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.03.028>
76. Holcroft, D. M., & Kader, A. A. (1999). Controlled atmosphere-induced changes in pH and organic acid metabolism may affect the color of stored strawberry fruit. *Postharvest Biology and Technology*, 17(1), 19–32. [https://doi.org/10.1016/S0925-5214\(99\)00030-9](https://doi.org/10.1016/S0925-5214(99)00030-9)
77. Horuz, A., Korkmaz, A., Karaman, M. R., Dizman, M., & Turan, M. (2013). The evaluation of leaf nutrient contents and element ratios of different raspberry varieties. *Journal of Food Agriculture and Environment*.
78. Hoyt, A., Luukkonen, J., Juutilainen, J., Naarala, J., & Title, P. (2008). Proliferation, Oxidative Stress and Cell Death in Cells Exposed to 872 MHz Radiofrequency Radiation and Oxidants. *Journal of Radiation Research*.
79. Hsu, C. K., Chiang, B.-H., Chen, Y.-S., Yang, J. H., & Liu, C. L. (2008). Improving the antioxidant activity of buckwheat (*Fagopyrum tataricum* Gaertn) sprout with trace element water. *Food Chemistry*.
80. <http://vocarstvo.rs/literatura>
81. <http://www.caritas.ba/dok/1418119408.pdf>
82. <https://data.un.org/Data.aspx?d=FAO&f=itemCode%3A547>
83. Huang, D. J., Ou, B. X., & Prior, R. L. (2005). The chemistry behind antioxidant capacity assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(6), 1841–1856. <https://doi.org/10.1021/jf030723c>
84. Hummer, K. (2010). *Rubus* pharmacology: Antiquity to the present. *HortScience*, 45(11), 1587–1591. <https://doi.org/10.21273/HORTSCI.45.11.1587>
85. Isah, T. (2019). Stress and defense responses in plant secondary metabolites production. *Biology Research*, 52(1), Article 39. <https://doi.org/10.1186/s40659-019-0246->
86. Itharat, A., Houghton, P. J., Eno-Amooquaye, E., Burke, P. J., Sampson, J. H., & Raman, A. (2004). In vitro cytotoxic activity of Thai medicinal plants used traditionally to treat cancer. *Journal of Ethnopharmacology*, 90(1), 33–38. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2003.09.015>

87. Jarvis, W. R. (1962). Infection of strawberry and raspberry fruits by *Botrytis cinerea* Fr. *Annals of Applied Biology*, 50(3), 569–575. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7348.1962.tb06076.x>
88. Jennings, D. L. (1988). *Raspberries and Blackberries: Their Breeding, Diseases and Growth*. London: Academic Press Limited.
89. Juranić, Z., Žižak, Z., Tasić, S., Petrović, S., Nidzović, S., Laposavić, A., & Stanojković, T. (2005). Antiproliferative action of water extracts of seeds or pulp of five different raspberry cultivars. *Food Chemistry*, 93, 39–45.
90. Kalt, W., Forney, C. F., Martin, A., & Prior, R. L. (1999). Antioxidant capacity, vitamin C, phenolics, and anthocyanins after fresh storage of small fruits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47(11), 4638–4644. <https://doi.org/10.1021/jf990266t>
91. Kähkönen, M., Kylli, P., Ollilainen, V., Salminen, J. P., & Heinonen, M. (2012). Antioxidant activity of isolated ellagitannins from red raspberries and cloudberries. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(5):1167-74. DOI:10.1021/jf203431g.
92. Kedare, S. B., & Singh, R. P. (2011). Genesis and development of DPPH method of antioxidant assay. *Journal of Food Science and Technology*, 48(4), 412–422. <https://doi.org/10.1007/s13197-011-0251-1>
93. Keep, E. (1988). Primocane (autumn)-fruiting raspberries: A review with particular reference to progress in breeding. *Journal of Horticultural Science*, 63(1), 1–18. <https://doi.org/10.1080/14620316.1988.11515810>
94. Khoo, H. E., Azlan, A., Tang, S. T., & Lim, S. M. (2017). Anthocyanidins and anthocyanins: Colored pigments as food, pharmaceutical ingredients, and the potential health benefits. *Food and Nutrition Research*, 61, Article 1361779. <https://doi.org/10.1080/16546628.2017.1361779>
95. Kim, D.-O., & Padilla-Zakour, O. I. (2006). Jam processing effect on phenolics and antioxidant capacity in anthocyanin-rich fruits: Cherry, plum, and raspberry. *Journal of Food Science*, 71(1), S47–S51. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2006.tb08922>.
96. Kljajić, N. (2012). *Ekonomska efikasnost investicija u različitim uslovima proizvodnje maline* [Doctoral dissertation, Univerzitet u Novom Sadu, Poljoprivredni fakultet].
97. Kljajić, N. (2014). Efficiency of invest in milk production. Belgrade, 7–17.
98. Kljajić, N. (2014). *Efikasnost investicija u proizvodnji maline*. Beograd: Institut za ekonomiku poljoprivrede.

99. Knight, J. A. (1995). Diseases related to oxygen-derived free radicals. *Annals of Clinical and Laboratory Science*.
100. Koester, K., & Pritts, M. (2003). *Greenhouse Raspberry Production Guide*. Cornell University Department of Horticulture, Publication 23.
101. Krüger, E., Schöpplein, E., Rasim, S., Cocca, G., & Fischer, H. (2003). Effects of ripening stage and storage time on quality parameters of red raspberry fruit. *European Journal of Horticultural Science*, 68(4), 176–181. <https://www.pubhort.org/ejhs/68/4/176-181.pdf>
102. Kumar, R., Khurana, A., & Sharma, A. K. (2014). Role of plant hormones and their interplay in development and ripening of fleshy fruits. *Journal of Experimental Botany*, 65(16), 4561–4575. <https://doi.org/10.1093/jxb/eru277>
103. Kumarasamy, Y., Byres, M., Cox, P. J., Jaspars, M., Nahar, L., & Sarker, S. D. (2007). Screening seeds of some Scottish plants for free-radical scavenging activity. *Phytotherapy Research*, 21(7), 615–621, <https://doi.org/10.1002/ptr.2120>
104. Laleh, G. H., Frydoonfar, H., Heidary, R., Jameei, R., & Zare, S. (2006). The effect of light, temperature, pH, and species on the stability of anthocyanin pigments in four Berberis species. *Pakistan Journal of Nutrition*, 5(1), 90–92, <https://doi.org/10.3923/pjn.2006.90.92>
105. Lamont Jr., W., Harper, J., Jarrett, M., Orzolek, M., Crassweller, R., Demchak, K., & Greaser, G. (2015). *Agricultural Alternatives: Irrigation for Fruit and Vegetable Production*. Penn State Extension, Publication UA282. <https://extension.psu.edu/irrigation-for-fruit-and-vegetable-production>
106. Larrosa, M., García-Conesa, M. T., Espín, J. C., & Tomás-Barberán, F. A. (2010). Ellagitannins, ellagic acid, and vascular health. *Molecular Aspects of Medicine*, 31(6), 513–539, <https://doi.org/10.1016/j.mam.2010.09.005>
107. Lawson, H. M., & Waister, P. D. (1972). The response to nitrogen of a raspberry plantation under contrasting systems of management for weed and sucker control. *Horticultural Research*, 12(2), 89–98.
108. Lee, J., Dossett, M., & Finn, C. E. (2012). Rubus fruit phenolic research: The good, the bad, and the confusing. *Food Chemistry*, 130(4), 785–796, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.08.022>
109. Lepasovic, A., Jankovic, M., Đurovic, D., Veljkovic, B., Keserovic, Z., & Popovic, B. (2013). Fruit quality of red raspberry cultivars and selections grown in Western Serbia. *Horticultural Science (Prague)*, 40(4), 155–162, <https://doi.org/10.17221/141/2013-HORTSCI>

110. Lepasovic, A., Djurovic, D., Keserovic, Z., Popovic, B., Mitrovic, O., Miletic, N., & Magazin, N. (2013). Evaluation of raspberry cultivars grown in the western Serbia region. *Horticultural Science*, 40(3), 105–112, <https://doi.org/10.17221/57/2013-HORTSCI>
111. Leroux, P. (2015). Chemical control of Botrytis and its resistance to chemical fungicides. In Fillinger, S. & Elad, Y. (Eds.), *Botrytis: Biology, Pathology and Control* (pp. 103–120). Springer, https://doi.org/10.1007/978-3-319-24031-8_6
112. Lu, Q., Miles, C., Tao, H., & De Vetter, L. W. (2022). Reduced nitrogen fertilizer rates maintained raspberry growth in an established field. *Agronomy*, 12(5), Article 1223, <https://doi.org/10.3390/agronomy12051223>
113. Lu, Q., Miles, C., Tao, H., & De Vetter, L. W. (2022). Evaluation of real-time nutrient analysis of fertilized raspberry using petiole sap. *Frontiers in Plant Science*, 13, Article 951645, <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.951645>
114. Clifford, M. N. (2000). Anthocyanins – nature, occurrence, and dietary burden. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80(7), 1063–1072. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0010\(20000515\)80:7<1063::AID-JSFA597>3.0.CO;2-Q](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0010(20000515)80:7<1063::AID-JSFA597>3.0.CO;2-Q)
115. Manohar, S., & Leung, N. (2018). Cisplatin nephrotoxicity: A review of the literature. *Journal of Nephrology*, 31(1), 15–25, <https://doi.org/10.1007/s40620-017-0392-z>
116. Marinkovic, D., Djurovic, S., Markovic, S., & Kempler, C. (2008). Response of seven red raspberry cultivars to the environmental conditions of Northern Serbia. *Journal of the American Pomological Society*, 62(3), 98–105.
117. Máthé, C., Bohács, A., Duffek, L., Lukácsovits, J., Komlósi, Z. I., Szondy, K., Horváth, I., Müller, V., & Losonczy, G. (2011). Cisplatin nephrotoxicity aggravated by cardiovascular disease and diabetes in lung cancer patients. *European Respiratory Journal*, 37(4), 888–895, <https://doi.org/10.1183/09031936.00040610>
118. Mattila, P., Hellström, J., & Törrönen, R. (2006). Phenolic acids in berries, fruits, and beverages. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(19), 7193–7199, <https://doi.org/10.1021/jf0615247>
119. Miletic, N., Lepasovic, A., Popovic, B., Mitrovic, O., & Kandić, M. (2015). Chemical and antioxidant properties of fully matured raspberry fruits (*Rubus idaeus* L.) picked at different moments of the harvesting season. *Proceedings of the II International Symposium on Horticulture in Europe, Acta Horticulturae*, 1099, 211–218, <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2015.1099.27>
120. Millenaar, F. F., & Lambers, H. (2003). The alternative oxidase: In vivo regulation and function. *Plant Biology*, 5(1), 2–15, <https://doi.org/10.1055/s-2003-38581>

120. Momirceski, J., Tomovska, D., Arapceska, M., & Joveska, S. (2024). Chemical monitoring of soil as a basis in technology production of Primalba and Willamette raspberry varieties. *International Journal of Research in Engineering and Science (IJRES)*, 12(1), 294–300. <https://www.ijres.org/papers/Volume-12/Issue-1/1201294300.pdf>
121. Momirceski, J., & Tomovska, J. (2024). Chemical analysis of the land for the growth of raspberries in Macedonia. In *Proceedings of the Jeep International Scientific Agribusiness Conference, MAK 2024: Food for the Future – Vision of Serbia, Region, and Southeast Europe* (pp. 253–260). Institute for Plant Protection and Environment, Belgrade, Serbia. [http://www.gegula.rs/wpcontent/uploads/2024/02/Zbornik_EN_ok.pdf] (http://www.gegula.rs/wp-content/uploads/2024/02/Zbornik_EN_ok.pdf)
122. Momirchevski, J., Tomovska, J., Blazhekovikj, & Dimovska, D. (2019). Soil examination and recommendations for creating better conditions for raspberry raising. *Food and Environment Safety: Journal of Faculty of Food Engineering, Stefan cel Mare University of Suceava, Romania*, 18(2), 105–110. <http://fens.usv.ro/index.php/FENS/article/view/643>
123. Moore, P. P. (1993). Variation in drupelet number and drupelet weight among raspberry clones in Washington. *Acta Horticulturae (ISHS)*, 352, 85–90. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.1993.352.10>
124. Mukaetov, D. (2013). *Soil Fertility*. UKIM, Agricultural Institute – Skopje.
125. Mullen, W., McGinn, J., Lean, M. E., MacLean, M. R., Gardner, P., & Duthie, G. G. (2002). Ellagitannins, flavonoids, and other phenolics in red raspberries and their contribution to antioxidant capacity and vasorelaxation properties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(18), 5191–5196, <https://doi.org/10.1021/jf025526h>
126. Mullen, W., Stewart, A. J., Lean, M. E., Gardner, P., Duthie, G. G., & Crozier, A. (2002). Effect of freezing and storage on the phenolics, ellagitannins, flavonoids, and antioxidant capacity of red raspberries. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(18), 5197–5201. <https://doi.org/10.1021/jf020141t>
127. Mullen, W., Yokota, T., Lean, M. E., & Crozier, A. (2003). Analysis of ellagitannins and conjugates of ellagic acid and quercetin in raspberry fruits by LC-MS/MSn. *Phytochemistry*, 64(2), 617–624. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(03\)00354-9](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(03)00354-9)
128. Mut-Salud, N., Álvarez, P. J., Garrido, J. M., Carrasco, E., Aránega, A., & Rodríguez-Serrano, F. (2016). Antioxidant intake and antitumor therapy: Toward nutritional recommendations for optimal results. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2016, 6719534. <https://doi.org/10.1155/2016/6719534>

129. Nathan, M., Stecker, J., Erwin, E., Dunn, J., Warmund, M., Trinklein, D., Rothenberger, R., Schraf, P., & Lee, T. (1999). *Soil Test Interpretations and Recommendation Guide: Commercial Fruits, Vegetables, and Turf*. University of Missouri Extension.
130. NIAB EMR. (2016). NIAB EMR: What We Do. Retrieved from [http://www.emr.ac.uk/about-us/what-we-do/](<http://www.emr.ac.uk/about-us/what-we-do/>)
131. Niketich-Aleksich, G., & Hrazdina, G. (1972). Quantitative analysis of the anthocyanin content in grape juices and wines. *Lebensmittel Wissenschaft & Technologie*, 5(3), 155–160.
132. Olcott-Reid, B., & Reid, W. (2007). *Fruit and Nut Production*. Stipes Publishing L.L.C., Champaign, IL.
133. Pan, H., Gao, Y., & Tu, Y. (2016). Mechanisms of body weight reduction by black tea polyphenols. *Molecules*, 21(11), 1659. <https://doi.org/10.3390/molecules21111659>
134. Pantelidis, G., Vasilakakis, M., Manganaris, G., & Diamantidis, G. (2007). Antioxidant capacity, phenol, anthocyanin, and ascorbic acid contents in raspberries, blackberries, red currants, gooseberries, and Cornelian cherries. *Food Chemistry*, 102(3), 777–783. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.06.021>
135. Papp, J., Kobzos-Pápai, I., & Nagy, J. (1984). Effect of nitrogen application on yield, leaf nutrient status, and fruit chemical composition of raspberry and redcurrant varieties. *Acta Agronomica Academiae Scientiarum Hungaricae*, 33(1), 65–72.
136. Perkins-Veazie, P., & Nonnecke, G. (1992). Physiological changes during ripening of raspberry fruit. *HortScience*, 27(4), 331–333. <https://doi.org/10.21273/HORTSCI.27.4.331>
137. Petrović, S., Laposavić, A., & Jevremović, D. (2017). Raspberry – The management, processing, and marketing. *Scientific Pomological Society of Serbia, Čačak*, 1–258.
138. Pham-Huy, L. A., He, H., & Pham-Huy, C. (2008). Free radicals, antioxidants in disease and health. *International Journal of Biomedical Science*, 4(2), 89–96.
139. Plaxton, W., & McManus, M. T. (2008). Control of primary metabolism in plants. *Annual Plant Reviews*, John Wiley & Sons. <https://doi.org/10.1002/9781444302259>
140. Podsedek, A. (2007). Natural antioxidants and antioxidant capacity of Brassica vegetables: a review. *LWT. Food Science and Technology*, Volume 40, Issue 1, pages 1-11. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S002364380500188X>
141. Ponder, A., & Hallmann, E. (2019). Phenolics and carotenoid contents in the leaves of different organic and conventional raspberry (*Rubus idaeus* L.) cultivars and their in vitro activity. *Antioxidants*, 8(8), 230. <https://doi.org/10.3390/antiox8080230>

142. Ponder, A., Hallmann, E., & Średnicka-Tober, D. (2020). Antioxidant and antiproliferative properties of raspberry (*Rubus idaeus* L.) extracts and ellagic acid. *Journal of Food Science*, 85(2), 279–290. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.15012>
143. Pott, D. M., Osorio, S., & Vallarino, J. G. (2019). From central to specialized metabolism: An overview of some secondary compounds derived from the primary metabolism for their role in conferring nutritional and organoleptic characteristics to fruit. *Frontiers in Plant Science*, 10, 835. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00835>
144. Prieto, P., Pineda, M., & Aguilar, M. (1999). Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: Specific application to the determination of vitamin E. *Analytical Biochemistry*, 269(2), 337–341. <https://doi.org/10.1006/abio.1999.4019>
145. Prior, R. L., Wu, X., Gu, L., Hager, T. J., Hager, A., & Howard, L. R. (2008). Whole berries versus berry anthocyanins: Interactions with dietary fat levels in the C57BL/6J mouse model of obesity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(3), 647–653. <https://doi.org/10.1021/jf072317s>
146. Pritts, M. (2006). Raspberries and related fruit. Retrieved from [http://www.fruit.cornell.edu/berry/production/pdfs/rasprelfru.pdf] (<http://www.fruit.cornell.edu/berry/production/pdfs/rasprelfru.pdf>)
147. Pritts, M. (2008). Primocane-fruiting raspberry production. *HortScience*, 43(6), 1640–1642. <https://doi.org/10.21273/HORTSCI.43.6.1640>
148. Pritts, M., & Heidenreich, C. (2012). Leaf and soil analysis special edition. *New York Berry News*, 11(8b). Cornell University College of Agriculture and Life Sciences.
149. Quintanilla, A., Mencia, A., Powers, J., Rasco, B., Tang, J., & Sablani, S. S. (2022). Developing vacuum-impregnated dehydrofrozen red raspberries with improved mechanical properties. *Drying Technology*, 40(1), 165–177. <https://doi.org/10.1080/07373937.2020.1814867>
150. Rizzi, R., Silvestre, W. P., Rota, L. D., & Pauletti, G. F. (2019). Raspberry production with different NPK dosages in South Brazil. *Scientia Horticulturae*, 256, 108616. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2019.108616>
151. Riaz, M. N., & Bushway, A. A. (1996). Compositional analysis of four red raspberry cultivars grown in Maine. *Journal of Food Quality*. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1745-4557.1996.tb00441.x>
<https://colab.ws/articles/10.1111%2Fj.1745-4557.1996.tb00441.x>

152. Robbins, J. A., & Fellman, J. K. (1993). Postharvest physiology, storage and handling of red raspberry. *Postharvest News and Information*, 4(3), 31–34.
153. Robbins, J., Sjulín, T. M., & Patterson, M. (1989). Postharvest storage characteristics and respiration rates in five cultivars of red raspberry. *HortScience*, 24(6), 981–983.
154. Rouse, A. H., & Atkins, C. D. (1955). Pectinesterase and pectin in commercial citrus juices as determined by the method used at the Citrus Experiment Stations. *Florida Agricultural Experiment Station Bulletin*, 570, 1–19.
155. Republic of Macedonia (2009). Rulebook on analysis of inorganic fertilizers. Government of the Republic of Macedonia. Law of fertilizes, FAOLEX- Database.
<https://www.fao.org/faolex/results/details/en/c/LEX-FAOC167595/>
156. Sacks, E. J., & Shaw, D. V. (1993). Color change in fresh strawberry fruit of seven genotypes stored at 0°C. *HortScience*, 28(10), 1029–1031.
157. Sarker, S. D., Nahar, L., & Kumarasamy, Y. (2007). Microtitre plate-based antibacterial assay incorporating resazurin as an indicator of cell growth, and its application in the in vitro antibacterial screening of phytochemicals. *Methods*, 42(4), 321–324.
<https://doi.org/10.1016/j.ymeth.2007.01.006>
158. Sasidharan, S., Chen, Y., Saravanan, D., Sundram, K. M., & Yoga Latha, L. (2011). Extraction, isolation, and characterization of bioactive compounds from plant extracts. *African Journal of Traditional, Complementary, and Alternative Medicines*, 8(1), 1–10.
<https://doi.org/10.4314/ajtcam.v8i1.60483>
159. Savić, Lj. (2014). Metode ekstrakcije biljnih materijala: Uperedna analiza cirkulatorne ekstrakcije i ekstrakcije primenom superkritičnog ugljen-dioksida. *Lekovite Sirovine*, 34, 43–52.
160. Sawicka, B., Barbaś, P., Skiba, D., Krochmal-Marczak, B., & Pszczółkowski, P. (2023). Evaluation of the quality of raspberries (*Rubus idaeus* L.) grown in balanced fertilization conditions. *Commodities*, 2(3), 220–245.
<https://doi.org/10.3390/commodities2030014>
161. Seeram, N. P., Momin, R. A., Nair, M. G., & Bourquin, L. D. (2001). Cyclooxygenase inhibitory and antioxidant cyanidin glycosides in cherries and berries. *Phytomedicine*, 8(5), 362–369. <https://doi.org/10.1078/094471101750290651>
162. Selma, M. V., Tomas-Barberan, F. A., Beltran, D., Garcia-Villalba, R., & Espin, J. C. (2014). *Gordonibacter urolithinifaciens* sp. nov., a urolithin-producing bacterium isolated from the human gut. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 64(11), 2346–2352. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.062984-0>

163. Sheavly, M., Brewer, L., & Doherty, F. (2011). Getting the most out of your raspberry soil test report. Cornell University.
164. Shebis, Y., Iluz, D., Kinel-Tahan, Y., Dubinsky, Z., & Yehoshua, Y. (2013). Natural antioxidants: Function and sources. *Food & Nutrition Sciences*, 4(6), 643–649. <https://doi.org/10.4236/fns.2013.46083>
165. Sheng, R., Gu, Z. L., Xie, M. L., Zhou, W. X., & Guo, C. Y. (2009). EGCG inhibits proliferation of cardiac fibroblasts in rats with cardiac hypertrophy. *Planta Medica*, 75(10), 1130–1135, <https://doi.org/10.1055/s-0029-1185622>
166. Simpson, C. G., Cullen, D. W., Hackett, C. A., Smith, K., Hallett, P. D., McNicol, J., Graham, J. (2017). Mapping and expression of genes associated with raspberry fruit ripening and softening. *Theoretical and Applied Genetics*, 130(8), 1559–1576. <https://doi.org/10.1007/s00122-017-2901-6>
167. Singleton, V. L., & Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16(3), 144–158.
168. Sonstebly, A., & Heide, O. M. (2009). Effects of photoperiod and temperature on growth and flowering in the annual (primocane) fruiting raspberry (*Rubus idaeus* L.) cultivar 'Polka'. *Journal of Horticultural Science & Biotechnology*, 84(4), 439–446. <https://doi.org/10.1080/14620316.2009.11512548>
169. Spiers, J. M., Braswell, J. H., & Gupton, C. L. (1999). Influence of P, K, Ca, and Mg rates on leaf elemental concentration and plant growth of 'Dormanred' raspberry. *Acta Horticulturae (ISHS)*, 505, 247–252, <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.1999.505.28>
170. Stančev, H. S. (1991). Studied the cultivation and some properties of raspberry cultivars and elites in the Trojan region. [Ph.D. Thesis.] Research Institute of Mountain Stockbreeding and Agriculture.
171. Stavang, J. A., Freitag, S., Foito, A., Verrall, S., Heide, O. M., Stewart, D., et al. (2015). Raspberry fruit quality changes during ripening and storage assessed by colour, sensory evaluation, and chemical analyses. *Scientia Horticulturae*, 195, 216–225, <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2015.09.028>
172. Stephens, M. J., Alspach, P., Hall, H. K., & Kempler, C. (2002). Red Raspberry – Grey mould resistance from *Rubus* species. *Acta Horticulturae (ISHS)*, 585, 485–490. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2002.585.80>
173. Takao, T., Kitatani, F., Watanabe, N., Yagi, A., & Sakata, K. (1994). A simple screening method for antioxidants and isolation of several antioxidants produced by marine

- bacteria from fish and shellfish. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 58(10), 1780–1783, <https://doi.org/10.1271/bbb.58.1780>
174. Talavera, S., Felgines, C., Texier, O., Besson, C., Manach, C., Lamaison, J. L., & Remesy, C. (2004). Anthocyanins are efficiently absorbed from the small intestine in rats. *Journal of Nutrition*, 134(9), 2275–2279, <https://doi.org/10.1093/jn/134.9.2275>
175. Tang, Z., Li, M., Zhang, X., & Hou, W. (2016). Dietary flavonoid intake and the risk of stroke: A dose-response meta-analysis of prospective cohort studies. *BMJ Open*, 6(6), e008680, <https://doi.org/10.1136/bmjopen-2015-008680>
176. Tešović, Ž. (1988). The study of the interdependence of biochemical properties of raspberry fruit (*Rubus idaeus* L.). [Ph.D. Thesis, University of Belgrade].
177. Tinello, F., & Lante, A. (2017). Evaluation of antibrowning and antioxidant activities in unripe grapes recovered during bunch thinning. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 23(2), 243–251. <https://doi.org/10.1111/ajgw.12277>
178. Titirić, I., Roman, I. A., Nicola, C., Sturzeanu, M., Iurea, E., Botu, M., Sestras, R. E., Pop, R., Militaru, M., Ercisli, S., et al. (2023). The main morphological characteristics and chemical components of fruits and the possibilities of their improvement in raspberry breeding. *Horticulturae*, 9(3), 406. <https://doi.org/10.3390/horticulturae9030406>
179. Tododrović, T., & Dožić, I. (2012). Opšta i oralna biohemija. Univerzitet u Beogradu, Stomatološki fakultet, Beograd.
180. Tosun, M., Sengul, M., Karlidag, H., & Ercisli, S. (2009). Characterization of red raspberry (*Rubus idaeus* L.) genotypes for their physicochemical properties. *Journal of Food Science*, 74(7), C575–C579, <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2009.01203.x>
181. Trajkova, F., & Zlatkovski, V. (2017). Guide for soil samples from agricultural land: Guidelines for proper soil sampling for agrochemical analysis of soil. Shtip, Macedonia: University "Goce Delcev" - Shtip, Faculty of Agriculture.
182. Treder, W. (1993). The effect of irrigation and mulching with black foil on the yield of Canby raspberries. *Zeszyty Nauk Sadowniczych*, 18, 139–144.
183. UNECE. (2023). Agricultural Quality Standards (WP.7). UN/ECE FFV-32. Retrieved from [UNECE website](<https://unece.org>).
184. USAID. (2008). Improving productivity in agricultural value chains. Retrieved from [USAID PDF](http://pdf.usaid.gov/pdf_docs/PNADL718.pdf)
185. USDA. National nutrient database for standard reference, service release 27 and the flavonoid content of selected foods release 3.1 [Internet]. Washington (DC): USDA Agricultural Research Services, Retrieved from [USDA Database](<https://fdc.nal.usda.gov/>)

186. Vaibhav, D. A., Arunkumar, W., Abhijit, M. P., & Arvind, S. (2011). Antioxidants as an immunomodulator. *International Journal of Current Pharmaceutical Research*, 3(1), 22–28.
187. Valentinuzzi, F., Pii, Y., Mimmo, T., Savini, G., Curzel, S., & Cesco, S. (2018). Fertilization strategies as a tool to modify the organoleptic properties of raspberry (*Rubus idaeus* L.) fruits. *Scientia Horticulturae*, 240, 205–212.
<https://doi.org/10.1016/j.scienta.2018.06.019>
188. Vernarelli, J. A., & Lambert, J. D. (2017). Flavonoid intake is inversely associated with obesity and C-reactive protein, a marker for inflammation, in US adults. *Nutrition & Diabetes*, 7(1), e276. <https://doi.org/10.1038/nutd.2017.7>
189. Vrhovsek, U., Giongo, L., Mattivi, F., & Viola, R. (2008). A survey of ellagitannin content in raspberry and blackberry cultivars grown in Trentino (Italy). *European Food Research and Technology*, 226(5), 817–824. <https://doi.org/10.1007/s00217-007-0605-0>
190. Vulic, J., Tumbas, V., Savatović, S., Djilas, S., Cetkovic, G., & Canadanovic-Brunet, J. (2011). Polyphenolic content and antioxidant activity of the four berry fruits pomace extracts. *Acta Periodica Technologica*, 42, 221–227. <https://doi.org/10.2298/APT1142221V>
191. Wang, G. G., Lu, X. H., Li, W., Zhao, X., & Zhang, C. (2011). Protective effects of luteolin on diabetic nephropathy in STZ-induced diabetic rats. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2011, Article ID 323171. <https://doi.org/10.1155/2011/323171>
192. Wang, S. Y., & Lin, H. S. (2000). Antioxidant activity in fruits and leaves of blackberry, raspberry, and strawberry varies with cultivar and developmental stage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(2), 140–146. <https://doi.org/10.1021/jf9908345>
193. Wang, S., Moustaid-Moussa, N., Chen, L., et al. (2014). Novel insights of dietary polyphenols and obesity. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 25(1), 1–18. <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2013.09.001>
194. Warmund, M. (2009). Fruit production. University of Missouri Extension Bulletin MG6.
195. Washington Red Raspberry Commission. (2013). History. Lynden, WA: Washington Red Raspberry Commission.
196. Williams, I. H. (1960). Effects of environment on *Rubus idaeus* L. V. Dormancy and flowering of the mature shoot. *Journal of Horticultural Science*, 35(3), 175–183.
197. Williamson, B., Tudzynski, B., Tudzynski, P., & Van Kan, J. A. L. (2007). Botrytis cinerea: The cause of grey mould disease. *Molecular Plant Pathology*, 8(5), 561–580. <https://doi.org/10.1111/j.1364-3703.2007.00417.x>

198. Winiarska, J. (1992). Some biological and production features of fruiting canes of ten raspberry cultivars (*Rubus idaeus* L.). [Habilitation Thesis.] University of Life Sciences in Lublin, Poland.
199. Wu, X., Beecher, G. R., Holden, J. M., Haytowitz, D. B., Gebhardt, S. E., & Prior, R. L. (2006). Concentrations of anthocyanins in common foods in the United States and estimation of normal consumption. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(11), 4069–4075. <https://doi.org/10.1021/jf0603001>
200. Wu, X., Cao, G., & Prior, R. L. (2002). Absorption and metabolism of anthocyanins in elderly women after consumption of elderberry or blueberry. *Journal of Nutrition*, 132(7), 1865–1871. <https://doi.org/10.1093/jn/132.7.1865>
201. Yabuya, T., Nakamura, M., Iwashina, T., et al. (1997). Anthocyanin-flavone copigmentation in bluish purple flowers of Japanese garden iris (*Iris ensata* Thunb.). *Euphytica*, 98(3), 163–167. <https://doi.org/10.1023/A:1003124916445>
202. Yahia, E. M. (2009). *Modified and controlled atmospheres for the storage, transportation, and packaging of horticultural commodities*. Boca Raton, FL: CRC Press.
203. Yang, L., Wen, K.-S., Ruan, X., Zhao, Y.-X., Wei, F., & Wang, Q. (2018). Response of plant secondary metabolites to environmental factors. *Molecules*, 23(4), 762. <https://doi.org/10.3390/molecules23040762>
204. Yar, A. S., Menevse, S., & Alp, E. (2011). The effects of resveratrol on cyclooxygenase-1 and -2, nuclear factor kappa beta, matrix metalloproteinase-9, and sirtuin 1 mRNA expression in hearts of streptozotocin-induced diabetic rats. *Genetics and Molecular Research*, 10(4), 2962–2975. <https://doi.org/10.4238/2011.November.22.1>
205. Zamora-Ros, R., Knaze, V., Rothwell, J. A., et al. (2016). Dietary polyphenol intake in Europe: The European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC) study. *European Journal of Nutrition*, 55(4), 1359–1375. <https://doi.org/10.1007/s00394-015-0925-3>
206. Zhang, Q. W., Lin, L. G., & Ye, W. C. (2018). Techniques for extraction and isolation of natural products: A comprehensive review. *Chinese Medicine*, 13, 20. <https://doi.org/10.1186/s13020-018-0177-x>
207. Zheng, D., & Hrazdina, G. (2010). Cloning and characterization of an expansin gene, RiEXP1, and a 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid synthase gene, RiACS1, in ripening fruit of raspberry (*Rubus idaeus* L.). *Plant Science*, 179(4), 379–389. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2010.06.006>

208. Sredojević, Z., Kljajić, N., & Popović, N. (2013). Investing in raspberry production as an opportunity for sustainable development of rural areas in Western Serbia. *Economic Insights – Trends and Challenges*, 2(LXV), 63–72.
209. Петровић, С., & Лепосавић, А. (2016). Малина – нове технологије гајења, заштите и прераде (измењено и допуњено издање). Чачак: Научно воћарско друштво Србије.

ПРИЛОЗИ

	Микробни соеви	P1	P2	P3	V1	V2	V3	A	N
Ултразвучна екстракција	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	39,1	156,25	312,5	78,125	156,25	156,25	19,53	/
	<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 13883	312,5	39,1	78,125	186,25	156,25	156,25	39,1	/
	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	39,1	19,53	39,1	19,53	186,25	156,25	19,53	/
	<i>Proteus vulgaris</i> ATCC 13315	186,25	78,125	39,1	186,25	156,25	78,125	156,25	/
	<i>Proteus mirabilis</i> ATCC 14153	186,25	78,125	186,25	156,25	312,5	39,1	312,5	/
	<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	186,25	39,1	98,125	78,125	39,1	186,25	78,125	/
	<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	39,1	98,125	186,25	186,25	156,25	78,125	/	39,1
	<i>Aspergillus niger</i> ATCC 16404	78,125	156,25	39,1	78,125	186,25	186,25	/	19,53
Мацерација	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	78,125	39,1	156,25	19,53	186,25	186,25	19,53	/
	<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 13883	186,25	156,25	312,5	78,125	156,25	186,25	39,1	/
	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	156,25	156,25	39,1	78,125	156,25	156,25	19,53	/
	<i>Proteus vulgaris</i> ATCC 13315	312,5	186,25	186,25	186,25	186,25	78,125	156,25	/
	<i>Proteus mirabilis</i> ATCC 14153	156,25	78,125	186,25	186,25	186,25	156,25	312,5	/
	<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	156,25	78,125	186,25	156,25	156,25	186,25	78,125	/
	<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	78,125	186,25	39,1	156,25	186,25	39,1	/	39,1
	<i>Aspergillus niger</i> ATCC 16404	39,1	312,5	78,125	39,1	39,1	78,125	/	19,53
Сокслетова екстракција	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	186,25	156,25	156,25	156,25	78,125	78,125	19,53	/
	<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 13883	156,25	156,25	39,1	39,1	186,25	39,1	39,1	/
	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	39,1	312,5	39,1	156,25	39,1	186,25	19,53	/

<i>Proteus vulgaris</i> ATCC 13315	156,25	186,25	312,5	186,25	186,25	186,25	156,25	/
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC 14153	186,25	186,25	186,25	312,5	186,25	186,25	312,5	/
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	312,5	156,25	78,125	186,25	312,5	156,25	78,125	/
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	156,25	156,25	186,25	312,5	78,125	39,1	/	39,1
<i>Aspergillus niger</i> ATCC 16404	19,53	186,25	186,25	156,25	78,125	156,25	/	19,53

Табела 13. Резултати добиени од анализа на антимицробната активност на екстрактите од сортите малина Primalba и Willamette

	1	2	3	4	5	6	7	8
P1	17.74	31.08	34.46	21.06	107.98	23.89	45.76	61.65
P1 Mac	4.42	43.91	37.61	10.10	39.00	15.47	46.54	16.70
P1 Sox	17.83	82.04	43.36	9.21	104.09	21.03	30.27	-
P2	-	-	27.80	10.08	-	15.35	45.79	39.39
P2 Mac	14.78	22.44	40.80	18.03	19.02	17.07	44.67	26.10
P2 Sox	38.69	-	38.28	12.66	41.66	29.33	35.54	41.58
P3	6.68	15.77	31.79	8.99	18.83	8.88	27.43	10.94
P3 Mac	3.37	21.72	51.53	10.55	17.53	14.63	41.09	6.98
P3 Sox	14.03	49.67	54.56	11.00	66.21	26.59	45.47	50.92
V1	41.45	-	52.48	-	74.26	67.32	28.86	28.78
V1 Mac	-	46.40	121.66	29.93	41.47	54.13	34.39	75.97
V1 Sox	15.91	-	62.96	12.49	56.69	42.56	51.37	164.21
V2	5.76	16.41	49.04	8.85	98.45	36.52	40.34	23.60
V2 Mac	23.06	106.33	59.69	35.55	52.82	41.28	66.61	58.25
V2 Sox	3.75	82.49	8.28	-	92.61	38.67	49.63	56.48
V3	3.63	8.92	7.06	66.98	19.52	30.49	61.35	-
V3 Mac	-	37.84	108.44	5.68	37.63	-	35.56	-
V3 Sox	19.98	63.00	24.76	11.63	107.15	31.95	66.48	-

Табела 14. Содржина на фенолни соединенија во екстрактите од сортите малина Primalba и Willamette ($\mu\text{g/g}$)

<i>Реден број на примерок</i>	<i>Маса / (g)</i>	<i>Висина / (mm)</i>	<i>Ширина 1 / (mm)</i>	<i>Ширина 2 / (mm)</i>
1	3,91	24,0	19,0	17,0
2	4,56	21,2	18,9	17,0
3	3,68	22,0	18,0	17,0
4	4,90	26,0	18,0	18,0
5	4,77	24,0	19,0	18,0
6	3,28	21,0	16,0	16,0
7	4,20	21,0	18,0	17,0
8	3,34	22,0	18,0	16,0
9	3,46	23,0	17,0	14,0
10	3,58	22,0	18,0	15,0
11	3,76	21,0	17,0	16,0
12	3,76	21,0	16,0	16,0
13	4,58	22,0	19,0	18,0
14	3,75	21,0	19,0	17,0
15	3,84	19,0	17,0	15,0
16	2,84	19,0	16,0	14,0
17	3,25	17,0	17,0	15,0
18	3,55	22,0	17,0	15,0
19	3,57	23,0	17,0	18,0
20	3,59	23,0	19,0	16,0

Табела 15. Морфолошки карактеристики на плодот од сортата малина Primalba

<i>Реден број на примерок</i>	<i>Број на семки</i>	<i>Маса / (mg)</i>	<i>Висина / (mm)</i>	<i>Пречник / (mm)</i>
1	91	1,73	5,90	4,36
2	81	1,22	4,55	3,69
3	91	1,52	4,69	3,91
4	110	1,54	6,18	5,19
5	98	1,61	4,71	3,89
6	90	2,16	6,32	5,27
7	97	1,53	6,20	5,13
8	74	1,56	6,30	5,25
9	82	1,91	6,12	5,10
10	71	1,67	7,20	5,85

11	76	1,30	4,80	4,03
12	82	1,09	7,12	5,88
13	90	1,40	6,06	5,05
14	111	1,55	7,10	5,81
15	100	1,22	5,10	4,21
16	92	1,77	6,18	5,09
17	120	1,24	6,20	5,11
18	89	2,06	6,00	4,96
19	108	1,38	6,10	5,13
20	88	1,04	6,13	5,11

Табела 16. Морфолошки карактеристики на семето од сортата малина Primalba

<i>Реден број на примерок</i>	<i>Маса / (g)</i>	<i>Висина / (mm)</i>	<i>Ширина 1 / (mm)</i>	<i>Ширина 2 / (mm)</i>
1	3,07	21,00	18,00	17,00
2	2,83	21,00	19,00	17,00
3	3,20	21,00	18,00	16,00
4	2,80	19,00	17,00	15,00
5	3,05	20,00	17,00	16,00
6	3,13	22,00	18,00	16,00
7	3,55	22,00	19,00	15,00
8	3,60	22,00	17,00	16,00
9	3,17	20,00	17,00	15,00
10	3,73	21,00	18,00	17,00
11	2,29	20,00	17,00	15,00
12	2,42	19,00	16,00	14,00
13	3,34	19,00	17,00	16,00
14	2,49	17,00	16,00	14,00
15	3,04	18,00	17,00	16,00
16	3,00	23,00	17,00	15,00
17	3,03	19,00	18,00	16,00
18	2,72	18,00	18,00	16,00
19	3,10	19,00	18,00	18,00
20	3,06	20,00	18,00	15,00

Табела 17. Морфолошки карактеристики на плодот од сортата малина Willamette

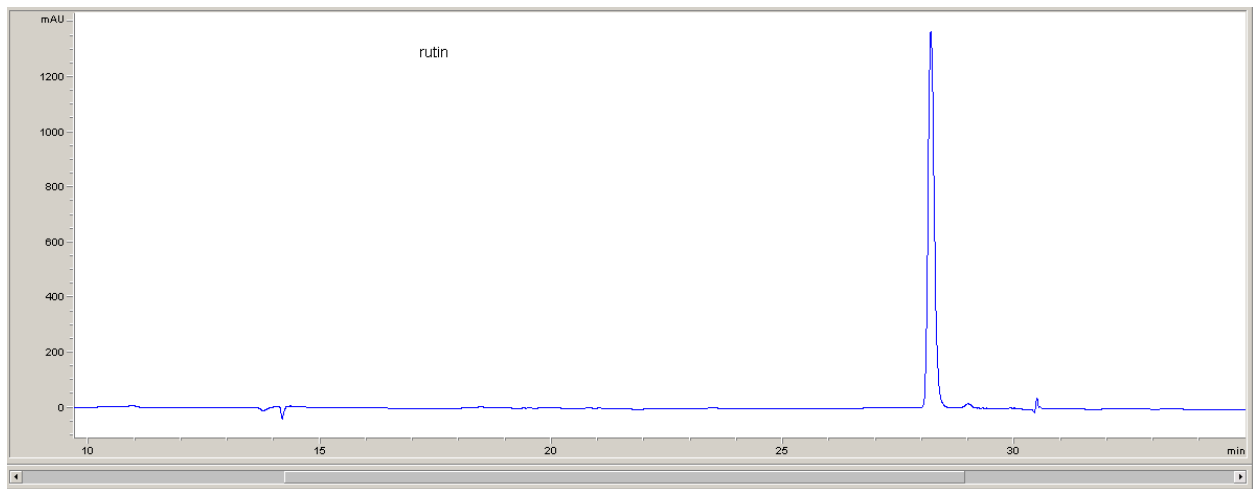
Реден број на примерок	Број на семки	Маса / (mg)	Висина / (mm)	Пречник / (mm)
1	127	2,35	7,12	5,83
2	73	1,68	5,00	4,13
3	60	1,74	5,00	4,10
4	84	2,24	6,52	5,38
5	108	1,58	4,69	3,81
6	85	1,44	4,60	3,83
7	87	1,17	3,95	2,94
8	131	1,89	6,05	5,04
9	68	1,35	6,10	5,13
10	57	1,31	6,35	5,29
11	62	1,65	5,00	4,17
12	89	2,48	7,20	6,43
13	121	1,71	5,05	4,24
14	98	2,53	7,27	5,91
15	96	2,06	6,18	5,62
16	93	1,77	5,06	4,22
17	111	0,98	5,01	4,12
18	75	1,31	6,20	5,21
19	84	1,67	5,36	3,91
20	89	2,06	6,20	5,26

Табела 18. Морфолошки карактеристики на семето од сортата малина Willamete

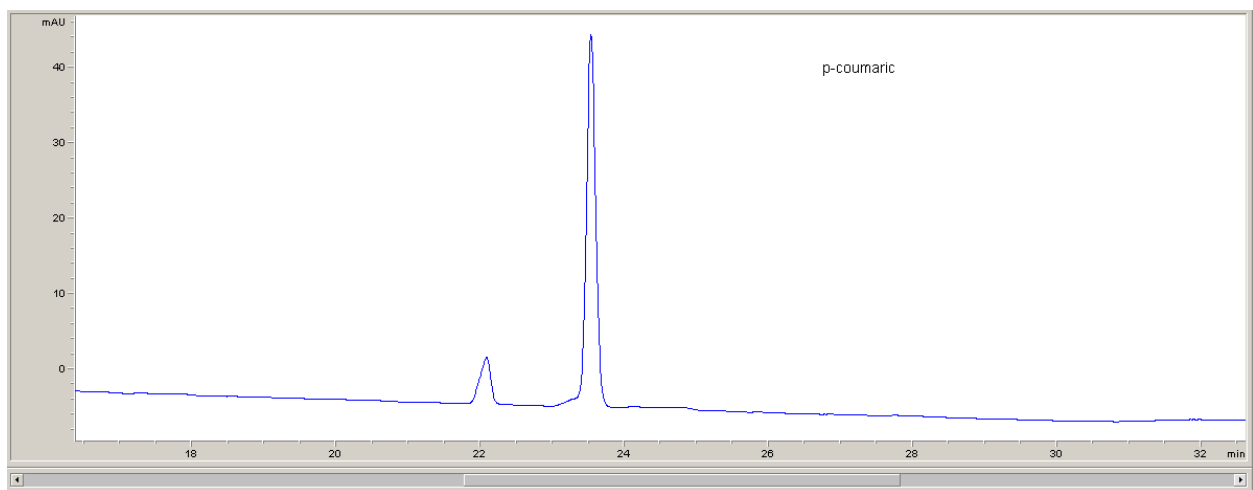
Сорта	ВСМ/%	РСМ/%	ВШ/%	ДРШ/%	Сахароза / %	ВК(ЛК) / %	pH	ИС	ВПМ / %	ВА / (g/l)
Willamete	13,44	9,80	6,11	5,56	0,51	1,82	2,62	3,30	0,409	0,805
Primalba	13,13	9,41	6,09	5,61	0,46	1,49	2,72	3,98	0,357	0,524

Табела 19. Хемиски состав на плодот од сортите малина Primalba и Willamete

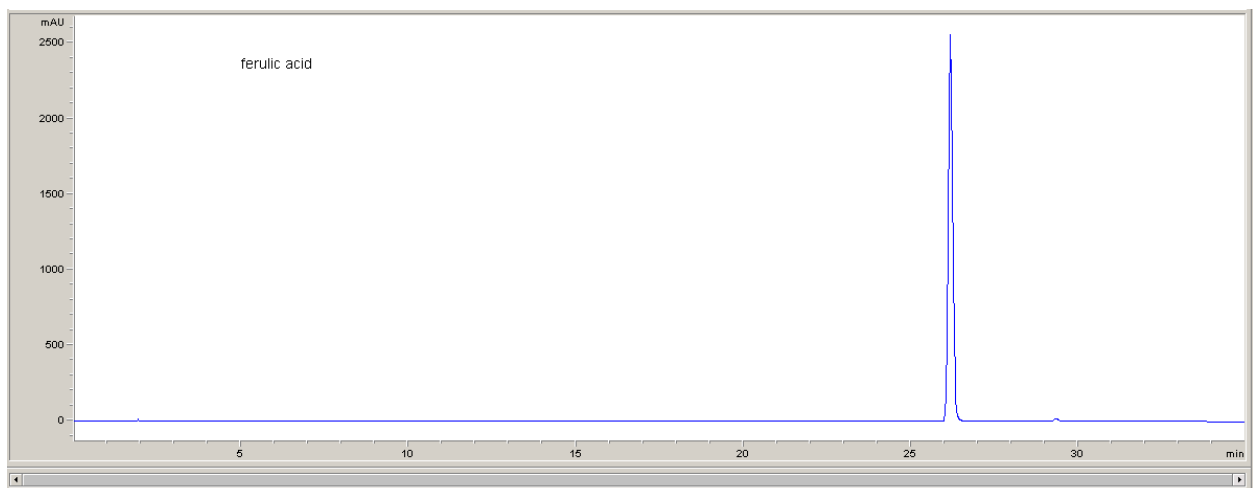
Кратенки во табела 19: Вкупна сува материја (со сушење) / % - ВСМ/%; Растворлива сува материја (рефрактометар) / % - РСМ/%; Вкупни шеќери / % - ВШ/%; Директни редуцирачки шеќери / % - ДРШ/%; Вкупни киселини (како лимонска киселина) / % - ВК(ЛК)/%; Индекс на слаткост – ИС; Вкупни пектински материји / % - ВПМ/%; Вкупно антоцијани (Никетик-Храјдина) / g/l - ВА / (g/l).



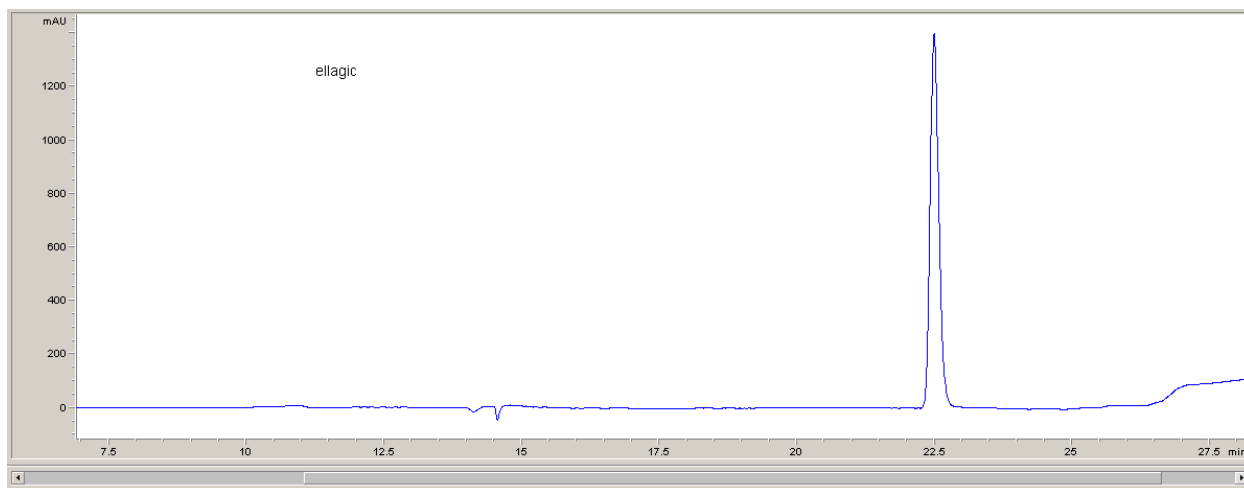
Графикон 12. Хроматограм на рутинска киселина



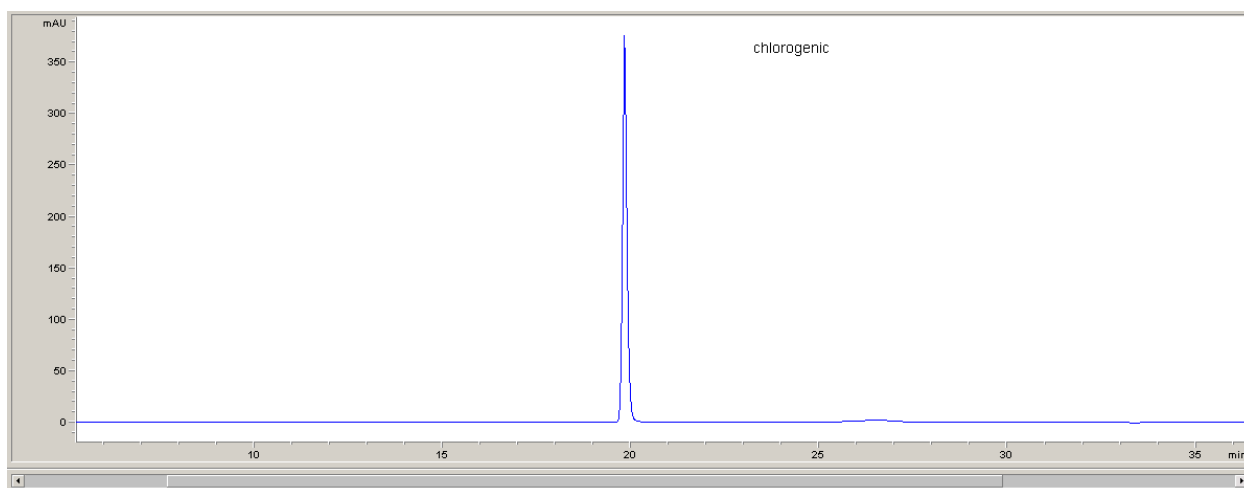
Графикон 13. Хроматограм на р-кумарна киселина



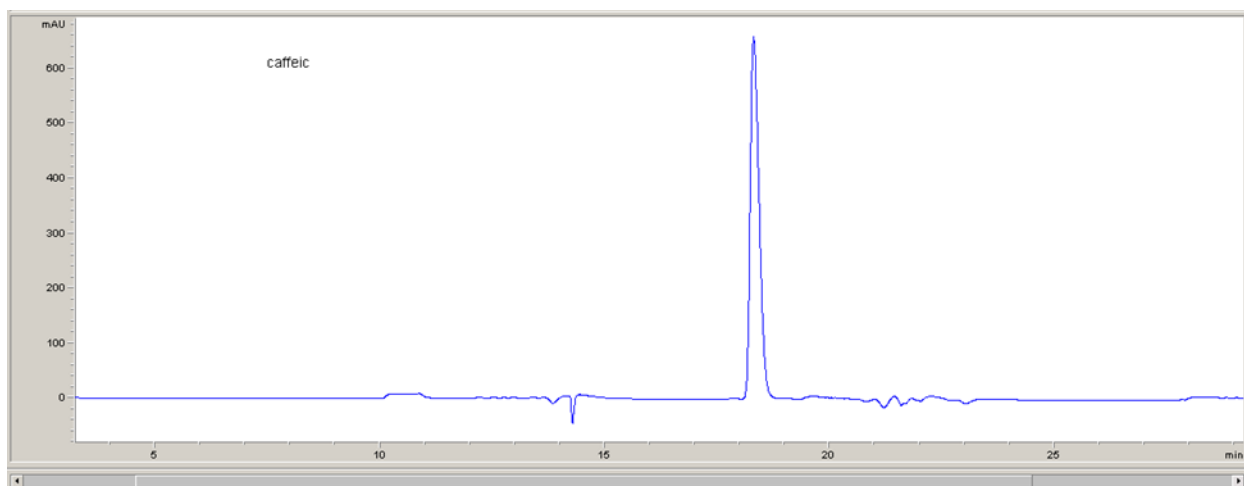
Графикон 14. Хроматограм на ферулинска киселина



Графикон 15. Хроматограм на елагична киселина



Графикон 16. Хроматограм на хлорогена киселина



Графикон 17. Хроматограм кофеинска киселина



Слика 12. Насад со малини



Слика 13. Берба на малини



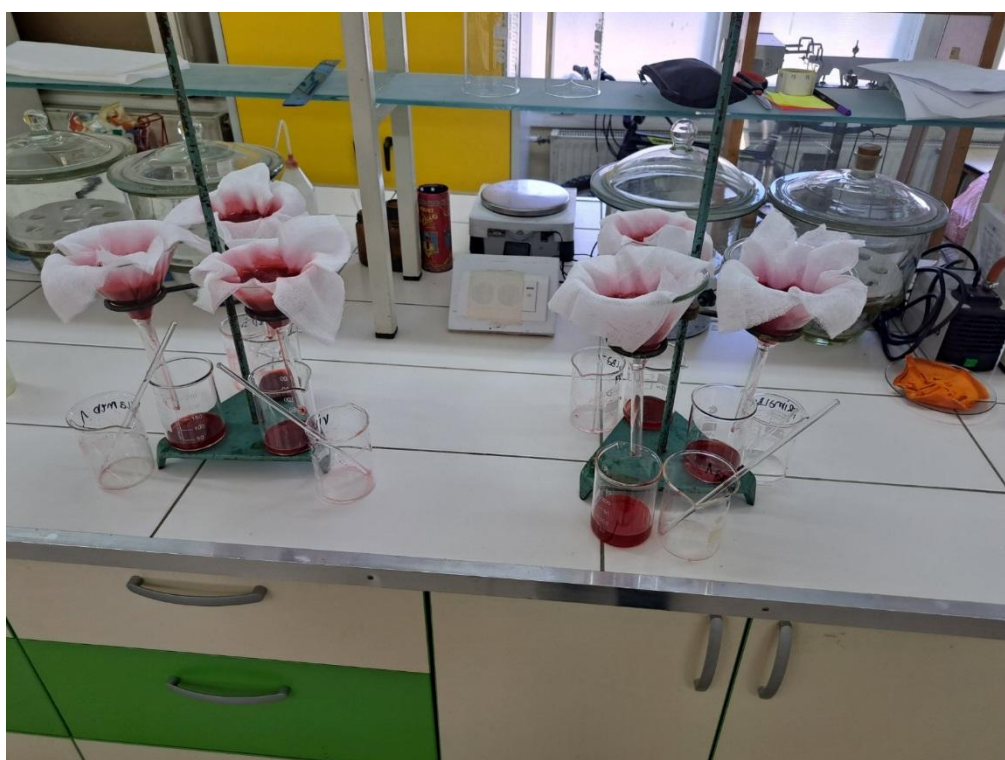
Слика 14. Свежи малини пакувани во гајби



Слика 15. Малина замрзната во пластична кутија



Слика 16. Ултразвучна бања



Слика 17. Филтрирање на примероците од малина



Слика 18. Подготовка на примероците за мерење



Слика 19. Подготовка на примероците за мерење



Слика 20. Подготовка на примероците за анализа



Слика 21. Екстракција со Сокслетов екстрактор