Bioaktivne komponente ploda pasje ruže (Rosa canina L.)

Stanić, Lucija

Master's thesis / Diplomski rad

2017

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Agriculture / Sveučilište u Zagrebu, Agronomski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:204:309914

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-28**

Repository / Repozitorij:

Repository Faculty of Agriculture University of Zagreb

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
AGRONOMSKI FAKULTET

BIOAKTIVNE KOMPONENTE PLODOVA PASJE RUŽE (*Rosa canina* L.)

DIPLOMSKI RAD

Lucija Stanić

Zagreb, 2017.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
AGRONOMSKI FAKULTET

Diplomski studij:
Hortikultura
Voćarstvo

BIOAKTIVNE KOMPONENTE PLODOVA PASJE RUŽE (*Rosa canina* L.)

DIPLOMSKI RAD

Lucija Stanić

Mentor: doc. dr. sc. Jana Šic Žlabur

Zagreb, 2017.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
AGRONOMSKI FAKULTET

IZJAVA STUDENTA
O AKADEMSKOJ ČESTITOSTI

Ja, **Lucija Stanić**, JMBAG 0178093480, rođena 10.4.1993. u Zagrebu, izjavljujem da sam samostalno izradila/izradio diplomski rad pod naslovom:

BIOAKTIVNE KOMPONENTE PLODOVA PASJE RUŽE (*Rosa canina* L.)

Svojim potpisom jamčim:

- da sam jedina autorica/jedini autor ovoga diplomskog rada;
- da su svi korišteni izvori literature, kako objavljeni tako i neobjavljeni, adekvatno citirani ili parafrazirani, te popisani u literaturi na kraju rada;
- da ovaj diplomski rad ne sadrži dijelove radova predanih na Agronomskom fakultetu ili drugim ustanovama visokog obrazovanja radi završetka sveučilišnog ili stručnog studija;
- da je elektronička verzija ovoga diplomskog rada identična tiskanoj koju je odobrio mentor;
- da sam upoznata/upoznat s odredbama Etičkog kodeksa Sveučilišta u Zagrebu (Čl. 19).

U Zagrebu, dana _____ _____

Potpis studenta / studentice

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
AGRONOMSKI FAKULTET

IZVJEŠĆE
O OCJENI I OBRANI DIPLOMSKOG RADA

Diplomski rad studenta/ice **Lucija Stanić**, JMBAG 0178093480, naslova
BIOAKTIVNE KOMPONENTE PLODOVA PASJE RUŽE (*Rosa canina* L.)

obranjen je i ocijenjen ocjenom _____ , dana _____ .

Povjerenstvo:		potpisi:
1.	doc. dr. sc. Jana Šic Žlabur	_____
2.	prof. dr. sc. Sandra Voća	_____
3.	izv. prof. dr. sc. Martina Skendrović Babojelić	_____

Zahvala

Zahvaljujem se gospođi Mariji Petir i gospodinu Nenadu Blažekoviću na ustupljenim plodovima pasje ruže.

Zahvaljujem se mentorici doc. dr. sc. Jana Šic Žlabur na stručnom vodstvu, savjetima i pomoći tijekom pisanja ovog diplomskog rada.

Najviše od svega se zahvaljujem svojoj obitelji koja je bila uz mene tijekom cijelog mog studiranja i pružala mi bezuvjetnu podršku.

Sadržaj

1. Uvod 1
2. Pregled literature 3
2.1. Botanička pripadnost 3
2.2. Rasprostranjenost 4
2.3. Ekološki uvjeti 5
2.4. Morfološke karakteristike 5
2.4.1. Vegetativni organi 5
2.4.2. Generativni organi 7
2.5. Uzgoj 9
2.6. Razmnožavanje 10
2.6.1. Generativno razmnožavanje 10
2.6.2. Vegetativno razmnožavanje 10
2.6.3. Razmnožavanje zelenim reznicama 10
2.6.4. Razmnožavanje zrelim reznicama 11
2.6.5. Razmnožavanje korijenovim reznicama 11
2.6.6. Razmnožavanje cijepljenjem na podloge 11
2.7. Sjetva sjemenki pasje ruže 12
2.8. Sadnja i uzgojni oblik 12
2.9. Održavanje nasada 12
2.10. Gnojidba 13
2.11. Rezidba 13
2.12. Bolesti i štetnici 13
2.12.1. Bolesti 13
2.12.2. Štetnici 14
2.13. Berba plodova 16
2.14. Uporaba šipka 17
2.15. Kemijski sastav i zdravstvena vrijednost ploda 18
2.15.1. Vitamini šipka 19
2.15.2. Ostali spojevi šipka 20
3. Materijali i metode istraživanja 21
3.1. Biljni materijal 21
3.2. Metode rada 26

3.2.1. Određivanje ukupne suhe tvari sušenjem na 105 ˚C 26
3.2.3. Određivanje ukupne kiselosti 27
3.2.4. Određivanje ph vrijednosti 28
3.2.5. Određivanje L-askorbinske kiseline 28
3.2.6. Određivanje ukupnih fenola 29
3.2.7. Određivanje flavonoida i neflavonoida 31
3.2.7. Određivanje β-karotena 32
3.2.8. Određivanje sadržaja antocijana 33
3.2.9. Određivanje antioksidacijskog kapaciteta ABTS metodom 34
3.2.10. Statistička obrada podataka 35
4. Rezultati i rasprava 36
4.1. Osnovni kemijski sastav plodova pasje ruže 36
4.2. Sadržaj vitamina C u plodovima pasje ruže 36
4.3. Sadržaj ukupnih fenola, flavonoida i neflavonoida u plodovima pasje ruže 37
4.4. Sadržaj ukupnih antocijana u plodovima pasje ruže 39
4.5. Sadržaj β-karotena u plodovima pasje ruže 39
4.6. Antioksidacijski kapacitet plodova pasje ruže 40
5. Zaključak 41
6. Literatura 42
7. Popis slika 45
8. Prilog 46
Životopis 47

Sažetak

Diplomskog rada studentice Lucije Stanić, naslova

BIOAKTIVNE KOMPONENTE PLODOVA PASJE RUŽE (*Rosa canina* L.)

Pasja ruža je jedna od najraširenijih samoniklih vrsta roda *Rosa* u Republici Hrvatskoj. Njena bogata nutritivna, prehrambena i ljekovita vrijednost te relativna lakoća uzgoja čine ju biljnom vrstom velikog potencijala za uzgoj u Hrvatskoj.

Glavni cilj ovog diplomskog rada bio je utvrditi razlike u kemijskom sastavu i sadržaju bioaktivnih komponenata između plodova samoniklih genotipova pasje ruže, plodova uzgojenih na konvencionalni te ekološki način. U svrhu utvrđivanja nutritivnog sastava provedene su kemijske analize suhe tvari (%), topljive suhe tvari (%), ukupnih kiselina (%), pH-vrijednosti, vitamina C (mg/100 g svježe tvari), ukupnih fenola (mg GAE/100 g svježe tvari), ukupnih antocijana (mg/kg), β-karotena (µg/100 g svježe tvari) te antioksidacijski kapacitet (µmol TE/L). Utvrđene su razlike u količini vitamina C i to u rasponu od 79,26 mg/100 g svježe tvari u plodovima samoniklih genotipova pasje ruže do 341,92 mg/100 g svježe tvari u plodovima iz konvencionalnog uzgoja. Razlike u koncentraciji ukupnih fenola bile su od 1109,62 mg GAE/100 g kod plodova iz konvencionalnog uzgoja do 1310,79 mg GAE/100 g kod ekološki uzgojenih plodova. Količina β-karotena bila je u rasponu od 13 663 µg/100 g svježe tvari kod ekoloških plodova do 29 500 µg/100 g kod plodova samoniklih genotipova pasje ruže. Vrijednosti za antioksidacijski kapacitet iznosile su od 2263,68 µmol TE/L (plodovi iz konvencionalnog uzgoja) do 2276,57 µmol TE/L (plodovi iz ekološkog uzgoja).

Temeljem dobivenih rezultata može se zaključiti da je plod pasje ruže vrijedan izvor bioaktivnih komponenata te da kakvoća, odnosno nutritivni sastav ploda značajno ovise i o načinu uzgoja.

Ključne riječi: konvencionalni uzgoj, ekološki uzgoj, bioaktivni spojevi, vitamin C, antioksidacijski kapacitet

Abstract

Of the master's thesis – student Lucija Stanić**,** entitled

BIOACTIVE COMPOUNDS CONTENT ROSEHIP FRUITS (*Rosa canina* L.)

Rosehip is one of the widest spread species of gender *Rosa* in the Republic of Croatia. Its rich nutritional and medicinal value and relative easy cultivation make it a plant species of great potential for cultivation in Croatia.

The main aim of this graduate thesis was to determine the differences in the chemical composition and bioactive compounds content between wildgrown rosehip fruits, from conventional and organic cultivation. Following chemical analysis, in purpose of determining nutritional composition, was conducted: dry matter content (%), soluble dry matter content (%), total acidity content (%), pH- value, vitamin C content (mg/100 g fresh weight), total phenols content (mgGAE/100 g), total anthocyanins content (mg/L), β-carotene content (µg/100 g fresh weight), and antioxidant capacity (µmolTE/L). Vitamin C content ranged from 79,26 mg/100 g fresh weight (wildgrown fruit) to 341,92 mg/100 g fresh weight (fruit from conventional farming). Total phenols content ranged from 1109,62 mg GAE/100 g (fruit from conventional farming) to 1310,79 mg GAE/100 g (fruit from organic farming). β-caroten content ranged from 13 663 µg/100 g fresh weight (fruit from organic farming) to 29 500 µg/100 g fresh weight (wildegrown fruit). Following the determined high content of bioactive compounds in analyzed rosehip samples, a high antioxidative capacity was also determined, ranging from 2263,68 µmol TE/L (fruit from conventional farming) to 2276,57 µmol TE/L (fruit from organic farming).

Based on the obtained results it can be concluded that the rosehip fruit are valuable source of bioactive compounds and that the fruit quality (nutritional composition of fruit) significantly depends on the cultvation method.

Key words: conventional cultivation, organic cultivation, bioactive compounds, vitamin C, antioxidant capacity

1. Uvod

Iako se u svijetu pasja ruža proučava, uzgaja i oplemenjuje, u Hrvatskoj njezin intenzivni uzgoj gotovo i ne postoji, ali spada u najraširenije samonikle vrste iz roda *Rosa* u našoj zemlji (Šindrak i sur., 2012). Međutim zbog brojnih pozitivnih svojstava, a i izvrsnih ekoloških uvjeta, u Hrvatskoj se polako razvija interes za uzgoj pasje ruže. Pasja ruža može uspjeti i na siromašnijim tlima te je zato pogodna i za zemljišta na kojima nije moguća druga intenzivna proizvodnja. Lodeta (2006) kao primjer takvih područja na kojima bi se u Hrvatskoj uspješno mogla uzgajati pasja ruža navodi Liku i Banovinu.

Pasja ruža je relativno neosjetljiva na bolesti i štetnike pa ne zahtjeva kemijsku zaštitu, a zbog čega se smatra kulturom pogodnom za ekološku proizvodnju. Ekološkom proizvodnjom štiti se tlo, voda, zrak, biljni i animalni te genetski resursi. Ona nije degradirajuća za okoliš za razliku od konvencionalne proizvodnje (Kisić, 2014). Ekološka proizvodnja je način proizvodnje u kojoj ne dolazi do upotrebe mineralnih gnojiva, genetski modificiranih organizama, pesticida i drugih sintetskih kemijskih preparata. Ona dugoročno poboljšava kakvoću tla i doprinosi povećanju biološke raznolikosti (Puđak i Bokan, 2011). Konvencionalni poljoprivredni uzgoj se u pravilu temelji na gnojidbi velikim količinama mineralnog gnojiva (Kisić i sur., 2011), primjeni pesticida, hormona rasta, a njihova primjena u kombinaciji s teškom mehanizacijom i intenzivnim navodnjavanjem daje vrlo visoke prinose (Puđak i Bokan, 2011). Negativni učinci konvencionalne poljoprivrede se očituju u narušenoj strukturi tla, niskoj mikrobiološkoj aktivnosti u tlu i smanjenoj plodnosti tla. U takvim tlima također dolazi i do mineralizacije organske tvari, odnosno do smanjivanja količine humusa te do zakiseljavanja tla (Kisić i sur., 2011). U prirodi se mogu uočiti velike razlike među biljkama, posebno s obzirom na veličinu plodova, često i na vrlo malim staništima (Baričević, 2010; Šindrak i sur, 2012). Kad pasja ruža raste na otvorenim mjestima i u svojim prirodnim staništima, ima najveći prosječni broj plodova po biljci i po stabljici (Šindrak i sur, 2013).

Pasja ruža je poprilično otporna na sušu tako da navodnjavanje u većini slučajeva nije potrebno. Pogodna je za strojnu i za ručnu berbu (potrebno odabrati sorte sa što manje trnja na izbojcima). Prirod daje već u drugoj godini nakon sadnje, a puni rod se, uz primjenu prikladnih agrotehničkih mjera, može očekivati već u trećoj godini (Šindrak i sur., 2013). Šindrak i sur. (2012) su u svojem istraživanju došli do zaključka da bi se bogati genetski potencijal pasje ruže mogao iskoristiti za početnu selekciju biljaka superiornih svojstava namijenjenih uvođenju u kulturu.

Zbog ljekovitosti pasje ruže pripremaju se brojni proizvodi od kojih su najpopularniji čajevi, džemovi i kompoti (Šindrak i sur., 2013), no poznati su još i slatkiši, pića, sladoled i kolači. Sirup od cvjetova služi kao narodni lijek za plućne bolesti, a može se koristiti i kao dodatak prehrani (Mikošić, 2011). Sjemenke pasje ruže koriste se kao začin, a zbog specifičnog sastava masnih kiselina sjemenke su pogodne za korištenje u medicini i kozmetičkoj industriji (Szentmihályi i sur., 2002). Mogućnost je i njezina raznovrsna primjena u dekoraciji krajobraza (Ivanušić, 1976). Plodovi pasje ruže najpoznatiji su po velikoj količini vitamina C koji je bitan za razne fiziološke procese u ljudskom organizmu (Šindrak i sur., 2013). Vedrina Dragojević i Šebečić (2007) navode da su plodovi pasje ruže jedan od najboljih izvora askorbinske kiseline. Osim vitamina C, u plodovima pasje ruže se

mogu pronaći i vitamini B1, B2, E i K (Šindrak i sur, 2013; Fan i sur., 2014; Nybom i Werlemark, 2015). Zbog svojih brojnih pozitivnih uzgojnih, prehrambenih i ljekovitih svojstava, ali i zbog potreba tržišta za uzgojem plodova (i drugih dijelova pasje ruže), smatra se da ima veliki potencijal koji bi trebalo iskoristiti.

Cilj ovog diplomskog rada bio je utvrditi razlike u kemijskom sastavu i sadržaju bioaktivnih komponenata između plodova samoniklih genotipova pasje ruže, onih uzgojenih konvencionalno te ekološki.

2. Pregled literature

2.1. Botanička pripadnost

Rosa canina L. je u narodu poznata pod brojnim imenima: šipak, divlji šipak, obični šipak, divlja ruža, pasja ruža, šipurina, itd. Ona pripada rodu *Rosa*. Klasifikacija vrste roda *Rosa* prikazana je u Tablici 1.

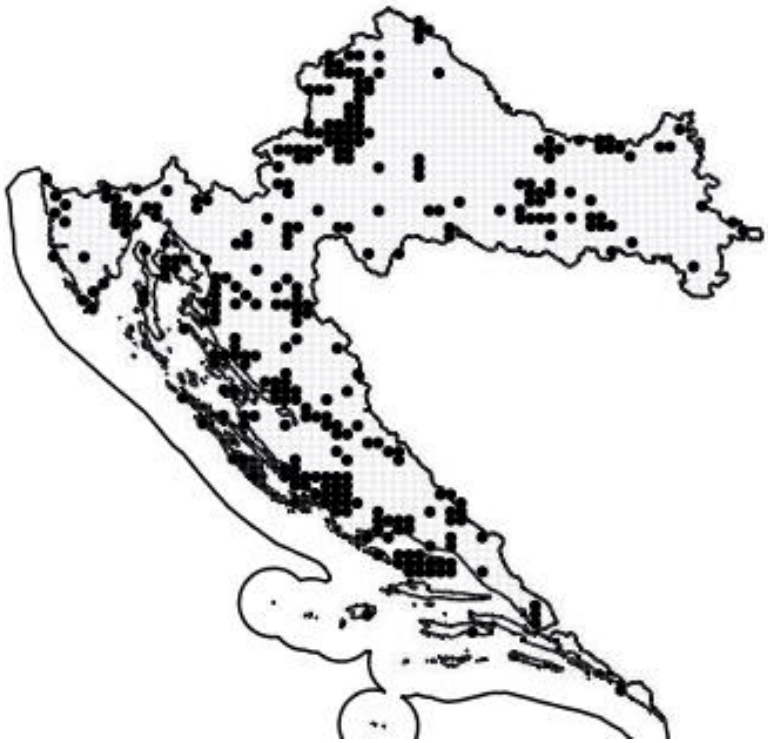
Tablica 1. Klasifikacija roda *Rosa* (Šindrak i sur., 2013)

Regnum (carstvo)	Plantae (biljke)
Subregnum (podcarstvo)	Tracheobionta (vaskularne biljke)
Phylum (odjeljak)	Magnoliophyta (Spermatophyta - sjemenjače)
Subphylum (pododjeljak)	Magnoliophytina (Angiospermae - kritosjemenjače
Classis (razred)	Magnoliopsida (Dycotyledonae - dvosupnice)
Subclassis (podrazred)	Rosidae
Ordo (red)	Rosales (ružovke)
Familia (porodica)	Rosaceae (ruže, ružičnjače)
Subfamilia (potporodica)	Rosoideae
Genus (rod)	*Rosa* (ruža)

Porodica Rosaceae, čovjeku jedna od najvažnijih biljnih porodica, obuhvaća više od 115 rodova i oko 3000 vrsta, a rod *Rosa* obuhvaća između 100 i 250 vrsta, kako navodi Kole (2011), dok Werlemark i Nybom (2010) navode da u rodu *Rosa* ima otprilike 180 vrsta. U hrvatskoj flori zastupljeno je nekoliko desetaka vrsta i međuvrsnih križanaca pasjih ruža (Šindrak i sur., 2013).

2.2. Rasprostranjenost

Pasja ruža je rasprostranjena u Europi, sjeverno-zapadnoj Aziji i sjevernoj Africi. U Hrvatskoj je rasprostranjena u gotovo svim krajevima (Slika 1).



Slika 1. Rasprostranjenost šipka (www.hirc.botanic.hr)

Prema Šindraku i sur. (2012) pasja ruža je jedna od najraširenijih samoniklih pripadnika roda *Rosa* u našoj zemlji. Moguće ju je pronaći u prirodnim, ruralnim, ali i urbanim područjima. Pasja ruža u Hrvatskoj najčešće raste po sunčanim rubovima šuma, živicama, na pašnjacima nizinskog i brdskog područja, među grmljem i uz ograde, uz putove i ceste, a uspijeva i u nizinskim, brdskim i planinskim regijama na gomilama kamenja, na šumskim proplancima i u različitim zajednicama hrastovih i grabovih šuma, na raznim mjestima s različitom geološkom podlogom i na raznim tipovima tala. Šindrak i sur. (2013) navode da se pasja ruža u Hrvatskoj može naći čak do 1400 metara nadmorske visine.

2.3. Ekološki uvjeti

Pasjoj ruži odgovara glinasto do kamenito tlo, suše ili vlažnije, plodno i više bazično, bogato vapnencima (Forenbacher, 1990). Odgovara joj svjetlo i polusjena. Pasjoj ruži najviše odgovaraju planinska područja (viša od 2000 m nadmorske visine) prekrivena dubokim klancima i usjecima s umjerenom klimom (godišnja količina oborina 600 – 900 mm) i travnatom vegetacijom. Također, Šindrak i sur. (2013) navode da odlično uspijeva pri umjerenoj klimi (godišnja količina oborina 400 – 600 mm) sa smeđim i crvenksto-smeđim tlom karakterističnim za podnožja (800 – 1400 m nadmorske visine).

2.4. Morfološke karakteristike

2.4.1. Vegetativni organi

Izbojci šipka (Slika 2) su vitki, svijeni u oblik lukova sa slabo izraženim nodijima, goli, u početku tamnozelene ili smeđe boje. Kratki izbojci su brojniji na starijim granama (Mikošić, 2011).

Slika 2. Izbojci pasje ruže (www.vrtlarenje.com)

Stabljika sadrži kukasto svinute trnove duge do 10 mm koji su pri dnu prošireni (Domac, 2002), a podsjećaju na pseće zube (Scheerer, 1971). Mladi trnovi su žućkasto-zelene boje, crvenkasti na strani okrenutoj prema sunčevoj svjetlosti, a kasnije tamnosmeđi. Kora je glatka, tamnozelena, često i crvenkasta (Slika 3).

Slika 3. Trnovi i kora pasje ruže (www.permaculture.co.uk)

Listovi na izbojcima rastu naizmjenično, neparno perasto, sastavljeni su od sedam (rjeđe pet ili devet) jajolikih do eliptičnih, pilasto nazubljenih listića koje su s gornje strane goli i sjajni, a s donje obrasle rijetkim dlakama (Forenbacher, 1990). Listovi su najčešće dugi 7 do 9 cm (Slika 4). Lisna peteljka je bodljikava i ima zalistak, a pri dnu peteljke su po dva uska palistića (Grlić, 2005).

Slika 4. Listovi pasje ruže (www.recipe.com.hr)

2.4.2. Generativni organi

Pupovi su spiralno raspoređeni, sitni, rijetki i smješteni malo otklonjeno iznad ožiljaka otpalih listova. Ljuske pupova zatupljene su i tamnozelene ili smeđe boje. Ožiljak otpalog lista je uzak, koritast te obuhvaća gotovo cijeli izbojak i ima tri traga provodnih snopića. Srčika na presjeku je okrugla i prljavo bijela (Mikošić, 2011). Korijenov sustav je jak i prodire duboko u tlo (Scheerer, 1971).

Cvjetovi pasje ruže su veliki, ružičasti ili bijeli te imaju nježan, ugodan miris. Sastoje se od pet latica. Lapovi su duži od latica i ostaju dugo uspravljeni nakon cvatnje. Cvjetovi stoje pojedinačno ili po nekoliko cvjetova zajedno (Werlemark, 2009). Izbijaju na krajevima dvogodišnjih grana (Schubert, 1979). Cvijet ima jednoredni ružičasti vjenčić koji ima osobito intenzivan miris. Imaju visok sadržaj nektara i peluda pa ih rado posjećuju mnoge vrste kukaca. Promjer cvjetova je 2 do 8 cm (Matleković, 2016).

Slika 5. Cvijet pasje ruže (www.bs.wikipedia.org)

U prirodi se mogu uočiti velike razlike među biljkama pasje ruže, posebno s obzirom na veličinu plodova, često i na vrlo malim staništima (Šindrak i sur., 2012). U praksi nepravi plod zovemo plodom, a plodiće sjemenkama (Mikošić, 2011).

Pasja ruža cvate od svibnja do srpnja. Nakon cvatnje latice otpadnu, a ostaje zeleni, mesnati ovoj, pun sitnih blijedo-žućkastih, tvrdih i uglatih sjemenki pokrivenih svilenkastim dlačicama. Iz ovoja nastaje nepravi plod, šipak (Mikošić, 2011). Plod (šipak) jajolik je, crven i na površini sjajan (Slika 6). Dug je oko 1,5 cm do 2 cm (Forenbacher, 1990). Na vrhu šipka vide se ostaci tučka. Udio mezokarpa u šipku iznosi 74,2 % (Kovacs i sur., 2005). Šipak pasje

ruže (*Rosa canina* L.) razlikuje se od ostalih vrsta (*Rosa dumalis*, *Rosa rubiginosa*) koje imaju okrugle plodove (Petranović, 1936).

Slika 6. Plod pasje ruže (www.zdravko.ba)

2.5. Uzgoj

Pasju ružu je moguće uzgajati na konvencionalni i ekološki način. Komercijalna proizvodnja ružinih šipaka i njegovih prerađevina se i dalje uglavnom temelji na berbi plodova samoniklih (divljih) biljaka. Takav oblik proizvodnje daje nisku kakvoću plodova i neredovito opskrbljuje tržište (Šindrak i sur., 2013). Osim toga, ubrani plodovi nemaju točno određeno porijeklo te ne postoji sigurnost o zdravstvenoj ispravnosti sirovine. Iako se sve više počinje buditi interes sa komercijalnom proizvodnjom pasje ruže, u Hrvatskoj je također prisutan trend branja plodova samoniklih genotipova pasje ruže radi njihove daljnje upotrebe. Planskim uzgojem se postižu bolja kakvoća i bolji prirodi, valjana zdravstvena ispravnost te redovita opskrbljenost tržišta, smanjila bi se cijena sirovine koja je visoka jer ona uglavonom uvozna. Najbolji način za pokretanje ozbiljne proizvodnje pasje ruže u Hrvatskoj jest sadnja visokorodnih sorti i selekcija domaćih ekotipova iz divljih populacija kojima Republika Hrvatska obiluje (Šindrak i sur., 2013).

Za plantažiranje ruža za uzgoj plodova trebaju osunčana zemljišta pa se i na brdovitom terenu biraju osunčane strane (osim sjeverne), a treba izbjegavati doline i niska mjesta (Mikošić, 2011). Prilikom podizanja nasada za komercijalnu proizvodnju plodova potrebno je odabrati sorte koje podnose ekstremne klimatske uvjete, otporne su na bolesti, nisu osobito primamljive štetnim insektima te ne stvaraju previše korijenovih izdanaka jer takva vegetativna aktivnost čini štetu prirodu plodova. Poželjno bi bilo uzgajati biljke s visokim prirodom i velikim, kvalitetnim plodovima mase između 3 do 5 g. Parametri kvalitete ploda pasje ruže uključuju udio svježeg mezokarpa ploda od 70 do 80 %, visok postotak suhe tvari, visok udio topljive suhe tvari (fruktoza i glukoza), povoljan udio organskih kiselina, dobru aromu i obojenost, visok udio C vitamina (između 600 i 1200 mg/100 g svježe tvari) i ostalih antioksidansa (Šindrak i sur., 2013).

Ako se namjerava provoditi strojna berba bilo bi dobro da je cijeli nasad na istoj parceli zbog lakše i racionalnije upotrebe mehanizacije (Šindrak i sur., 2013). Također bi bilo dobro izabrati istovjetan sortni sadni materijal kako bi dobili što bliže vrijeme dozrijevanja radi boljeg iskorištenja mehanizacije. Biljke ranije dozrijevajućih sorti bolje podnose oštećenja od strojne berbe jer se stignu oporaviti nakon berbe i pripremiti za zimsku hladnoću, za razliku od onih koji kasnije dozrijevaju. Sorte koje rastu previše u visinu su podložnije oštećenjima (Šindrak i sur., 2012). Ako se planira nasad za ručnu berbu, trebale bi se birati sorte sa što slabijim trnovima, ali i sa što manje trnja na izbojcima. Također treba razmišljati i o dostupnosti i cijeni radne snage jer je trošak berbe najveći godišnji trošak proizvodnje (Šindrak i sur., 2013).

Istraživanje svojstava ploda u Azerbejdžanu (Shamsizade i Novruzov, 2005) je pokazalo da dimenzije i masa svježe branih plodova pasje ruže jako variraju. Duljine plodova iznosile su od 13 do 26 mm, promjeri od 10 do 18 cm, a mase plodova od 0,5 do 2,8 g. Došlo se do zaključka da biljke pasje ruže u uvjetima slabog svjetla imaju manje cvjetova i plodova te tanje stabljike i listove. Kada rastu ispod gustog šumskog svoda ostaju u vegetativnom stadiju, nikad ne počnu cvasti i donositi plodove. One biljke koje rastu na otvorenim mjestima, u svojim prirodnim staništima imaju najveći prosječni broj plodova po biljci i po stabljici.

2.6. Razmnožavanje

Pasja ruža se može razmožavati generativno i vegetativno. U prirodi se razmnožavaju sjemenom (generativno) pomoću životinja i to uglavnom ptica. One prenose sjeme na velike udaljenosti (Šindrak i sur., 2013.)

2.6.1. Generativno razmnožavanje

Generativno razmnožavanje pasje ruže je vrlo otežano zbog kompleksnog mehanizna dormantnosti sjemena (Mikošić, 2011). Ako se dormantnost ne prekine, sjeme će proklijati tek sljedeće godine. Uzroci dormantnosti mogu biti tvrd perikarp sjemena, unutrašnja struktura sjemena i/ili biokemijsko-fiziološki čimbenici. Dormantnost se može prekinuti na više načina: stratifikacijom, kemijskim tretmanima (raznim kiselinama), biljnim regulatorima rasta, tioureom i vitaminima. Stratifikacija (prekidanje dormantnosti pomoću niske temperature) je kod nas jedan od najraširenijih način prekida dormantnosti (Matleković, 2016).

Povećavanjem zrelosti plodova pasje ruže povećava se i koncentracija inhibitora (dormena) u sjemenkama koji zaustavlja njihov razvoj (Šindrak i sur., 2013). Upravo zato je za postizanje dobre klijavosti potrebno obaviti pravovremenu berbu plodova, onda kad boja prelazi iz zelene u crvenkastu. Provjera se obavlja tako da se ubere nekoliko plodova i izvade se sjemenke. Čak i ako nije došlo do promjene boje ploda, a sjemenke su otvrdnule, vrijeme je za berbu. Sjemenke se poslije berbe vade muljačom za grožđe, ispiru vodom i suše na prohladnom mjestu. Poslije sušenja se tretiraju fungicidima (Šindrak i sur, 2013.)

2.6.2. Vegetativno razmnožavanje

Pasja ruža se može vegetativno razmnožavati reznicama, cijepljenjem i izdancima. Reznica je vegetativni dio biljke koji kad je u uvjetima povoljne temperature i vlage razvija korijen i izdanak. Na mjestu reza dolazi do stvaranja kalusa (sekundarnog tvornog tkiva) čije su se stanice sposobne dijeliti i stvarati druga tkiva i organe. Uspjeh ukorjenjivanja reznica ovisi o vremenu uzimanja reznica (godišnje doba), vrsti reznica (drvenaste, zelene, ili poluzrele), promjeru i dužini reznice te fiziološkom stanju majčinske biljke. Od velike važnosti su i supstrat za ukorjenjivanje, okolišni čimbenici i primjena biljnih hormona različitih koncentracija (auksin) (Šindrak i sur., 2013).

2.6.3. Razmnožavanje zelenim reznicama

U Turskoj je provedeno istraživanje (Hoşafci i sur., 2005) kojem su se istraživale mogućnosti razmnožavanja pasje ruže zelenim reznicama. One su uzete krajem svibnja te su tretirane 20 i 30 minuta s IBA-om (indol-3-maslačna kiselina) u različitim koncentracijama. Navedene reznice su posađene u drvene kontejnere napunjene pijeskom i smještene u staklenik. Zapisan je postotak preživjelih i zakorjenjenih reznica, duljina korijena i broj

korjenčića po reznici nakon 30 dana. Rezultati su pokazali znatne razlike ovisno o trajanju tretmana, ali i koncentraciji IBA. Najveći postotak preživjelih (33,3%) i zakorijenjenih reznica (30,6%) pokazale su reznice tretirane 20 minuta sa 25 ppm IBA. Prema navedenom postotku preživjelih i zakorijenjenih reznica, zaključilo se da je otežano ukorjenjivanje zelenih reznica, te da se ovaj način razmnožavanja ne preporučuje za komercijalan uzgoj.

2.6.4. Razmnožavanje zrelim reznicama

Znanstvenici Hoşafci i sur. (2005) su također u Turskoj proveli istraživanje o sposobnosti tvorbe korijenja na zrelim reznicama različitih genotipova pasje ruže. Uzeli su 200 reznica različitih genotipova tijekom studenog, prosinca, siječnja i veljače sa četiri različita područja Turske. Iz svakog područja su reznice podijeljene u dva jednaka dijela. Jednoj skupini su napravljene ogrebotine duge oko 2 cm. Obje skupine su tretirane 10 sekundi s IBA (u različitim koncentracijama). Poslije toga su stavljene u perlit i u staklenik na temperaturu od 21 ± 2 °C. Nakon 2 mjeseca se zabilježio broj reznica s korjenčićem, dužina korjenčića te broj izbojaka po reznici. Najveći postotak (65 %) zabilježen je kod izgrebanih reznica, tretiranih s 2500 ppm IBA i uzetih u studenom. U oba istraživanja je vidljivo da uspjeh ukorjenjivanja ovisi o vremenskom periodu kad su reznice uzete, vrsti i koncentraciji fitohormona kojim su tretirane.

2.6.5. Razmnožavanje korijenovim reznicama

Razmnožavanje korijenovim reznicama je vrlo učinkovit način razmnožavanja zbog brzog zakorjenjivanja te se razvijena sadnica dobiva u kratkom roku. Međutim, ovo razmnožavanje je pogodno samo za dobivanje manje količine sadnog materijala (Šindrak i sur., 2013).

2.6.6. Razmnožavanje cijepljenjem na podloge

Cijepljenjem nazivamo stavljanje jednog dijela plemke (pupa ili grančice) na podlogu (sjemenjaci ili vegetativno razmnoženi i ukorijenjeni dijelovi sorata namijenjeni za tu svrhu) kojoj je zadatak hraniti plemku. Kako bi cijepljenje bilo uspješno potrebno je da dodir između plemke i podloge bude čvrst kako bi one pravilno srasle. Spajanje ili kopulacija je način cijepljenja pri kojem su plemka i podloga iste debljine (otprilike debljine olovke). Međutim, pretežito se prakticira način cijepljenja gdje su plemka i podloga različite debljine. Takva cijepljenja mogu biti: u raskol, na isječak, pod koru te okuliranje. Osim nabrojanih vrsta razmnožavanja, pasja ruža se može razmnožavati i izdancima (Šindrak i sur., 2013).

2.7. Sjetva sjemenki pasje ruže

Sjetva se provodi u listopadu ili studenom u brazdice širine oko 2 cm i na razmaku od 4 cm. Dubina sjetve može biti od 3 mm pa sve do 1 cm. Tlo je potrebno dobro pripremiti (rastresito, plodno i dobro obrađeno). Kako bi pospješili klijavost, sjeme se može staviti u vodu zagrijanu na 40 °C oko 2 sata (Šindrak i sur., 2013).

Priprema tla započinje oranjem na dubinu od 30 do 35 cm, zatim tanjuranjem te ostavljanjem tla od 2 do 3 tjedna. Finu obradu je potrebno napraviti početkom listopada. Gnojidba ovisi o količini hraniva u tlu te odabranoj formulaciji gnojiva. Ako je sjeme prethodno prošlo proces stratifikacije, ono se sije u rano proljeće u redove s razmakom od 50 do 70 cm. Potrebno je posijati 1 kg sjemena na 40 do 50 m dužine (1 kg sjemena sadržava 40 000 do 60 000 sjemenki). Prilikom ručne sjetve, motikom se naprave brazdice širine 15-ak cm i dubine 5 do 8 cm. Sjeme se posije cijelom dužinom u brazdu te se grabljama nanese sloj od oko 2 cm zemlje (Šindrak i sur., 2013).

2.8. Sadnja i uzgojni oblik

Biljke se pretežito sade u jesen. Za manje bujne biljke je razmak između redova oko 3,5 do 4 m i 1 m u redu, a za bujnije se razmak u redu povećava i do 2 m. Poželjno bi bilo da je tlo dobro drenirano i ne preteško. Prema nekim istraživanjima postoji mala razlika u povećanom udjelu vitamina C u plodovima pasje ruže koji su rasli na relativno kiselim tlima nego u plodovima onih ruža koje su rasle na alkalnijim tlima (Šindrak i sur., 2013). U prirodnim uvjetima pasja ruža ima oblik razgranatog grma visine od 1 do 3 m (Šindrak i sur., 2013; Mikošić, 2011).

2.9. Održavanje nasada

Kako bi se osigurao bolji balans vode te spriječio razvoj korova, preporuča se uporaba crnih plastičnih folija za malčiranje. Neki od nedostataka upotrebe plastičnih folija za malčiranje su problemi s korovom koji raste neposredno uz biljku (rupa u foliji ne može biti toliko uska da to spriječi), problemi s gnojidbom i štete na foliji nastale od raznih životinja. Takav način suzbijanja je ipak i dalje bolji nego uporaba herbicida zbog zaštite okoliša, ali i velike osjetljivosti pasje ruže na herbicide (Šindrak i sur., 2013).

Navodnjavanje uglavnom nije potrebno jer je pasja ruža prilično otporna na sušu, ali bi bilo dobro da se osigura mogućnost navodnjavanja ako dođe do dugotrajnijeg sušnog razdoblja (Šindrak i sur., 2013).

Tijekom prve godine se tlo kultivira traktorskim kultivatorom. Zaštita se provodi ako je potrebno. Tijekom druge godine potrebno je posijati travu između redova, a pojas od 40 cm oko biljke se okopava. Tijekom idućih godina se kosi trava u redovima. U trećoj ili četvrtoj godini nema više potrebe za armaturom jer su biljke ojačale i stvorile dovoljno trnova te im životinje više ne mogu naškoditi (Matleković, 2016)

2.10. Gnojidba

Prilikom sadnje je potrebno svakoj biljci dati 50 g NPK u obliku organskog gnojiva (npr. 3,5 – 4,0 kg zrelog stajskog gnoja). Janick i sur. (2010) navode da je tijekom sljedećih godina potrebno unijeti oko 300 kg/ha NPK (otprilike 20 do 25 tona zrelog stajskog gnoja po hektaru). Gnojidbom stajskim gnojem biljci je dostupno oko 50 % hraniva prve godine, druge godine 30 %, a treće 20 %. Ovisno o uzgajanoj vrsti i tipu tla, ponekad su potrebne dodatne gnojidbe kalcijem. U tom slučaju je potrebno unijeti dva puta više kalcija od NPK (Šindrak i sur., 2013).

2.11. Rezidba

Pravilnom rezidbom se utječe na količinu plodova, ali i na njihovu kakvoću. Nakon sadnje se mladim biljkama ostavlja 2 do 5 pupova na svakom glavnom izbojku. Potrebno je orezivati vrhove svakog proljeća kako bi se dobio željeni oblik grma. Pasja ruža dolazi u puni rod nakon 4 do 6 godina. Plantaže pasje ruže mogu biti jako dugotrajne ako se rezidba obavlja kad je potrebno. Rezidba starijih biljaka ovisi o vrsti i načinu berbe (Šindrak i sur., 2013).

Vrsta *Rosa canina* daje više plodova na jednogodišnjim izbojima koji rastu iz dvogodišnjeg drva pa bi bilo poželjno postići rezidbom što više takvih izboja (Šindrak i sur., 2013).

Ako je planirana ručna berba plodova, poželjan je zimski rez kojim se na svakom ogranku ostavi 10 do 15 rodnih izboja kako bi se osiguralo što više svjetla i bolje pupanje u proljeće. Slabe izbojke ili one starije od dvije godine je potrebno ukloniti (Šindrak i sur., 2013).

U nasadima u kojima će se provoditi strojna berba, rezidba se može obavljati kosilicom za živice koja je montirana na traktor. Takav način rezidbe („košnja“) se provodi svake druge godine u rano proljeće pri čemu se grm oreže sa strane i na vrhu. Ponekad je potrebno provesti i zelenu rezidbu (početkom ljeta) radi skraćivanja najdužih izboja. Jaki rez radi obnavljanja nasada je poželjno obaviti svakih 8 do 10 godina. Biljke se skraćuju na 5 do 10 cm iznad tla. Tim rezom se produžava trajnost nasada i njegova eksploatacija (Šindrak i sur, 2013).

2.12. Bolesti i štetnici

2.12.1. Bolesti

Protiv bakterijskih bolesti (bakterioza) treba se boriti preventivno, a kada se bolest pojavi na biljci, biljku treba odstraniti i uništiti (Šindrak i sur., 2013).

Bakterija koja se pojavljuje na korijenu mladih sadnica pasje ruže *Agrobacterium tumefaciens* izaziva tumor korijenova vrata i korijena ruže. Kroz ozlijeđena mjesta nastala prilikom presađivanja ili pod djelovanjem nekog štetnika prodire u biljku. Zarazu možemo

spriječiti močenjem korijena sadnice u otopinu ilovače i svježe kravlje balege, izbjegavanjem ozljeđivanja korijena i korijenova vrata za vrijeme sadnje i uzgoja, kontrolom higijene supstrata te pranjem i sterilizacijom pribora (Tomin i Strižak, 1985).

Bolest slična bolesti korijenova vrata i korijena ruže je i dlakavost korijena čiji je uzročnik *Agrobacterium rhizogenes*, međutim umjesto tvrdih tumorskih izraslina, dolazi do pojave izraslina koje su mekane i iz kojih se razvija mnoštvo vlaknastih izraslina. Reznice je moguće dezinficirati umakanjem u 0,5 %-tnu otopinu natrijevog hipoklorita (Cvjetković i sur., 2006).

Protiv mikoza (gljivičnih oboljenja) moguća je efikasna borba zato što uglavnom napadaju nadzemne dijelove biljaka. Uravnoteženim korištenjem mineralnih i organskih gnojiva te izborom svijetlih, osunčanih i vjetrovitih mjesta možemo napraviti prevenciju oboljenja (Tomin i Strižak, 1985; Vermeulen, 2003). Smatra se da rezidbom treba osigurati cirkulaciju zraka i dovoljno svjetlosti u središtu grma kako biljka ne bi obolila. Werlemark i Nybom (2010) smatraju da se gljivična oboljenja trebaju početi liječiti tek nakon nekoliko godina zaraze.

Antraknoza (uzročnik *Sphaceloma rosarum*, spolni stadij *Elsinoe rosarum*) se pokazala kao jedna od opasnijih bolesti za vrste iz sekcije Caninae (Werlemark i Nybom, 2010). Zatim, uzročnik pjegavosti lista ruže koji se najčešće pojavljuje na pasjim ružama je *Septoria rosae* (telomorfni stadij *Sphaerulina rehmiana*) (Werlemark i Nybom, 2010).

Osim spomenutih bolesti, moguća je pojava pepelnice (uzročnik *Podosphaera pannosa*), bolesti koja u ranim stadijima razvitka (klijanci) vrstama iz sekcije Caninae može uzrokovati jako oštećenje listova ili čak posve uništiti mlade biljke. U kasnijim godinama, kad biljke narastu i ojačaju, pepelnica na njima ne može uzrokovati značajne štete (Werlemark i Nybom, 2010).

Zvjezdastu plijesan uzrokuje *Diplocarpon rosae*, a spada u mnogo manje ozbiljne bolesti na vrstama iz sekcije Caninae nego na hibridnim ružama (Werlemark i Nybom, 2010). U Europi postoje četiri otkrivena uzročnika hrđe (*Phragmidium*) na vrstama iz sekcije Caninae.

Osim bakterioza, u bolesti pasje ruže svrstavaju se i različite viroze. Šindrak i sur. (2013) navode da mozaik ruže može imati više uzročnika: virus nekrotične prstenaste pjegavosti trešnje (*Prunus necrotic ringspot virus* – PNRSV), virus mozaika jabuke (*Apple mosaic virus* - ApMV), virusi koji se prenose nematodama: virus mozaika gušarke (*Arabis mosaic virus* - ArMV) i virus latentne prstenasti pjegavosti jagode *(Strawberry latent ringspot virus* - SLRV). Bolest je rasprostranjena u svim uzgojnim područjima ruže. Crtičavost ruže uzrokuje virus RSV *(Rose Streak Virus)* koji izaziva prijevremeno otpadanje listova ruže. Sorte 'Madame Butterfly', 'Ophelia', 'Rapture' i 'Briarcliff' mogu poslužiti kao indikatori zaraze tim virusom. Nabrojani virusi se ne prenose sjemenom' (Cvjetković i sur., 2006).

2.12.2. Štetnici

Većina štetnika na ružama ne radi nikakve veće probleme. Prema Vermeulen (2003) potrebno je povećati broj različitih životinjskih posjetitelja u vrtu kako bi smanjili mogućnost da broj štetnika preraste u najezdu. Sjenica, obični zviždak i palčić hrane se ružinim insektima

te bi zbog toga bilo poželjno sjenicama osigurati drvene kućice za gradnju gnijezda, zviždicima nisko i gusto grmlje, a palčićima živicu ili bršljan. Korištenjem insekticida bi došlo do uništenja bubamara i ostalih korisnih insektaka (Mikošić, 2011).

Janick i sur. (2010) su u njemačkim voćnjacima primijetili nekoliko insekata koji mogu prouzročiti štetu: lisne uši iz porodice *Aphididae* (potporodice *Aphidinae*), pravokrilci iz porodice *Acrididae* (pravi skakavci), grinje iz porodice *Tetranychidae* (crveni pauci) i opnokrilci iz podreda *Symphyta*, porodice *Tenthredinida*e (ose listarice). U nekim godinama su također moguće i štete uzrokovane osama šiškaricama (porodica *Cynipidae*).

U Turskoj je zabilježeno više od 150 insekata koji su se hranili na ili s različitim organima pasjih i kultiviranih ruža (Ozbek i Calmaşur, 2005). Najčešći insekti su bili obični crveni pauk ili koprivina grinja (*Tetranychus urticae*), lisne uši (*Aphis* sp.), ružina štitasta uš (*Aulacaspis rosae*) i jabučna koma uš (*Lepidosaphes ulmi*), kukavičji suznik (*Malacosoma franconica* i *M. neustria*), gubar (*Lymantria dispar*) i zlatokraj (*Euproctis chrysorrhoea*), ružin savijač (*Archips rosana*). Štetnici iz porodice *Tenthredinidae*, ose listarice; porodice *Cephidae*, ose vlatarice (*Syrista parreyssii*); te porodice *Cynipidae*, ose šiškarice (*Diplolepis rosae* i *D. mayri*).

U nasadima namijenjenim proizvodnji šipaka značajnije štete čini *Rhagoletis alternata* (porodica *Tephritidae*, voćne muhe). Taj štetnik je nepoznat u našoj praksi iz tog razloga što kod nas gotovo da i ne postoje nasadi za proizvodnju ružinih šipaka pa štete koje uzrokuje ostaju neprimijećene. U Švedskoj je moguće primijetiti štetan utjecaj vrste *Anthonomus rubi* (malinin cvjetar, porodica *Curculionidae*, pipe). Taj štetnik je prisutan u Hrvatskoj i može se naći na pasjim ružama (Mikošić, 2011).

Grlić (2005) navodi da se ponekad na površini ploda šipka mogu pojaviti sitne čupave izrasline u kojima se razvija ličinka ružinog babuškara (porodica *Cynipidae*, ose šiškarice).

2.13. Berba plodova

Šipak se bere od rujna do listopada. Dozrijevanje šipka je kasnije u višim planinskim područjima (Hazar i Baktur, 2005). Berba počinje kad plodovi postignu svijetlo crvenu boju te su još uvijek tvrdi na dodir. Svako kašnjenje berbe najčešće uzrokuje gubitak izazvan truleži i smanjenje količine vitamina C u plodu (Šindrak i sur., 2013; Matleković, 2016).

Starost grma utječe na kvalitetu plodova, srednje stari grmovi imaju veće plodove od mlađih grmova. Šindrak i sur. (2013) navode da je masa 100 plodova ubranih sa starijih grmova bila od 125 do 133 g, a masa iste količine sa mlađih grmova od 88 do 97 g.

Berba može biti ručna i strojna. Problem strojne berbe je potreba za velikom silom kako bi se plod otrgnuo s rodnog izbojka (i do 9 N). Rezultat toga je veliki broj neubranih plodova na kojima se akumuliraju bolesti i štetnici uslijed čega nastaje veća zaraza u sljedećoj vegetaciji. Drugi faktor strojne berbe je veličina i oblik parcela. Na većim parcelama je bolje iskorišten prostor i lakše je rukovanje. S obzirom da se stroj treba u svakom redu okrenuti, bolje je da su redovi što duži. Berači koji se koriste za berbu jagodastog voća se mogu prilagoditi za berbu pasje ruže (Šindrak i sur., 2013).

U ručnoj berbi berač može ubrati 4 – 6 kg na sat, ovisno o krupnoći plodova (Šindrak i sur., 2013). Prednost takvog način berbe je što ne ostaju neobrani plodovi i biljke su manje oštećene. Nedostatak je mali učinak i teško pronalaženje radnika (trnovi uzrokuju ozljede).

Dugoročna istraživanja su pokazala da su biološki aktivni sastojci pod utjecajem stupnja dozrelosti te da berba prije ili poslije optimalnog stadija može dovesti do gubitaka od 50 % bioaktivnih spojeva unutar ploda (Shamsizade i Novruzov, 2005).

2.14. Uporaba šipka

Prema fosilnim ostatcima starim oko 31 milijun godina nađenim u Coloradu i Oregonu, vrste iz roda *Rosa* su postojale na Zemlji i prije čovjeka (Šindrak i sur., 2013). Od davnina su ljudi shvaćali njihovu važnost u prehrani i u liječenju. Svi dijelovi pasje ruže (korijen, stablo, list, cvijet i plod) mogu se koristiti u različite svrhe (Šindrak i sur., 2013).

Šipak je ljekovit pa se od njega pripremaju čajevi (plodovi, koštice i mladi listovi), džemovi (šipkovo usplođe) i kompoti (Šindrak i sur., 2013). Plodove je najbolje brati u jesen, nakon prvog mraza kada malo omekšaju ako se koriste za pripremu džemova. U sjevernoj Europi se od ploda šipka spravljaju tzv. voćne juhe. Također se od šipka mogu praviti slatkiši, jogurti, osvježavajuća pića i sladoled pa čak i kolači. Usitnjene sjemenke se mogu koristiti kao začin, a latice se jesti kao salata s jogurtom ili ukuhane sa šećerom. Sjemenke pasje ruže sadrže linolsku, linoleolsku, palmitinsku i stearinsku kiselinu (Machmudah, 2007) zbog čega su pogodne za korištenje u medicini i kozmetičkoj industriji (Szentmihályi i sur., 2002).Od šipka se također može raditi i vino, međutim ono nema antiskorbutnu vrijednost kao njegove ostale prerađevine. Mesnati dio ploda šipka se može konzervirati sušenjem ili dubokim smrzavanjem nakon što se očisti od koštica i dlačica. Nakon godine dana u šipkovom džemu i vinu ostaje oko jedne četvrtine ukupne količine vitamina C. Očuvanje vitamina C ovisi o stanju zrelosti ploda, o načinu sušenja i o konzerviranju (Šindrak i sur., 2013). Sirup od cvjetova služi kao narodni lijek za plućne bolesti, a može se koristiti i kao dodatak prehrani (Mikošić, 2011). Cvjetne latice se upotrebljavaju i kod krvarenja iz želuca, crijeva i želučanih grčeva. Čaj od latica ruža čisti jetru i žučni mjehur (Pahlow, 1989).

Zbog svojeg intenzivnog, ugodnog mirisa, trajnosti, bogatog i lijepo oblikovanog cvijeta, zdrave i bogate mase, raznolikosti i otpornosti boja, neumornosti cvatnje, snažnog i bujnog rasta, otpornosti na bolesti i mrazove velika je mogućnost raznovrsne primjene pasje ruže u dekoraciji krajobraza (Ivanušić, 1976). Ruže iz sekcije Caninae mogu se saditi na urbanim mjestima gdje su rustikalne i „žive ograde“ poželjne te se želi dobiti dojam divljine (Janick i sur, 2010). Osim toga koristi se i u cvjećarstvu jer odrezane grane, s atraktivnim plodovima, mogu dugo stajati i izgledati svježe u cvjetnim aranžmanima (Baktir i sur., 2005).

2.15. Kemijski sastav i zdravstvena vrijednost ploda

Meso ploda sadrži, uz navedene sastojke u Tablici 2 još i karotenoide, vitamine B1, B2, E i K te minerale kalcij, kalij, magnezij, natrij, fosfor, željezo, bakar i cink (Tablica 3) (Demir i Ozcan, 2001). Uz navedene sadrži i esencijalne masne kiseline (linolna, alfa linolenska), ali i palmitinsku i laurinsku kiselinu. Također sadrži i značajan udio likopena, fenolih spojeva, tanina, šećera i pektina (Nybom i Werlemark, 2015).

Tablica 2. Kemijski sastav ploda *R. canine* (Šindrak i sur., 2013)

Sastojak	Plod (*Fructus Cynosbati*)
Tanini	2,0 – 2,7 %
Invertni šećer	10,0 – 13,7 %
Saharoza	0,6 – 2,4 %
Pektini	11,0 %
Organske kiseline (limunska i jabučna)	1 – 2 %
Eterična (esencijalna) ulja	0,038 %
Pepeo	2,4 %
Voda	22,8 – 38,0 %
C vitamin	≈ 850 mg / 100 g svježe tvari

Tablica 3. Količine minerala u plodu pasje ruže (Fan i sur., 2014)

Mineral	Na 100 g ploda
Fosfor	61 mg
Kalij	429 mg
Kalcij	169 mg
Magnezij	69 mg
Željezo	1,06 mg
Bakar	0,113 mg
Cink	0,25 mg
Mangan	1,02 mg
Natrij	4 mg

Zbog svog visokog sadržaja vitamina i organskih kiselina *Rosa canina* L. ima važnu ulogu kao dopuna prehrani. Pasja ruža ima antiskorbutno i diuretsko djelovanje (Georgieva i sur., 2014). Mnoga istraživanja su dokazala veliki sadržaj antioksidativnih spojeva od fenola, antocijana (Lattanzio i sur., 2011), flavonoida (Georgieva i sur., 2014) i karotenoida (Fecka, 2009; Georgieva i sur., 2014) te visoke koncentracije askorbinske kiseline. Sadržaj akorbinske kiseline može biti i do čak 6 puta viši u usporedbi s voćnom vrstom narančom (Nojavan i sur., 2008; Montazeri i sur., 2011). Prema Demir i Ozcan (2001) plod šipka može imati vitamina C

i do 1700 mg/100 g svježe tvari, a sadrži značajan postotak šećera (22 %), bjelančevina (3,6 %) i masti (0,7 %). U plodu šipka na 100 g nalazi se 0,34 g masti ukupno. Od toga je udio esencijalnih masnih kiselina 56,5 %, od čega 16 % linolne i 40,5 % alfa- linolenske kiseline (Fani sur., 2014). U drugom istraživanju provedenom u Turskoj, Kazaz i suradnici (2009) navode da se u sjemenkama pasje ruže nalazi 48,84 % linolne i 20,65 % alfa-linolenske kiseline. Sjemenke šipka sadrže 6,9 – 8,6 % ulja (nezasićene masne kiseline), 6,9-8,6 % proteina (Šindrak i sur., 2013).

Plodovi se ističu značajnim antiupalnim djelovanjem (Larsen i sur., 2003), te snažnim antioksidativnim svojstvima (Gao i sur., 2000). U analizi flavonoida sadržanih u pasjoj ruži nađen je jedan antocijanin, nekoliko glikozida kvercetina, taksifolina i eriodiktiola (Janick i sur., 2010).

Stabljika i korijen se koriste za dobivanje ekstrakta tanina. Ekstrakti iz plodova pasje ruže donekle mogu zakočiti rast stanica nekih vrsta tumora u ljudskom organizmu (Janick i sur., 2010; Šindrak i sur, 2013). Pokazalo se da ekstrakt pasje ruže djeluje korisno protiv boli u trbuhu i peptičkog ulkusa (čira) (Mikošić, 2011). Daljnja istraživanja su pokazala da ekstrakti iz ploda i sjemena pasje ruže zaustavljaju prekomjernu pretilost, a pokazalo se i antimutageno djelovanje ekstrakta pasje ruže (Janick i sur., 2010).

2.15.1. Vitamini šipka

Bogatstvo vitaminom C šipak čini izuzetno ljekovitom biljnom vrstom jer vitamin C sudjeluje u različitim fiziološkim procesima u ljudskom organizmu: u fiksaciji kalcija u kostima, ubrzava detoksikacijske procese u organizmu (razgradnja nitrata, amina, nikotina, kancerogenih tvari i teških metala) (Demir i Ozcan, 2001), djeluje antistresno te sudjeluje u mnogim metaboličkim procesima poput hidroksilacije prolina i lizina u sintezi kolagena, u pretvorbi folne kiseline u tetrahidrofolat te u sintezi steroidnih hormona (Šindrak i sur., 2013). Povećava otpornost organizma prema virusnim i bakterijskim infekcijama te pomaže pri zacjeljivanju rana. Održava normalnu rezistenciju stijenki kapilara te smanjuje toksičnost nekih lijekova u organizmu. Pomaže kod dišnih bolesti i ima važnu ulogu u oksido-reduktivnim procesima. Također pozitivno djeluje na smanjenje alergijskih reakcija na hranu, životinje, ugrize i ubode. Općenito, ima vrlo blagotvoran učinak na ljudski organizam (Matleković, 2016). Zastupljenost askorbinske kiseline u pojedinim biljkama i njihovim dijelovima zavisi od utjecaja niza činitelja kao što su kvaliteta zemljišta, klima, stupanj zrelosti i stadij razvitka (Vedrina Dragojević i Šebečić, 2007). Ercişli i Guleryuz (2005) smatraju da su svježi ružini plodovi voćna vrsta najbogatija po sadržaju vitamina C. Prema istraživanju Georgieva i sur. (2014) kožica ploda je dio koji sadrži najveći udio vitamina C, dok je u sjemenkama koncentracija bila 6 puta manja. Fan i sur. (2014) u svom istraživanju osim vitamina C ističe i druge vitamine zastupljene u plodu šipka (Tablica 3).

Tablica 3. Količne vitamina u plodu pasje ruže (Fan i sur., 2014)

Na 100 g svježeg ploda	
Vitamin C	426 mg
Vitamin B1	0,016 mg
Vitamin B2	0,166 mg
Vitamin E	5,84 mg
Vitamin K	25,9 aμg

Prema istraživanju iz Turske Kazaz i sur. (2009) navode da se u mesu ploda nalazi 2200 mg, a u sjemenkama 306 mg na 100 g svježe tvari vitamina C. Na razlike u količinama vitamina utječe sortiment vrste *Rosa canina*, vrijeme berbe i ekološki čimbenici. Iz ovih istraživanja je vidljivo da u plodu pasje ruže ima mnogo više vitamina C nego u naranči (53,2 mg/100 g ploda prema USDA) i limunu (53 mg/100 g ploda prema USDA) koji su popularni izvori ovog vitamina (Matleković, 2016).

Prema nekim istraživanjima postoji mala razlika u povećanom udjelu vitamina C u plodovima pasje ruže koji su rasli na relativno kiselim tlima nego u plodovima onih ruža koje su rasle na alkalnijim tlima (Šindrak i sur., 2013). Očuvanje vitamina C ovisi o stanju zrelosti ploda, o načinu sušenja i o konzerviranju (Šindrak i sur., 2013).

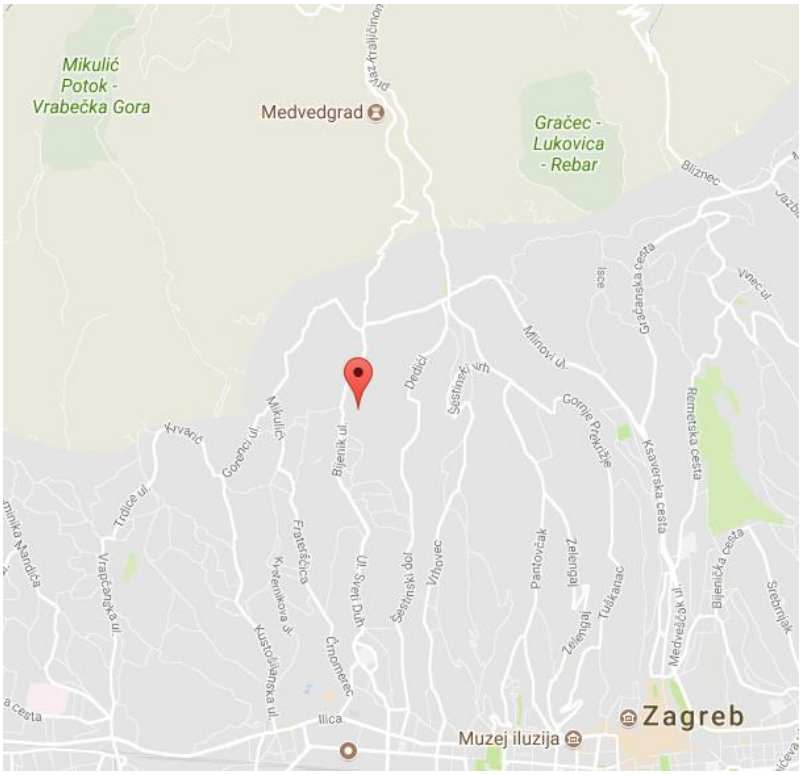
2.15.2. Ostali spojevi šipka

Osim β-karotena, šipak je odličan izvor i likopena koji također spada u karotenoide (Werlemark, 2009). Likopen ima zaštitnu ulogu kod karcinoma, pogotovo raka prostate, dojke, endometrija i pluća. Ima i antioksidativna svojstva te pomaže kod kardiovaskularnih bolesti. Budući da su Bhave i sur. (2017) u svom istraživanju podijelili plodove pasje ruže na dvije skupine (one s visokom i one s niskom antioksidativnom aktivnošću) oni navode da koncentracija likopena u plodu pasje ruže može iznositi od 1300 μg/100 g do 17 600 μg/100 g odnosno 2100 μg/100 g do 14 100 μg/100 g za sorte koje se ističu nižom antioksidativnom aktivnošću.

3. Materijali i metode istraživanja

3.1. Biljni materijal

Plodovi samoniklih genotipova pasje ruže ubrani su na neoznačenim parcelama u području Grada Zagreba, u podsljemenskoj zoni (Slika 7). Plodovi su ubrani 11.9.2017. u ranim jutarnjim satima za suhog vremena u fazi tehnološke zrelosti. Cijeli plodovi samoniklih genotipova pasje ruže kao i njihov presjek prikazani su na Slikama 8 i 9.



Slika 7. Prikaz područja gdje su ubrani plodovi samoniklih genotipova pasje ruže (www.google.hr/maps)

Slika 8. Cijeli plodovi samoniklih genotipova pasje ruže (foto: L. Stanić, 2017)

Slika 9. Presjek plodova samoniklih genotipova pasje ruže (foto: L. Stanić, 2017)

Plodovi pasje ruže iz ekološke proizvodnje uzgojeni su i ubrani na OPG Nenad Blažeković. Uzgojna površina nalazi se na području Sisačko – moslavačke županije, u selu Strelčko (Slika 10) koje je udaljeno 4,1 km od Siska. Nasad je star 6 godina. Vlasnik s obzirom da je u sustavu ekološke proizvodnje (Slika 11) nije obavljao agrotehničke mjere osim košnje. Plodovi su ubrani 11.9.2017. te istog dana pakirani u vrećice za zamrzavanje i stavljeni u hladnjak do početka analiza.

Slika 10. Prikaz uzgojne površine OPG Nenad Blažeković (www.google.hr/maps)

HRVATSKE ŠUME
društvo s ograničenom odgovornošću

10000 Zagreb, Ulica kneza Branimira 1

Uprava: mr. sc. Ivan Pavošić – predsjednik; mr. sc. Manja Vekić – član; Ivan Ištok, dipl. ing. šum. – član • Trgovački sud u Zagrebu (MBS 080251008) • MB 3631133 • OIB 69693144506 • Žiro račun broj: 2340009-1100100360 kod Privredne banke Zagreb • IBAN: HR46 2340 0091 1001 0036 0 • SWIFT: PBZGHR2X • Temeljni kapital: 1.171.670.000,00 kn, uplaćen u cijelosti •
Telefon: 01/4804 111 • Telefax: 01/4804 101 • pp 148, 10002 Zagreb • web: http://www.hrsume.hr • e-mail: direkcija@hrsume.hr

POTVRDNICA /*CERTIFICATE*

Broj: 261-773-16-1052/06

Naziv i adresa subjekta:
OPG NENAD BLAŽEKOVIĆ
Grada Vukovara 28
44 000 Sisak

Kontrolno tijelo:
HRVATSKE ŠUME d.o.o.
Služba za certifikaciju proizvoda
Ulica kneza Branimira 1
10 000 Zagreb

Osnovna djelatnost: **proizvodnja**

Kodni broj kontrolnog tijela: HR-EKO-05

Skupine proizvoda/djelatnost:
Bilje i biljni proizvodi:
Šipak, jabuka i kruška
***proizvodi su navedeni u privitku**

Određuje se kao:
Ekološka proizvodnja

Razdoblje valjanosti:
Od 26. 10. 2016. do 25. 10. 2017.

Datum kontrole:
29. 9. 2016.

Potvrdnica se izdaje na temelju članka 29. stavka 1. Uredbe (EZ) br. 834/2007 o ekološkoj proizvodnji i označavanju ekoloških proizvoda i Uredbe (EZ) br. 889/2008. Navedeni subjekt svoje je djelatnosti podvrgao kontroli i zadovoljava zahtjeve utvrđene u navedenim uredbama.

Zagreb, 26. 10. 2016.

Za kontrolno tijelo:
Rukovoditeljica Službe
za certifikaciju proizvoda

dr. sc. Jadranka Roša, dipl. ing. šum.

HRVATSKE ŠUME
društvo s ograničenom odgovornošću

10000 Zagreb, Ulica kneza Branimira 1

Uprava: mr. sc. Ivan Pavošić – predsjednik; mr. sc. Manja Vekić – član; Ivan Ištok, dipl. ing. šum. – član • Trgovački sud u Zagrebu (MBS 080251008) • MB 3631133 • OIB 69693144506 • Žiro račun broj: 2340009-1100100360 kod Privredne banke Zagreb • IBAN: HR46 2340 0091 1001 0036 0 • SWIFT: PBZGHR2X • Temeljni kapital: 1.171.670.000,00 kn, uplaćen u cijelosti •
Telefon: 01/4804 111 • Telefax: 01/4804 101 • pp 148, 10002 Zagreb • web: http://www.hrsume.hr • e-mail: direkcija@hrsume.hr

PRIVITAK POTVRDNICI /*ANEX OF CERTIFICATE*

Broj: 261-773-16-1052/06

Puni naziv subjekta: **OPG NENAD BLAŽEKOVIĆ**
Adresa subjekta: **Grada Vukovara 28, Sisak**

Bilje i biljna proizvodnja	Površina /Količina	Status
Šipak	0,97 ha	Ekološki
Jabuka	0,50 ha	Ekološki
Kruška	0,42 ha	Ekološki
Šipak	15 kg	Ekološki

Zagreb, 26. 10. 2016.

Za kontrolno tijelo:
Rukovoditeljica Službe
za certifikaciju proizvoda

dr. sc. Jadranka Roša, dipl. ing. šum.

Slika 11. Potvrdnica za OPG Nenad Blažeković o ekološkoj proizvodnji (foto: L. Stanić, 2017)

Slika 12. Plodovi pasje ruže iz ekološke proizvodnje (foto: L. Stanić, 2017)

Slika 13. Presjek ploda pasje ruže iz ekološke proizvodnje (foto: L. Stanić, 2017)

Plodovi pasje ruže iz konvencionalne proizvodnje (Slika 14 i 15) ubrani su na OPG-u Marije Petir. Uzgojna površina se nalazi na području Sisačko – moslavačke županije, u selu Žirčica koje je udaljeno 7,2 km od grada Siska (Slika 14). Starost nasada je 2 godine, a ovo je prvi rod. Od osnovnih agrotehničkih mjera, izvršena je gnojidba stajskim gnojem prije sadnje i košnja navedene površine. S obzirom na sušu naglašeno je kako su izbojci puno manji i slabiji nego prošle godine. Plodovi su ubrani 11.9.2017. te odmah nakon berbe pakirani u vrećice za zamrzavanje i stavljeni u hladnjak do početka analiza.

Slika 14. Plodovi pasje ruže iz konvencionalne proizvodnje (foto: L. Stanić, 2017)

Slika 15. Presjek ploda pasje ruže iz konvencionalne proizvodnje (foto: L. Stanić, 2017)

Slika 16. Prikaz smještaja uzgojne površine OPG Marije Petir (www.google.hr/maps)

3.2. Metode rada

3.2.1. Određivanje ukupne suhe tvari sušenjem na 105 ˚C

Ukupnu suhu tvar čini cjelokupna količina tvari iz sastava proizvoda koja ne isparava pod definiranim uvjetima (Katalinić, 2006). Ovisno o sastavu proizvoda, za određivanje ukupne suhe tvari primjenjuju se tri postupka sušenja: sušenje na 105 ºC, sušenje u vakuumu i destilacija. U ovom radu korištena je metoda sušenja pri 105 ºC (AOAC, 1995).

Aparatura i pribor:

- laboratorijski sušionik (Heraeus, Typ R.B. 360 GmbH, Hanau)
- eksikator
- staklene posudice
- analitička vaga (Sartorius)
- stakleni štapić odgovarajuće duljine ovisno o veličini posudice
- kvarcni pijesak

Postupak određivanja:

U osušenu i izvaganu staklenu posudicu s poklopcem stavi se oko 5 g kvarcnog pijeska i stakleni štapić. Potom se osuši u laboratorijskom sušioniku pod određenim uvjetima sa skinutim poklopcem. Nakon sušenja poklopac se stavi na posudicu, posudica se izvadi iz sušionika i ohladi u eksikatoru, a zatim važe s točnošću 0,0002 g.

U ohlađenu i izvaganu posudicu s pijeskom stavi se oko 3-5 g pripremljenog uzorka, koji se dobro izmiješa staklenim štapićem i sve zajedno izvaže točnošću 0,0002 g. Staklena posudica u kojoj se nalazi pijesak i ispitivana količina uzorka stavi se u laboratorijski sušionik zagrijan na 105 ºC ± 0,5 ºC u kojem se zagrijava jedan sat sa skinutim poklopcem. Nakon hlađenja i vaganja, sušenje se nastavlja sve dok razlika nakon dva uzastopna sušenja u razmaku od pola sata ne bude manja od 0,001 g. Iznova se važe s točnošću ± 0,0002 g.

Formula: $$Suha\ tvar\ (\%) = \frac{m_2 - m_0}{m_1 - m_0} \times 100$$

Prema kojoj je:

m_0 (g) – masa posudice i pomoćnog materijala (pijesak, stakleni štapić, poklopac)

m_1 (g) – masa posudice s ispitivanim uzorkom prije sušenja

m_2 (g) – masa posudice s ostatkom nakon sušenja

3.2.2. Određivanje topljive suhe tvari

Određivanje se temelji na očitavanju topljive suhe tvari izravno na ljestvici refraktometra (AOAC, 1995).

Aparatura i pribor:

- stakleni štapić
- refraktometar (Krüss, Optronic, Njemačka)

Postupak određivanja:

Pomoću staklenog štapića dio uzorka se stavi na donju učvršćenu prizmu refraktometra. Preko nje se odmah stavi gornja pokretna prizma. Izvor svjetlosti se postavi tako da dobro osvijetli vidno polje. Topljiva suha tvar izravno se očita na ljestvici refraktometra.

3.2.3. Određivanje ukupne kiselosti

Ova se metoda temelji na potenciometrijskoj titraciji otopinom natrijeva hidroksida (AOAC, 1995), a primjenjuje za određivanje ukupne kiselosti u voću, povrću i proizvodima od voća i povrća.

Aparatura i pribor:

- graduirana pipeta, obujma 25 i 100 ml
- odmjerna tikvica, obujma 250 ml
- analitička vaga (Sartorius)
- potenciometar sa staklenom elektrodom (Mettler Toledo, Sevenmulti)
- bireta obujma 100 ml
- filter papir

Reagensi:

- natrijev hidroksid, otopina c (NaOH) = 0,1 mol/l
- puferna otopina poznatog pH

Priprema uzoraka:

Uzorak se homogenizira i odvagne se 20 g, te se prenese u odmjernu tikvicu obujma 200 mL, tikvica se dopuni do oznake destiliranom vodom i njezin sadržaj dobro promućka i profiltrira. Potenciometar se baždari pomoću puferne otopine. Ovisno o očekivanoj kiselosti otpipetira se 25 ml pripremljenog uzorka i prenese u čašu s miješalicom. Miješalica se pusti u rad, a zatim iz birete brzo dodaje otopina natrijeva hidroksida dok se ne postigne pH oko 7,90 – 8,01.

Formula:

$$\text{Ukupna kiselost (\%)} = \frac{V \times F \times G}{D} \times 100$$

Prema kojoj je:
V (mL) - volumen utrošene NaOH pri titraciji
F - faktor normaliteta NaOH
G (g/mL) - gramekvivalent najzastupljenije kiseline u uzorku
D (g) - masa uzorka u titriranoj tekućiniOređivanje pH vrijednosti

3.2.4. Određivanje ph vrijednosti

Mjerenje pH vrijednosti određuje se pH-metrom, uranjanjem kombinirane elektrode u homogenizirani uzorak i očitavanjem vrijednosti (AOAC, 1995).

Aparatura i pribor:

- čaša volumena 25 mL
- magnet za miješanje
- magnetska miješalica (MM-510)
- pH-metar (Mettler Toledo, Sevenmulti)
- analitička vaga (Sartorius)

Priprema uzoraka:

Uzorci se najprije profiltriraju kako bi se uklonile balastne tvari, a zatim slijedi postupak određivanja pH vrijednosti.

Postupak određivanja:

Prije mjerenja pH-metar se baždari pufer otopinom poznate pH vrijednosti kod sobne temperature. pH vrijednost određuje se uranjanjem elektrode u ispitivani uzorak.

3.2.5. Određivanje L-askorbinske kiseline

2,6-p-diklorindofenol oksidira L-askorbinsku kiselinu u dehidrosakorbinsku kiselinu, dok boja reagensa ne prijeđe u bezbojnu leukobazu, pa služi istovremeno i kao indikator ove redoks reakcije. Ova metoda se primjenjuje za određivanje askorbinske kiseline u proizvodima od voća i povrća (AOAC, 2002).

Aparatura i pribor:

- homogenizator (Zepter international)
- analitička vaga (Sartorius)
- odmjerna tikvica volumena 100 mL
- čaše volumena 100 mL

- bireta 50 mL
- Reagensi
- 2,6-p-diklorfenolindofenol
- 2 %-tna oksalna kiselina

Priprema uzoraka:

Uzorak se homogenizira uz dodatak 2 %-tne otopine oksalne kiseline i kvantitativno prenosi u odmjernu tikvicu od 100 mL. Uz povremeno miješanje, nakon jednog sata, odmjerna tikvicu se nadopuni do oznake otopinom oksalne kiseline. Filtrat se titrira otopinom 2,6-p-diklorindofenola. Iz utrošenog 2,6-p-diklorindofenola za titraciju filtrata do pojave ružičaste boje koja je bila postojana pet sekundi, izračuna se količina L-askorbinske kiseline u uzorcima te se izrazi u mg/100 g svježe tvari.

Formula za izračun: $Vitamin\ C\ (mg/100g) = \frac{V \times F}{D} \times 100$

Prema kojoj je:
V (mL) - volumen utrošenog 2,6-p-diklorfenolindofenola pri titraciji
F - faktor normaliteta 2,6-p-diklorfenolindofenola
D (g) - masa uzorka u titriranoj tekućini

3.2.6. Određivanje ukupnih fenola

Ukupni fenoli određuju se spektrofotometrijski u etanolnom ekstraktu uzorka mjerenjem nastalog intenziteta obojenja pri valnoj duljini 750 nm. Metoda se bazira na kolornoj reakciji fenola s Folin-Ciocalteu reagensom. Folin-Ciocalteu reagens je smjesa fosfowolframove i fosfomolibden kiseline, a pri oksidaciji fenolnih spojeva ove kiseline reduciraju se u wolfram-oksid i molibden-oksid koji su plavo obojeni (Ough i Amerine, 1988).

Aparatura i pribor:
- filter papir
- stakleni lijevci
- pipete, volumena 1 mL, 2 mL, 5 mL, 10 mL i 25 mL
- tikvica s okruglim dnom volumena 100 mL
- odmjerne tikvice volumena 50 mL i 100 mL
- kivete
- povratno hladilo
- spektrofotometar (Schimadzu UV 1650 PC)

Kemikalije:

- 96 %-tni etanol
- 80 %-tni etanol
- Folin-Ciocalteu reagens (F.C. reagens)
- zasićena otopina natrijeva karbonata

Priprema uzoraka:

10 g uzorka se izvaže s točnošću ± 0,01 g i homogenizira se s 40 mL 80 %-tnog etanola. Homogena smjesa kuha se 10 minuta uz povratno hladilo. Dobiveni ekstrakt se filtrira u odmjernu tivicu od 100 mL. Zaostali talog zajedno s filter papirom se prebaci s 50 mL 80 %-tnog etanola u tikvicu sa šlifom i dodatno kuha uz povratno hladilo još 10 min. Dobiveni ekstrakt se spoji s prethodno dobivenim ekstraktom i nadopuni do oznake s 80 %-tnim etanolom.

Postupak određivanja:

U odmjernu tikvicu od 50 mL otpipetira se 0,5 mL ekstrakta, 30 mL destilirane vode i 2,5 mL F.C. reagensa. Sve skupa se promiješa. Pripremljenoj smjesi doda se 7,5 mL zasićene otopine natrijevog karbonata. Dobro se izmiješa, nadopuni destiliranom vodom do oznake te se ostavi dva sata na sobnoj temperaturi. Nakon toga mjeri se apsorbancija (optička gustoća otopine) pri valnoj duljini 750 nm uz destiliranu vodu kao slijepu probu.

Izrada baždarnog pravca:

Za pripremu baždarnog pravca odvaže se 500 mg galne kiseline koja se otopi u 80 %-tnom etanolu i nadopuni u odmjernoj tikvici od 100 mL do oznake. Od pripremljene otopine galne kiseline prirede se razrjeđenja u odmjernim tikvicama od 100 mL, tako da se otpipetira redom 0, 1, 2, 3, 5 i 10 mL alikvota standarda u svaku tikvicu i potom se nadopunjavaju do oznake 80 % etanolom. Koncentracije galne kiseline u tikvicama iznose 0, 50, 100, 150, 250 i 500 mg/L. Iz svake tikvice otpipetira se 0,5 mL uzorka u odmjerne tikvice od 50 mL. Potom se dodaje redom 30 mL destilirane vode, 2,5 mL F.C. reagensa i 7,5 mL zasićene otopine natrijevog karbonata. Dobro se izmiješa i nadopunjava destiliranom vodom do oznake. Uzorci se ostave dva sata na sobnoj temperaturi. Nakon toga mjeri se apsorbancija pri valnoj duljini 750 nm uz destiliranu vodu kao slijepu probu. Iz izmjerenih vrijednosti apsorbancija nacrta se baždarni pravac tako da se na apscisi nanese koncentracija galne kiseline (mg/L), a na ordinati izmjerene vrijednosti apsorbancije.

Račun:

Baždarni pravac nacrta se pomoću računala u programu Microsoft Excel, te se izračuna jednadžba pravca prema kojoj se izračuna koncentracija ukupnih fenola.

Formula za izračun: $y = 0{,}001\,x + 0{,}0436$

Prema kojoj je:

y – apsorbancija na 750 nm

x – koncentracija galne kiseline (mg/ L)

3.2.7. Određivanje flavonoida i neflavonoida

Za taloženje flavonoidnih fenolnih spojeva preporuča se upotreba formaldehida. Formaldehid reagira s C-6 ili C-8 pozicijom na 5,7-dihidroksi flavonoidu stvarajući metilol derivate koji dalje reagiraju s drugim flavonoidnim spojevima također na C-6 ili C-8 poziciji. Pri tome nastaju kondenzirane molekule koje se uklone filtriranjem. Ostatak neflavonoidnih fenola određuje se po metodi za ukupne fenole (Ough i Amerine, 1988). Razlika ukupnih fenola i neflavonoida daje količinu flavonoida.

Aparatura i pribor:

- filter papir
- stakleni lijevci
- Erlenmeyer-ova tikvica sa šlifom i čepom volumena 25 mL
- pipete volumena 1 mL, 2 mL, 5 mL, 10 mL i 25 mL
- analitička vaga
- staklene kivete
- spektrofotometar (Schimadzu UV 1650 PC)

Kemikalije:

- klorovodična kiselina, HCl 1: 4 (konc. HCl razrijedi se vodom u omjeru 1: 4)
- formaldehid (13 mL 37 %-tnog formaldehida u 100 mL vode)
- dušik za propuhivanje uzorka
- zasićena otopina natrijeva karbonata
- Folin-Ciocalteu reagens
- 80 %-tni etanol

Priprema uzoraka:

Ekstrakt ukupnih fenola (opisan u poglavlju 3.2.6.) koristi se i za određivanje flavonoida i neflavonoida.

Postupak određivanja:

Otpipetira se 10 mL ekstrakta u tikvicu od 25 mL i doda 5 mL otopine HCl (1:4) te 5 mL formaldehida. Smjesa se propuše dušikom, zatvori i ostavi stajati 24 sata na sobnoj temperaturi u mraku. Sljedeći dan se profiltrira preko filter papira i slijedi isti postupak kao za određivanje ukupnih fenola.

Račun:

Koncentracija neflavonoida izračunava se na isti način kao i koncentracija ukupnih fenola uzimajući u obzir i dodatna razrjeđenja. Iz razlike količine ukupnih fenola i neflavonoida odredi se količina ukupnih flavonoida.

3.2.7. Određivanje β-karotena

Metoda se bazira na odjeljivanju biološki aktivnih od ostalih karotenoidnih pigmenata u nekom ekstraktu, pomoću specifičnog adsorbensa s različitim afinitetom na različite pigmente. Pod određenim uvjetima različiti materijali mogu se razdijeliti na relativno oštre zone ili vrpce. Pojedini pigmenti pokazuju karakteristične apsorpcione maksimume, kod kojih se može njihova koncentracija odrediti fotometrijski.

Reagensi:

- adsorbens – smjesa jednakih dijelova Al2O3 i bezvodnog Na2SO4, a aktivira se
- zagrijavanjem na 150 °C za vrijeme 12-16 sati
- petroleter t.v. 40-70 °C
- aceton
- smjesa petroleter-aceton 1:1.Na litru smjese doda se 1 g hidrokinona
- 2%-tna otopina acetona u petroleteru
- kvarcni pijesak
- standard ß-karotena

Postupak određivanja:

1. Ekstrakcija pigmenta:-u čašu od 50 mL se odvaže 1-2 g uzorka, doda se ista količina kvarcnog pijeska, 8-10 mL petroleter-acetona 1:1 i sve se dobro izmrvi. Ovako dobiveni ekstakt ostavi se stajati dok se čvrsti djelići ne slegnu. U lijevak za odvajanje od 250 mL, u koji je naliveno oko 50 mL vode, dekantira se otapalo, a vlažni talog se dalje mrvi dok se ne razore obojeni djelići. Sitnjenje i dekantiranje ponavlja se tako dugo dok se još ekstrahira karoten. Za većinu materijala dovoljno je 5-8 ekstrakcija.

2. Ispiranje acetonom: tragovi acetona se moraju potpuno odstraniti iz petroletera. To se postiže pomoću posebne aparature. Pipac gornjeg lijevka podesi se tako da pušta 100-200 kapi vode u minuti. Višak vode otiče noseći aceton i druge supstance otopljene u vodi ostavljajući karotene u petroleterskom sloju. Kada je ispiranje završeno vodeni sloj je bistar čak i dok padaju kapi vode.

3. Pročišćavanje petroleterskog estrakta: eluat se prenese u odmjernu tikvicu od 25 mL i nadopuni petroleterom do oznake. Intenzitet boje ekstrakta mjeri se kod 450 nm, prema petroleteru kao slijepoj probi. Standardna krivulja izradi se pomoću standarda ß-karotena. Koncentracija karotena konačne otopine izražena je u µg/mL.

Formula: $\mu g\ \% = \frac{V}{A} \times 100 \times c$

Prema kojoj je:
V (ml) - konačni volumen elauata
A (g) - odvaga
c - koncentracija karotena u g/mL očitana iz dijagrama za izmjerenu vrijednost apsorbance

3.2.8. Određivanje sadržaja antocijana

Metoda se temelji na principu da se HSO_3^- ion veže na antocijane na položaju 2' te tako prevodi obojeni kation antocijana u bezbojni leuko oblik. Istovremeno se kontrolni uzorak tretira s destiliranom vodom. Kolorimetrijski se određuje razlika apsorbancije u oba uzorka. Dobivena razlika pokazuje količinu antocijana (Ough i Amerine, 1988).

Aparatura i pribor:

- staklena čaša volumena 50 mL
- pipete volumena 2 mL, 5 mL, 10 mL i 20 mL
- epruvete
- kivete
- analitička vaga
- spektrofotometar (Schimadzu UV 1650 PC)
- centrifuga (HETTICH, ROTOFIX 32)

Kemikalije:

- 96 %-tni etanol sa 0,1 % (v / v) HCl (0,1 mL konc. klorovodične kiseline nadopuni se s 96 %-tnim etanolom do 100 mL)
- 2 %-tna vodena otopina klorovodične kiseline
- 15 %-tna otopina natrij-hidrogensulfita

Priprema uzorka:

U kivetu se odvaže 2 g uzorka, otpipetira se 2 mL 96 %-tnog etanola s 0,1 % (v / v) HCl i 40 mL 2 %-tne otopine klorovodične kiseline. Dobro se promiješa i kivete se stave na centrifugiranje 10 minuta pri 4500 okretaja u minuti. Nakon centrifugiranja bistri dio se od dekantira i dalje koristi za analizu.

Postupak određivanja:

Nakon centrifugiranja, od bistrog dijela otopine otpipetira se po 10 mL u dvije epruvete. U jednu se doda 4 mL destilirane vode, a u drugu 4 mL 15 %-tnog natrijevog hidrogensulfita. Epruvete stoje 15 minuta na sobnoj temperaturi nakon čega se mjeri apsorbancija pri 520 nm. Slijepa proba je 2 %-tna otopina klorovodične kiseline.

Formula: $Ac\ (mg/L) = 615 \times (A1 - A2)$

Prema kojoj je:

Ac (mg/ L) - količina antocijana u ispitivanom uzorku

615 – faktor preračunavanja

A1 – apsorbancija uzorka kojem je dodana voda

A2 – apsorbancija uzorka kojem je dodana 15 %-tna otopina natrijeva hidrogensulfita.

3.2.9. Određivanje antioksidacijskog kapaciteta ABTS metodom

Metoda se temelji na gašenju stabilnog plavo-zelenog radikal-kationa 2,2′-azinobis (3-etilbenzotiazolin-6-sulfonska kiselina) (ABTS·+ radikal-kationa) koji se oblikuje bilo kemijskom ili enzimskom oksidacijom otopine ABTS-a čiji je karakterističan adsorpcijski maksimum pri valnoj duljini od 734 nm. U prisutnosti antioksidansa ABTS·+ kation se reducira u ABTS, a reakcija se očituje obezbojenjem plavo-zelene otopine. Udio uklonjenih ABTS radikala koji „gase“ različiti antioksidansi mjeri se praćenjem smanjenja apsorbancije ABTS radikala te se uspoređuje sa smanjenjem apsorbancije koju uzrokuje dodatak određene količine Troloxa (6-hidroksi-2,5,6,7,8-tetrametilkroman-2-karbonska kiseline) pri istim uvjetima (Miller i sur., 1993; Re i sur., 1999).

Priprema reagensa:

1.dan:

140 mM otopina kalijeva persulfata, $K_2S_2O_8$ (0,1892 g $K_2S_2O_8$ izvaže se i otopi u 5 mL destilirane vode u odmjernoj tikvici od 10 mL 7 mM ABTS otopina (0,0192 g ABTS reagensa otopi se u 5 mL destilirane vode u odmjernoj tikvici od 10 mL) stabilna ABTS·+ otopina (88 µL $K_2S_2O_8$ otopine (140mM) prenese se u tikvicu u kojoj se nalazi 5 mL otopine ABTS-a; sadržaj tikvice se dobro promiješa, zatvori, obloži aluminijskom folijom i ostavi stajati 12-16 sati pri sobnoj temperaturi; stajanjem intenzitet plavo-zelene boje se pojačava)

2. dan:

Na dan provođenja svih analiza priprema se 1%-na otopina ABTS·+ (1 mL ABTS·+ otopine otpipetira se u odmjernu tikvicu od 100 mL i nadopuni 96%-im etanolom do oznake. Nakon toga mjeri se apsorbanca 1%-ne otopine ABTS·+ pri 734 nm koja mora iznositi 0,70 ± 0,02. Ako apsorbanca otopine ne iznosi 0,734 onda ju je potrebno namjestiti, odnosno ako je apsorbanca premala u tikvicu od 100 mL pripremljene 1%-ne otopine ABTS·+ treba dodati još par kapi stabilne ABTS·+ otopine, a ako je apsorbanca prevelika onda treba razrijediti odnosno u tikvicu (100 mL) dodati još 96 %-og etanola.

NAPOMENA: Isti dan kada se pripremi 1%-na otopina ABTS·+ s podešenom apsorbancom na 0,70 ± 0,02 treba napraviti i sve analize uzoraka (i baždarni pravac ako je to potrebno) jer je ABTS·+ otopina nestabilna i nepostojana već unutar 24 sata.

Priprema uzoraka za analizu:

Procedura ekstrakcije iz uzoraka ista je kao i u protokolu određivanja fenola Folin-Ciocalteu metodom. ABTS metodu najbolje je provesti kada se rade i fenoli te iz pripremljenih fenolnih ekstrakata napraviti analizu i za fenole i za ABTS tako da se poslije rezultati sadržaja fenola i ABTS-a mogu korelirati. 10 g uzorka izvaže se izravno u Erlenmeyerovu tikvicu sa šlifom (300 mL) i doda se 40 mL 80 %-og etanola te se kuha uz povratno hladilo 10 minuta. Nakon kuhanja sadržaj se profiltrira u odmjernu tikvicu od 100 mL. Ostatak taloga zajedno s filtar papirom prebaci se u Erlenmeyerovu tikvicu (istu, 300 mL), doda se 50 mL etanola i ponovno kuha 10 min uz hladilo. Nakon toga sadržaj se profitrira u istu tikvicu od 100 mL odnosno ekstrakti se spoje, ohlade, nakon čega se odmjerna

tikvica od 100 mL nadopuni 80 %-im etanolom do oznake. Ako je potrebno ekstrakte treba razrijediti 80 %-im etanolom (u slučaju prevelike apsorbance).

Postupak određivanja (spektrofotometrijski):

160 µL uzorka (ekstrakta) pomiješa se s 2 mL 1%-ne otopine ABTS·+ te se nakon 1 min mjeri apsorbanca na 734 nm. Za slijepu probu se koristi 96 % etanol.

Izrada baždarnog pravca:

Za izradu baždarnog pravca u ABTS metodi koristi se Trolox koji uzrokuje smanjenje boje ABTS·+ otopine. Točke određene za izradu baždarnog pravca su sljedeće: 0, 100, 200, 400, 1000, 2000 i 2500 µmol/dm3. Najprije se pripremi stock otopina i to tako da se u odmjernu tikvicu od 25 mL izvaže 0,0156 Trolox-a, a tikvica se 80 %-im etanolom nadopuni do oznake. Iz stock otopine uzimaju se sljedeći volumeni Trolox-a za pripremu daljnjih razrjeđenja koja se pripremaju u odmjernim tikvicama od 25 mL1:

- ⟶ 0 mL Trolox (samo EtOH)
- 100 ⟶ 0,4 mL
- 200 ⟶ 0,8 mL
- 400 ⟶ 1,6 mL
- 1000 ⟶ 4 mL
- 2000 ⟶ 8 mL
- 2500 ⟶ 10 mL

Nakon pripreme navedenih koncentracija Trolox-a iz svake tikvice u kojoj je navedena koncentracija Trolox-a uzima se 160 µL otopine Trolox-a i dodaje 2 mL 1%-ne ABTS·+ otopine podešene apsorbance (0,70 ± 0,02). Nakon što pomiješamo dodanu koncentraciju Trolox-a i 1 %-ne ABTS·+ otopine izmjeri se apsorbanca pri 734 nm. I tako za svaku točku koncentracije Troloxa. Temeljem izmjerenih vrijednosti apsorbanca za svaku točku napravi se baždarni pravac.

3.2.10. Statistička obrada podataka

Podaci su statistički obrađeni u programskom sustavu SAS, verzija 9.3 (SAS, 2010). Korišten je Duncanov test značajnosti razlika (1 %). Rezultati su podvrgnuti jednosmjernoj analizi varijance (ANOVA). Sve laboratorijske analize rađene su u tri repeticije. Srednje vrijednosti uspoređene su t-testom (LSD), a smatraju se značajno različitim pri $p \leq 0,0001$. U tablicama su uz rezultate u eksponentima prikazana različita slova koja označavaju grupe uzoraka. Također je izražena i standardna devijacija.

4. Rezultati i rasprava

4.1. Osnovni kemijski sastav plodova pasje ruže

Rezultati osnovnog kemijskog sastava plodova pasje ruže prikazani su u Tablici 5, a obuhvaćaju količine ukupne suhe tvari (%), topljive suhe tvari (%), ukupne kiselosti (%) i pH vrijednosti. Prema dobivenim rezultatima, značajne statističke razlike između istraživanih uzoraka utvrđene su za suhu tvar i topljivu suhu tvar, dok za količinu ukupnih kiselina i pH-vrijednosti nisu utvrđene značajne razlike između uzoraka. U plodovima samoniklih genotipova utvrđen je najveći postotak suhe tvari (46,41 %) i ukupnih kiselina (9,57 %). S obzirom na prosječnu vrijednost suhe tvari za sva tri načina uzgoja (42,76 %) utvrđene su značajno veće vrijednosti u odnosu na podatke objavljene u istraživanju Kazankaye i sur. (2005), Baričević (2010) te Šindrak i sur. (2012). Dobiveni rezultati sadržaja topljive suhe tvari u analiziranim plodovima se ne podudaraju s rezultatima istraživanja Kazankaye i sur. (2005) te Šindrak i sur. (2013). Utvrđena je značajno veća količina ukupnih kiselina u plodovima samoniklih genotipova u odnosu na dobivene rezultate iz istraživanja Ersiclija (2007). pH vrijednosti u ovom istraživanju ne podudaraju se s istraživanjem Kazankaye i sur. (2005) čije su vrijednosti iznosile od 3,2 do 4,4. Mogući razlozi velikih odstupanja dobivenih rezultata parametara osnovnog kemijskog sastava od pregledane literature su različito podneblje uzgoja, klimatski uvjeti, način uzgoja pasje ruže i provedenih agrotehničkih mjera (Baričević, 2010, Roman i sur., 2013).

Tablica 5. Osnovni kemijski sastav plodova pasje ruže

UZORAK	ST (%) $p \leq 0{,}0185$	TST (%) $p \leq 0{,}0001$	UK. KIS. (%) NS	pH NS
P 1	$46{,}41^{a} \pm 0{,}28$	$3{,}77^{b} \pm 0{,}99$	9,57±1,29	6,97±0,02
P 2	$41{,}08^{b} \pm 1{,}46$	$3{,}93^{a} \pm 1{,}49$	5,80±2,14	6,46±0,03
P 3	$40{,}80^{b} \pm 1{,}85$	$3{,}72^{b} \pm 1{,}76$	7,73±0,83	7,03±0,02

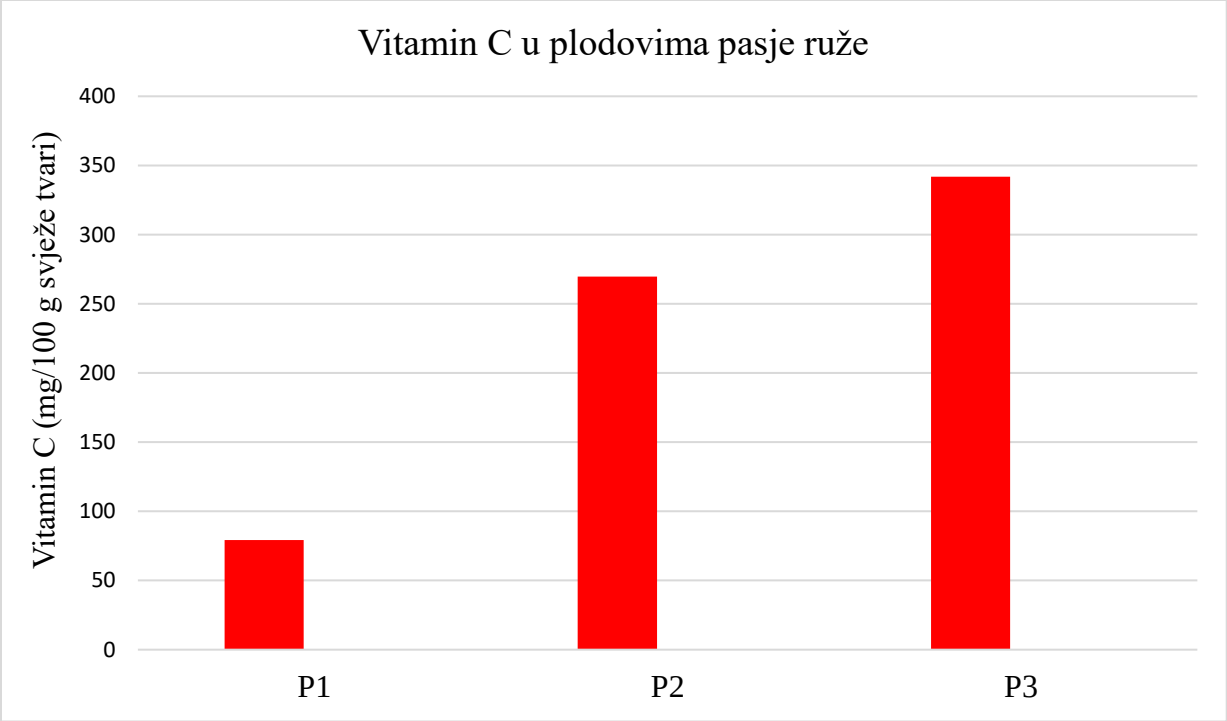
P1 – plodovi samoniklih genotipova; P2 –plodovi iz ekološke proizvodnje.; P3 –plodovi iz konvencionalne proizvodnje; ST – suha tvar; TST – topljiva suha tvar; UK. KIS.- ukupne kiseline. NS- nije signifikantno. Različita slova prikazuju značajne statističke razlike između srednjih vrijednosti.

4.2. Sadržaj vitamina C u plodovima pasje ruže

U plodovima pasje ruže iz različitog načina uzgoja količina vitamina C kreće se u rasponu od 79,26 (plodovi samoniklih genotipova) do 341,92 mg/100 g svježe tvari (plodovi iz konvencionalnog uzgoja) (Grafikon 1), prilikom čega je utvrđena visoko signifikantna statistička razlika ($p \leq 0{,}0001$) između svih istraživanih uzoraka (Tablica 2, Prilog). Najviši sadržaj vitamina C utvrđen je u plodovima iz konvencionalnog uzgoja (341,92 mg/100 g svježe tvari), zatim u plodovima iz ekološkog uzgoja (269,68 mg/100 g svježe tvari), a

najmanje vitamina C (79,26 mg/100 g svježe tvari) utvrđeno je u plodovima samoniklih genotipova.

Uspoređujući rezultate vitamina C ovog istraživanja i drugih literaturnih navoda vrijedi istaknuti da je količina vitamina C u plodovima iz konvencionalnog uzgoja bila veća za čak 67,8 % od rezultata dobivenih u istraživanju Georgieva i sur. (2014), a za 20,2 % manja od rezultata dobivenih iz istraživanja Kazaz i sur. (2009). Dobiveni rezultati količine vitamina C iz konvencionalnog uzgoja i ekološkog uzgoja ovog istraživanja odgovaraju rasponu (301 – 1183 mg/100 g svježe tvari) iz istraživanja Kazankaya i sur. (2005), dok su rezultati dobiveni iz plodova samoniklih genotipova za 3 puta manji od najniže vrijednosti raspona. Prekursor za sintezu vitamina C je glukoza. Budući da je glukoza jedan od produkata fotosinteze, sadržaj vitamina C je povezan sa stopom fotosinteze (Vedrina Dragojević i Šebečić, 2007). Temeljem navedenog, mogući razlog ovakvih odstupanja rezultata dobivenih u ovom istraživanju u odnosu na rezultate dobivene u drugim istraživanjima su klimatski uvjeti, odnosno različito podneblje u kojem su plodovi uzgajani.



P1 – plodovi samoniklih genotipova; P2 – plodovi iz ekološkog uzgoja; P3 – plodovi iz konvencionalnog uzgoja

Grafikon 1. Sadržaj vitamina C (mg/100 g svježe tvari) u plodovima pasje ruže

4.3. Sadržaj ukupnih fenola, flavonoida i neflavonoida u plodovima pasje ruže

Fenolni spojevi imaju obrambenu ulogu u biljci te pomažu u prilagodbi i preživljavanju u nepovoljnim uvjetima, a njihova sinteza je pojačana u uvjetima kada je biljka izložena stresu (Lovrić, 2014). Količine ukupnih fenola (Grafikon 2) u plodovima pasje ruže iznosile su od 1109,62 mg GAE/100 g svježe tvari (plodovi iz konvencionalnog uzgoja) do 1310,79

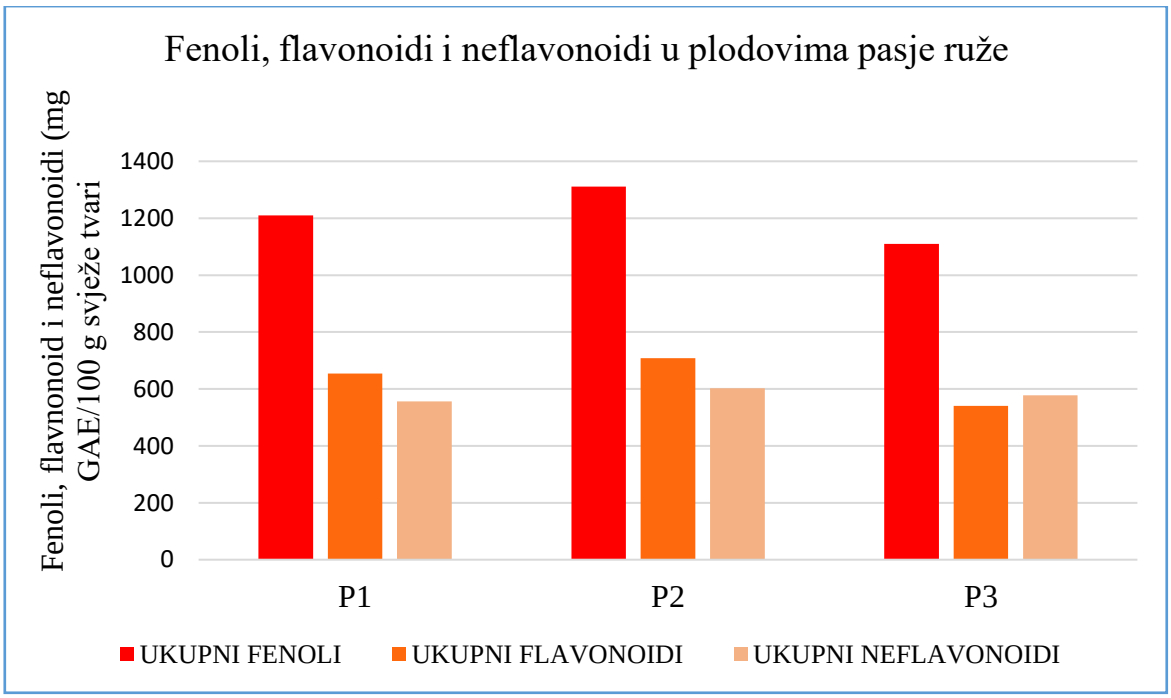
mg GAE/100 g svježe tvari (plodovi iz ekološkog uzgoja). Najveća koncentracija ukupnih fenola utvrđena je kod ekološki uzgojenih plodova (1310,79 mg GAE/100 g), nešto niža kod plodova samoniklih genotipova (1210,19 mg GAE/100 g), a najniža koncentracija utvrđena je kod plodova iz konvencionalnog uzgoja (1109,62 mg GAE/100 g). Budući da kod plodova iz ekološke proizvodnje nisu provedene agrotehničke mjere (poput prekomjerne gnojidbe) dobiveni rezultati visokog sadržaja fenolnih spojeva su očekivani.

Sadržaj ukupnih flavonoida u plodovima pasje ruže (Grafikon 2) iznosio je od 540,38 mg GAE/100 g do 708,50 mg GAE/100 g svježe tvari. Najviše ukupnih flavonoida utvrđeno je kod plodova iz ekološkog uzgoja (708,50 mg GAE/100 g), nešto niže kod plodova samoniklih genotipova (653,65 mg GAE/100 g), a najmanje je utvrđeno kod plodova iz konvencionalnog uzgoja (540,38 mg GAE/100 g).

Sadržaj ukupnih neflavonoida (Grafikon 2) se kretao u rasponu od 556,54 mg GAE/100 g do 602,32 mg GAE/100 g. Najmanje ukupnih neflavonoida utvrđeno je kod plodova samoniklih genotipova (556,54 mg GAE/100 g), nešto više kod plodova iz konvencionalnog uzgoja (577,57 mg GAE/100 g), dok je najviše utvrđeno kod plodova iz ekološkog uzgoja (602,32 mg GAE/100 g).

Dobivene vrijednosti za sadržaj ukupnih fenola kod ekološki uzgojenih plodova u ovom istraživanju su za 37 % veći od rezultata (818 mg GAE/100g svježeg ploda) dobivenih u istraživanju Yoo i sur. (2008).

Za sve navedene istraživane fenolne spojeve (ukupne fenole, flavonoide i neflavonoide) utvrđene su visoko signifikantne statističke razlike ($p \leq 0,0001$) s obzirom na način uzgoja plodova (Tablica 1, Prilog).



P1 – plodovi samoniklih genotipova; P2 – plodovi iz ekološkog uzgoja; P3 – plodovi iz konvencionalnog uzgoja

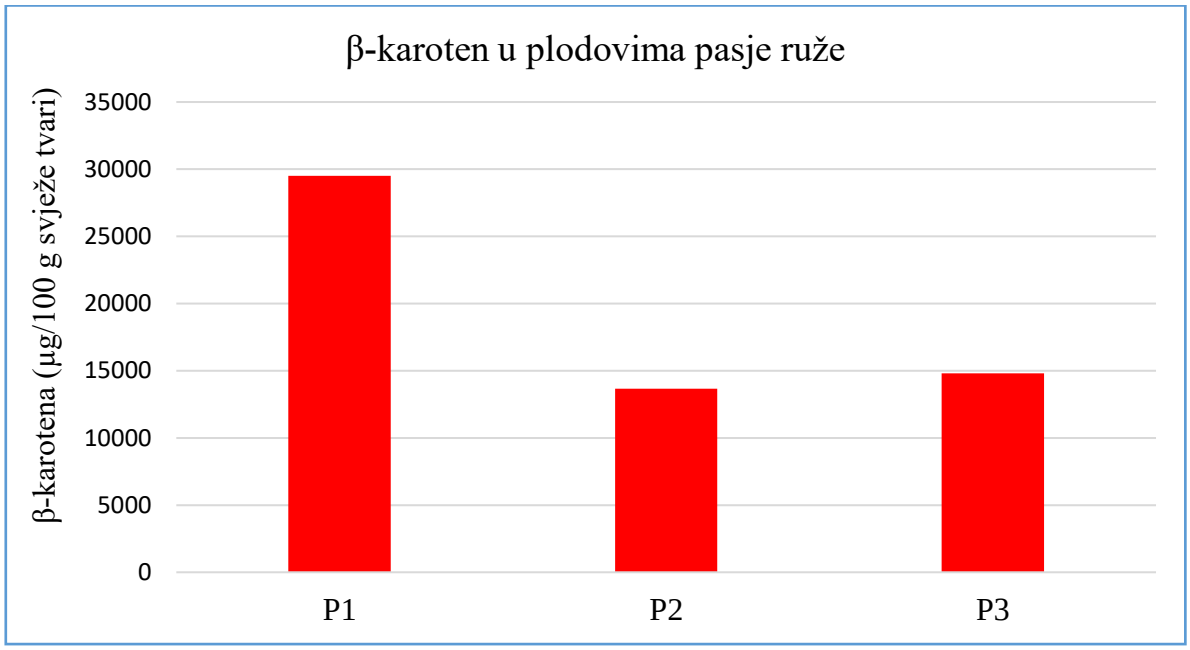
Grafikon 2. Sadržaj ukupnih fenola, flavonoida i neflavonoida (mg GAE/100 g svježe tvari) u plodovima pasje ruže

4.4. Sadržaj ukupnih antocijana u plodovima pasje ruže

S obzirom na vanjsku boju plodova (narančasto prema crvenoj) planirano je određivanje sadržaja ukupnih antocijana, odnosno spojeva koji plodovima daju karakteristično crveno, plavo i ljubičasto obojenje. No, metodom određivanja ukupnih antocijana korištenoj za potrebe ovog istraživanja nije determiniran sadržaj navedenih pigmentnih spojeva.

4.5. Sadržaj β-karotena u plodovima pasje ruže

U plodovima pasje ruže su determinirani i pigmentni spojevi iz skupine karotenoida, konkretnije β-karoten. Vrijednosti β-karotena u plodovima pasje ruže kreću se u rasponu od 13 663 µg/100 g do 29 500 µg/100 g svježe tvari (Grafikon 3). Najmanja vrijednost utvrđena je kod plodova iz ekološkog uzgoja (13 663 µg/100 g), nešto veća vrijednost kod plodova iz konvencionalnog uzgoja (14 800 µg/100 g), dok su značajno veće vrijednosti utvrđene kod plodova samoniklih genotipova (29 500 µg/100 g). Vidljiva je značajno visoka statistička razlika ($p \leq 0{,}0001$) ovisno o načinu uzgoja (Tablica 1, Prilog). Dobiveni rezultati se podudaraju s rezultatima dobivenim iz istraživanja Bhave i sur. (2017). Dobiveni rezultati količine β-karotena u samoniklim plodovima pasje ruže u ovom istraživanju su se pokazali značajno većima od količina β-karotena dobivenog u istraživanju Kazaz i sur. (2009).



P1 – plodovi samoniklih genotipova; P2 – plodovi iz ekološkog uzgoja; P3 – plodovi iz konvencionalnog uzgoja

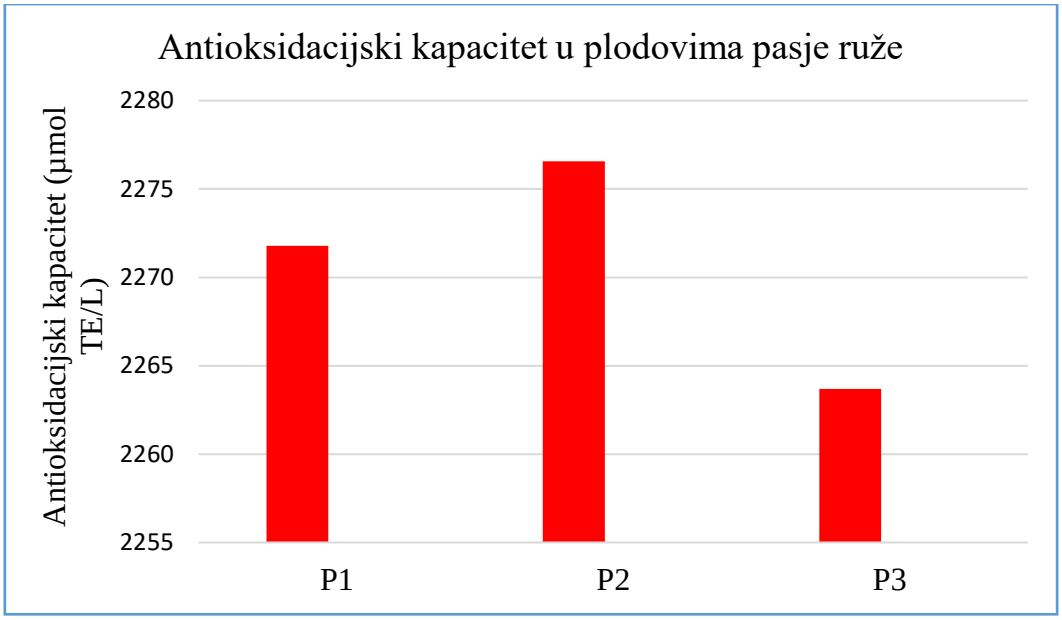
Grafikon 3. Sadržaj β-karotena (µg/100 g svježe tvari) u plodovima pasje ruže

4.6. Antioksidacijski kapacitet plodova pasje ruže

Antioksidacijski kapacitet definiraju antioksidacijski spojevi. Antioksidacijski spojevi su spojevi koji imaju sposobnost neutralizacije slobodnih radikala. Što neki uzorak ima više tih spojeva (vitamin C, karotenoidi, fenoli) to je njegov antioksidacijski kapacitet veći (Soto-Hernandez i sur., 2008).

Antioksidacijski kapacitet uzoraka plodova iz različitog uzgoja (Grafikon 4) iznosio je od 2263,68 do 2276,57 µmol TE/L. Vrijednosti su bile najveće kod plodova iz ekološkog uzgoja (2276,57 µmol TE/L), nešto manje kod plodova samoniklih genotipova (2271,78 µmol TE/L), a najmanje vrijednosti su utvrđene kod plodova iz konvencionalnog uzgoja (2263,68 µmol TE/L). Navedeni rezultati su očekivani s obzirom da je u plodovima iz ekološkog uzgoja utvrđeno najviše ukupnih fenolnih spojeva. Također, statističkom analizom podataka utvrđene su značajne razlike između plodova s obzirom na način uzgoja (Tablica 1, Prilog).

Pregledom literaturnih izvora drugih autora može se zaključiti da su i ostali autori dobili visoke vrijednosti antioksidacijske aktivnosti što dokazuje da su plodovi šipka bogati izvor različitih bioaktivnih spojeva (Gao i sur., 2010; Roman i sur, 2013; Georgieva i sur, 2014; Bhave i sur, 2017).



P1 – plodovi samoniklih genotipova; P2 – plodovi iz ekološkog uzgoja; P3 – plodovi iz konvencionalnog uzgoja

Grafikon 4. Antioksidacijski kapacitet (µmol TE/L) plodova pasje ruže

5. Zaključak

Pasja ruža je biljna vrsta s velikim potencijalom za uzgoj u Republici Hrvatskoj. Osim što ima odličnu mogućnost prilagođavanja uvjetima gdje druge biljke ne mogu rasti, moguća je iskoristivost svih njenih dijelova u medicinske, prehrambene i farmaceutske svrhe. U Hrvatskoj se, iako je do sad bila zanemarena i nedovoljno iskorištena, sve više budi interes za njenom proizvodnjom i preradom.

Temeljem rezultata ovog istraživanja može se zaključiti sljedeće:

1. Najveći postotak suhe tvari (46,41 %) imali su plodovi samoniklih genotipova.
2. Najveći postotak topljive topljive suhe tvari (3,93 %) bio je u plodovima iz ekološkog uzgoja.
3. Najveći postotak ukupnih kiselina (9,57 %) imali su plodovi samoniklih genotipova.
4. Najveći sadržaj vitamina C utvrđen je u plodovima iz konvencionalnog uzgoja (341,92 mg/100 g svježe tvari).
5. Najveća koncentracija ukupnih fenola (1310,79 mg GAE/100g), ukupnih flavonoida (708,50 mg GAE/100 g) i ukupnih neflavonoida (602,32 mg GAE/100 g) utvrđena je kod ekološki uzgojenih plodova.
6. Najveći sadržaj β-karotena imali su plodovi samoniklih genotipova (29 500 µg/100 g).
7. Najveće vrijednosti antioksidacijskog kapaciteta su utvrđene kod plodova iz ekološkog uzgoja (2276,57 µmol TE/L).

Temeljem svega navedenog, valja istaknuti da pasja ruža kao voćna vrsta ima potencijal za upotrebu zbog svog bogatog nutritivnog sastava, visokog sadržaja bioaktivnih spojeva i visoke antioksidacijske aktivnosti. Ovim diplomskim radom smo utvrdili da način uzgoja, podneblje i klimatski uvjeti značajno utječu na sadržaj bioaktivnih komponenata u plodovima pasje ruže (*Rosa canina* L.)

6. Literatura

1. AOAC (1995). Official methods of Analysis (16th ed.). Washington, DC: Association of Official Analytical Chemists.
2. AOAC (2002). Official methods of Analysis (17th ed.). Washington, DC: Association of Official Analytical Chemists.
3. Baktir I., Hazar D., Uysal S.,Özel S. (2005). Possible Uses of Dogrose Branches and Rose Hips for Ornamental Purposes. Acta Horticulturae, 690: 97-99.
4. Baričević L. (2010). Kakvoća plodova sjemenjaka pasje ruže (*Rosa canina* L.). Diplomski rad, Agronomski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Zagreb.
5. Bhave A., Schulzova V.. Chmelarova H., Libor Mrnka L., Hajslova J. (2017). Assessment of rosehips based on the content of their biologically active compounds. Journal of Food and Drug Analysis, 25(3): 681-690.
6. Cvjetković B., Đermić E., Vončina D. (2006). Bolesti ruže. Glasilo biljne zaštite, 1(5): 253-263.
7. Demir F., Ozcan M. (2001). Chemical and technological properties of rose (*Rosa canina* L.) fruits grown wild in Turkey. Journal of Food Engineering, 47: 333-336.
8. Domac R. (2002). Flora Hrvatske. Školska knjiga, Zagreb.
9. Ercişli S., Guleryuz M. (2005). Rose hip Utilization in Turkey. Acta Horticulturae, 690: 77-81.
10. Fan C., Pacier C., Martirosyan M.D. (2014). Rose hip (*Rosa canina* L.): A Functional food perspective. Functional Foods in Health and Disease, 4(11): 493-509.
11. Fecka I. (2009). Qualitative and quantitative determination of hydrolysable tannins and other polyphenols in herbal products from meadowsweet and dog rose. Phytochemical Analysis, 20: 177-190.
12. Forenbacher S. (1990). Velebit i njegov biljni svijet. Školska knjiga, Zagreb.
13. Gao X., Bjork L., Trajkovski V., Uggla M. (2000). Evaluation of antioxidant activities of rosehip ethanol extracts in different test systems. Journal of the Science of Food and Agriculture, 80: 2021- 2027.
14. Georgieva S., Angelov G., Boyadzhieva S. (2014). Concentration of Vitamin C and Antioxidant activity of Rosehip Extracts. Journal of Chemical Technology and Metallurgy, 49(5): 451-454.
15. Grlić Lj. (2005). Enciklopedija samoniklog jestivog bilja. Ex libris, Rijeka.
16. Hoşafci H., Arslan N., Sarihan E.O. (2005) Propagation of Dogrose (*Rosa canina* L.) by Softwood Cuttings. Acta Horticulturae, 690:139-142.
17. Ivanušić Ž. (1976). Uzgoj ruža. Znanje, Zagreb.
18. Janick J., Werlemark G., Nybom H. (2010). Dogroses: Botany, Horticulture, Genetics and Breeding. Horticultural Reviews. 36:199-255. John Wiley & Sons, Inc., Hoboken. New Jersey, USA.
19. Kazankaya A., Turkoglu N., Yilmaz M., Balta M.F. (2005). Pomological Description of *Rosa Canina* Selections from Eastern Anatolia, Turkey. International Journal of Botany, 1(1): 100-102.

20. Kazaz S., Baydar H., Erbas S. (2009). Variations in Chemical Compositions of *Rosa damascena* Mill. and *Rosa canina* L. Fruits. Czech Journal of Food Science. 27(3): 178–184.
21. Kisić I. (2014). Uvod u ekološku poljoprivredu. Agronomski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Zagreb.
22. Kisić I., Zgorelec Ž., Jurišić A., Bilandžija D. (2011) Utjecaj konvencionalne i ekološke poljoprivrede na kemijske parametre tla. Agronomski glasnik, 1-2
23. Kole C. (2011). Wild crop relatives: Gemonic and breeding resources, plantation and ornamental crops. Springer, Berlin.
24. Kovacs S., Facsar G., Udvardy L., Toth M. (2005). Phenological, Morphological and Pomological Characteristics of Some Rose Species Found in Hungary. Acta Horticulturae, 690: 71-76.
25. Larsen E., Kharazmi A., Christensen P. L., Christensen Brogger S. (2003). An Antiinflammatory Galactolipid from Rose Hip (*Rosa canina*) that Inhibits Chemotaxis of Human Peripheral Blood Neutrophils in Vitro. Journal of Natural Products, 66 (7): 994–995.
26. Lattanzio F., Greco E., Carretta D., Cervellati R., Govoni P., Speroni E.. (2011). In vivo anti-inflammatory effect of *Rosa canina* L. Extract. Journal of Ethnopharmacology, 137: 880-885.
27. Lodeta V. (2006). Kakvoća šipka i podizanje nasada ruža za uzgoj ploda. Pomologia Croatica, 3: 233-239.
28. Lovrić S. (2014). Fiziološka i ekološka značajnost fenolnih spojeva u biljci. Završni rad, Poljoprivredni fakultet u Osijeku, Sveučilište Josipa Jurja strossmayera u Osijeku.
29. Machmudah S., Kawahito Y., Sasaki M., Goto M. (2007). Supercritical CO_2 extraction of rosehip seed oil: Fatty acids composition and process optimization. The Journal of Supercritical Fluids, 41: 421-428.
30. Matleković V. (2016). Tehnologija uzgoja divlje ruže (*Rosa canina* L.) i mogućnost prerade plodova. Završni rad, Agronomski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Zagreb.
31. Mikošić K. (2011). Razmnožavanje pasje ruže (*Rosa canina* L.). Diplomski rad, Agronomski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Zagreb.
32. Miller N.J., Diplock A.T., Rice-Evans C., Davies M.J., Gopinathan V., Milner A. (1993). A novel method for measuring antioxidant capacity and its application to monitoring the antioxidant status in premature neonates. Clinical Science, 84(4): 407–412.
33. Montazeri N., Baher E., Mirzajani F., Barami Z., Yousefian S. (2011). Phytochemical contents and biological activities of *Rosa canina* fruit from Iran. Journal of Medicinal Plants Research, 5: 4584-4589.
34. Nojavan S., Khalilian F., Kiai F. M., Rahimi A., Arabanian A., Chalavi S. (2008). Extraction and quantitative determination of ascorbic acid during different maturity stages of *Rosa canina* L. Fruit. Journal of Food Composition and Analysis, 21: 300-305.
35. Nybom H, Werlemark G. (2015). Beauty is as beauty does - culinary and medicinal use of rosehips. Acta Horticulturae, 1064: 137-150.
36. Ough C.S., Amerine M.A. (1998). Methods for Analysis of Musts and Wines. Wiley & Sons. Washington, SAD.

37. Ozbek H.,Calmaşur O. (2005). A Review of Insects and Mites Associated with Roses in Turkey. Acta Horticulturae, 690:167-174.
38. Pahlow, M. (1989). Velika knjiga ljekovitog bilja. Cankarjeva založba. Ljubljana-Zagreb.
39. Petranović K. (1936). Uzgoj ruža. Josip Kratin, Zagreb.
40. Puđak J., Bokan N. (2011). Ekološka poljoprivreda – indikator društvenih vrednota. Sociologija i prostor, 49 (190): 137–163.
41. Re R., Pellegrini N., Proteggente A., Pannala A., Yang M., Rice-Evans C.A. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. Free Radical Biology & Medicine, 26 (9-10): 1231-1237.
42. Roman I., Stănilă A., Stănilă S. (2013). Bioactive compounds and antioxidant activity of *Rosa canina* L. biotypes from spontaneous flora of Transylvania. Chemistry Central Journal, 7:73
43. SAS/STAT (2010). ver. 9.3., SAS Institute, Cary, NC, SAD.
44. Scheerer O. (1971). Ruže u našem vrtu. Mladost, Zagreb.
45. Shamsizade L.A., Novruzov E.N. (2005). Distribution, Fruit Properties and Productivity of Rosa Species in Great Caucausus, Azerbaijan. Acta Horticulturae, 690: 101-105.
46. Soto-Hernandez M., Palma-Tenango M. and del Rosario Garcia-Mateos M. (2008). Phenolic Compounds - Biological Activity. InTechOpen, London, UK.
47. Szentmihályi K., Vinkler P., Lakatos B., Illés V., Then M. (2002). Rose hip (*Rosa canina* L.) oil obtained from waste hip seeds by different extraction methods. Bioresource Technology, 82: 195-201.
48. Šindrak Z., Jemrić T., Baričević L. Hand Dovedan I., Fruk G. (2012). Kakvoća plodova sjemenjaka pasje ruže (*Rosa canina* L.). Journal of Central European Agriculture, 13(2): 321 – 330.
49. Šindrak Z., Jemrić T., Grđan K., Baričević L. (2013). Divlje ruže: Važnost, uporaba i uzgoj. Hrvatska sveučilišna naklada d.o.o., Zagreb.
50. Tomin L., Strižak S. (1985.) Ruže. RO „Ekonomski biro“. Beograd.
51. Vedrina Dragojević I., Šebečić B. (2007). Biokemija prehrane. Vitamini u namirnicama. Udžbenik za vježbe iz kolegija Biokemija prehrane za studente Studija farmacija. Farmaceutsko-biokemijski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Zagreb.
52. Vermeulen N. (2003). Ruže: encikopedija. Veble commerce, Zagreb.
53. Werlemark G. (2009). Dogrose: Wild plant, bright future. Chronica Horticulturae. 49(2): 8-13.
54. Yoo K.M., Lee C.H., Lee H., Moon B., Lee C.Y. (2008). Relative antioxidant and cytoprotective activities of common herbs. Food Chemistry, 106: 929–936.

Internetski izvori:

http://www.inpharma.hr/index.php/news/59/19/Vitamini-B-skupine-uloga-vaznost-i-preporucene-kolicine (pristupljeno 15.9. 2017.)

7. Popis slika

Slika 1. Rasprostranjenost šipka (www.hirc.botanic.hr)
Slika 2. Izbojci pasje ruže (www.vrtlarenje.com)
Slika 3. Trnovi i kora pasje ruže (www.permaculture.co.uk)
Slika 4. Listovi pasje ruže (www.recipe.com.hr)
Slika 5. Cvijet pasje ruže (www.bs.wikipedia.org)
Slika 6. Plod pasje ruže (www.zdravko.ba)
Slika 7. Prikaz područja gdje su ubrani plodovi samoniklih genotipova pasje ruže (www.google.hr/maps)
Slika 8. Cijeli plodovi samoniklih genotipova pasje ruže (foto: L. Stanić, 2017)
Slika 9. Presjek plodova samoniklih genotipova pasje ruže (foto: L. Stanić, 2017)
Slika 10. Prikaz uzgojne površine OPG Nenad Blažeković (www.google.hr/maps)
Slika 11. Potvrdnica za OPG Nenad Blažeković o ekološkoj proizvodnji (foto: L. Stanić, 2017)
Slika 12. Plodovi pasje ruže iz ekološke proizvodnje (foto: L. Stanić, 2017)
Slika 13. Presjek ploda pasje ruže iz ekološke proizvodnje (foto: L. Stanić, 2017)
Slika 14. Plodovi pasje ruže iz konvencionalne proizvodnje (foto: L. Stanić, 2017)
Slika 15. Presjek ploda pasje ruže iz konvencionalne proizvodnje (foto: L. Stanić, 2017)
Slika 16. Prikaz smještaja uzgojne površine OPG Marije Petir (www.google.hr/maps)

8. Prilog

Tablica 2. Sadržaj bioaktivnih spojeva, antioksidacijskog kapaciteteta i β- karotena u plodovima pasje ruže

UZORAK	VITAMIN C (mg/100 g)	UKUPNI FENOLI (mg GAE/100 g)	UKUPNI FLAVONOIDI (mg GAE/100 g)	UKUPNI NEFLAVONOIDI (mg GAE/100g)	ANTIOKSIDACIJSKI KAPACITET (µmolTE/L)	β-KAROTEN (µg/100 g)
	$p \leq 0,0001$	$p \leq 0,0001$	$p \leq 0,0001$	$p \leq 0,0001$	$p \leq 0,0001$	$p \leq 0,0001$
P1	$79,26^{c} \pm 0,84$	$1210,19^{b} \pm 3,48$	$653,65^{b} \pm 2,73$	$556,54^{c} \pm 1,14$	$2271,78^{b} \pm 1,19$	$2950^{a} \pm 0,15$
P2	$269,68^{b} \pm 17,84$	$1310,79^{a} \pm 0,65$	$708,50^{a} \pm 0,77$	$602,32^{a} \pm 0,64$	$2276,57^{a} \pm 0,78$	$1366^{b} \pm 0,03$
P3	$341,92^{a} \pm 6,15$	$1109,62^{c} \pm 9,06$	$540,380^{c} \pm 9,69$	$577,57^{b} \pm 3,65$	$2263,68^{c} \pm 1,70$	$1480^{b} \pm 1,43$

P1 – plodovi samoniklih genotipova; P2 – plodovi iz ekološkog uzgoja; P3 – plodovi iz konvencionalnog uzgoja. Različita slova prikazuju značajne statističke razlike između srednjih vrijednosti.

Životopis

Lucija Stanić rođena je 10. travnja 1993. godine u Zagrebu. Završava 2012. opću 7. gimnaziju u Zagrebu, te iste godine upisala Agronomski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, smjer Hortikultura. U rujnu 2015. godine završava preddiplomski studij i upisuje se na diplomski studij Hortikulture, usmjerenje voćarstvo na Agronomskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu gdje obranom diplomskog rada na temu „Bioaktivne komponente plodova pasje ruže (*Rosa canina* L.)“ stječe akademski naziv magistar inženjer hortikulture. Aktivno poznavanje rada na računalu (MS Office). Aktivno poznavanje engleskog jezika u govoru i pismu. Pasivno poznavanje njemačkog jezika u govoru i pismu.