

Fenolni sastav plodova roda Rosa

Bumbak, Josipa

Master's thesis / Diplomski rad

2021

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

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:167:342232>

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

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

Repository / Repozitorij:

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



UNIVERSITY OF SPLIT



SVEUČILIŠTE U SPLITU
KEMIJSKO-TEHNOLOŠKI FAKULTET

FENOLNI SASTAV PLODOVA RODA *Rosa*

DIPLOMSKI RAD

JOSIPA BUMBAK

Matični broj: 16

Split, srpanj 2021.

SVEUČILIŠTE U SPLITU
KEMIJSKO-TEHNOLOŠKI FAKULTET
DIPLOMSKI STUDIJ PREHRAMBENE TEHNOLOGIJE

FENOLNI SASTAV PLODOVA RODA *Rosa*

DIPLOMSKI RAD

JOSIPA BUMBAK

Matični broj: 16

Split, srpanj 2021.

**UNIVERSITY OF SPLIT
FACULTY OF CHEMISTRY AND TECHNOLOGY
GRADUATE STUDY OF FOOD TECHNOLOGY**

PHENOLIC COMPOSITION OF THE FRUITS FROM GENUS *Rosa*

DIPLOMA THESIS

JOSIPA BUMBAK

Parent number: 16

Split, July 2021.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

DIPLOMSKI RAD

Sveučilište u Splitu
Kemijsko-tehnološki fakultet u Splitu
Diplomski studij prehrambene tehnologije

Znanstveno područje: Biotehničke znanosti

Znanstveno polje: Prehrambena tehnologija

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

Mentor: Doc. dr. sc. Danijela Skroza

Pomoć pri izradi: Mag. ing. agr. Martina Čagalj, doktorand

FENOLNI SASTAV PLODOVA RODA *Rosa*

Josipa Bumbak, 16

Sažetak:

Moderan način života povećava razinu oksidativnog stresa stoga brojne studije nastoje pronaći nove, prirodne supstance koje je lako unijeti u organizam i koje će pomoći ljudskom organizmu u borbi sa slobodnim radikalima. Upravo u te supstance ubrajamo fenolne spojeve koje nalazimo u biljkama. U ovom radu je ispitan fenolni sastav plodova roda *Rosa*. Analiza je provedena na četiri različita uzorka ploda vrste *Rosa canina* L. i dva uzorka ploda *Rosa hybrida* spp. koristeći Folin-Ciocalteu metodu određivanja ukupnih fenola i tekućinsku kromatografiju visoke djelotvornosti (High-performance liquid chromatography, HPLC) metodu za određivanje fenolnog profila. Rezultati pokazuju visoki udio ukupnih fenola kod svih ispitanih uzoraka te je HPLC metodom dokazano prisustvo fenolnih kiselina i flavonoida od kojih su najzastupljeniji galna i protokatehinska kiselina te epikatehin i katehin. U vrstama *Rosa hybrida* spp. je dokazan veći udio fenolnih spojeva i bolji fenolni profil u usporedbi s *Rosa canina* vrstama.

Ključne riječi: fenolni sastav, *Rosa canina* L., *Rosa hybrida* spp., HPLC

Rad sadrži: 32 stranica, 13 slika, 13 tablica, 1 graf, 56 literaturnih referenci

Jezik izvornika: hrvatski

Sastav Povjerenstva za obranu:

1. Izv.prof.dr.sc. Ivana Generalić Mekinić - predsjednik
2. Izv.prof.dr.sc. Vida Šimat - član
3. Doc.dr.sc. Danijela Skroza - član-mentor

Datum obrane: 09. srpnja 2021

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

BASIC DOCUMENTATION CARD

DIPLOMA THESIS

University of Split
Faculty of Chemistry and Technology Split
Graduate study of Food technology

Scientific area: Biotechnical science

Scientific field: Food technology

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

Mentor: Ph. D. Danijela Skroza, Assistant Professor

Technical assistance: PhD. Student, Martina Čagalj, MSc in Marine Fishery

PHENOLIC COMPOSITION OF THE FRUITS FROM GENUS *Rosa* Josipa Bumbak, 16

Abstract:

Modern lifestyle increases oxidative stress level, therefore numerous studies try to find new, natural substances that are easy to consume and help with free radicals. These substances include phenolic compounds found in plants. This paper examines the phenolic composition of *Rosa* fruits. The analysis was performed on four different fruit samples of *Rosa canina* L. and two fruit samples *Rosa hybrida* spp. using the Folin-Ciocalteu method for the determination of total phenols and the High-performance liquid chromatography (HPLC) method for the determination of the phenolic profile. The results show a high proportion of total phenols in all tested samples and the HPLC method proved the presence of some phenolic acids and flavonoids, the most common of which were gallic and protocatechinic acid, and epicatechin and catechin. *Rosa hybrida* spp. showed a higher total phenolic content and a better phenolic profile compared to *Rosa canina* species.

Keywords: phenolic composition, *Rosa canina* L., *Rosa hybrida* spp., HPLC

Thesis contains: 32 pages, 13 figures, 13 tables, 1 graph, 56 references

Original in: Croatian

Defence committee:

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

Defence date: 9th July 2021.

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

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

*Ovaj rad je sufinanciran sredstvima projekta BioProMedFood (Reference
Number:1467; 2019-SECTION2-4).*

ZAHVALA

Zahvaljujem mentorici doc .dr. sc. Danijeli Skroza na odvojenom vremenu za mene i moj rad, na danim savjetima i idejama koje je pružila tijekom izrade rada. Također, zahvaljujem Martini Čagalj na pomoći pri provedbi eksperimentalnog dijela rada, te veliko hvala povjerenstvu za izdvojeno vrijeme.

ZADATAK DIPLOMSKOG RADA

Zadatak ovog diplomskog rada bio je

- Prikupiti uzorke različitih plodova roda *Rosa*
- Pripraviti vodene ekstrakte primjenom ultrazvuka
- U ekstraktima odrediti udio ukupnih fenola i fenolni profil HPLC metodom
- Dobivene rezultate usporediti i donijeti zaključak o fenolnom sastavu ispitivanih uzoraka te utjecaju klime i nadmorske visine na isti

SAŽETAK

Moderan način života povećava razinu oksidativnog stresa stoga brojne studije nastoje pronaći nove, prirodne supstance koje je lako unijeti u organizam i koje će pomoći ljudskom organizmu u borbi sa slobodnim radikalima. Upravo u te supstance ubrajamo fenolne spojeve koje nalazimo u biljkama. U ovom radu je ispitan fenolni sastav plodova roda *Rosa*. Analiza je provedena na četiri različita uzorka ploda vrste *Rosa canina* L. i dva uzorka ploda *Rosa hybrida* spp. koristeći Folin-Ciocalteu metodu određivanja ukupnih fenola i tekućinsku kromatografiju visoke djelotvornosti (High-performance liquid chromatography, HPLC) metodu za određivanje fenolnog profila. Rezultati pokazuju visoki udio ukupnih fenola kod svih ispitanih uzoraka te je HPLC metodom dokazano prisustvo fenolnih kiselina i flavonoida od kojih su najzastupljeniji galna i protokatehinska kiselina te epikatehin i katehin. U vrstama *Rosa hybrida* spp. je dokazan veći udio fenolnih spojeva i bolji fenolni profil u usporedbi s *Rosa canina* vrstama.

Ključne riječi: fenolni sastav, *Rosa canina* L., *Rosa hybrida* spp., HPLC

SUMMARY

Modern lifestyle increases oxidative stress level, therefore numerous studies try to find new, natural substances that are easy to consume and help with free radicals. These substances include phenolic compounds found in plants. This paper examines the phenolic composition of *Rosa* fruits. The analysis was performed on four different fruit samples of *Rosa canina* L. and two fruit samples *Rosa hybrida* spp. using the Folin-Ciocalteu method for the determination of total phenols and the High-performance liquid chromatography (HPLC) method for the determination of the phenolic profile. The results show a high proportion of total phenols in all tested samples and the HPLC method proved the presence of some phenolic acids and flavonoids, the most common of which were gallic and protocatechic acid, and epicatechin and catechin. *Rosa hybrida* spp. showed a higher total phenolic content and a better phenolic profile compared to *Rosa canina* species.

Key words: phenolic composition, *Rosa canina* L., *Rosa hybrida* spp., HPLC

SADRŽAJ

UVOD.....	1
1. OPĆI DIO	2
1.1. Rod <i>Rosa</i>	2
1.1.1. <i>Rosa canina</i> L.....	3
1.1.2. <i>Rosa hybrid</i> spp.....	4
1.2. Kemijski sastav roda <i>Rosa</i>	7
1.2.1. Vitamin C.....	8
1.2.2. Fenolni sastav	9
1.3. Biološka aktivnost roda <i>Rosa</i>	11
2. EKSPERIMENTALNI DIO	13
2.1. Biljni materijal	13
2.2. Reagensi i uređaji.....	15
2.3. Metoda određivanja ukupnih fenola	15
2.4. Metoda određivanja fenolnog profila HPLC metodom	16
3. REZULTATI.....	19
3.1. Rezultati određivanja sadržaja ukupnih fenola u ekstraktima plodova <i>Rosa</i>	19
3.2. HPLC analiza smjese fenolnih standarda.....	20
3.3. HPLC analiza ekstrakata plodova <i>Rose</i>	21
4. RASPRAVA	25
5. ZAKLJUČAK	27
6. LITERATURA.....	28

UVOD

Brojni pisani dokumenti pronađeni diljem svijeta govore o korištenju ljekovitog bilja od davnina, a u Coloradu i Oregonu su pronađeni fosilni ostatci roda *Rosa* stari 31 milijuna godina koji ukazuju na činjenicu kako je čovjek od davno spoznao vrijednost ovih plodova u prehrani i u medicini. U počecima plodove ruže su sakupljali dok su se razvitkom hortikulture sve više kultivirali do današnjeg dana kada postoji više tisuća vrsta iz roda *Rosa*, što divljih što kultiviranih. Rod *Rosa* se dijeli na 11 odjeljaka unutar kojih se razlikuje oko 250 vrsta ruža. Jedna od poznatijih vrsta je *Rosa canina* L. čiji svi dijelovi imaju dokazano biološko djelovanje. [1]

Baš kao što čovjek treba određene vitamine, minerale i kemijske spojeve za normalno funkcioniranje organizma, tako ih treba i biljka. Biljci su potrebni spojevi koji se nazivaju fitokemikalije. Fitokemikalije obuhvaćaju nekoliko stotina biološki aktivnih spojeva u biljkama od kojih čovjek ima brojne zdravstvene dobrobiti, stoga ne čudi činjenica da se ljekovito bilje stoljećima koristi kod raznih zdravstvenih tegoba [2], baš kao i ono iz roda *Rosa*. Vrste roda *Rosa* su poznate po brojnim pozitivnim biološkim svojstvima (antioksidativno, protuupalno, antimutageno, citotoksično, ...) koja proizlaze iz sastava bogatog vitaminom C i fenolnim komponentama.

Temeljem navedenog, cilj ovog diplomskog rada je bio usporediti udio ukupnih fenola i fenolni profil ekstrakata plodova dviju vrsta iz roda *Rosa*.

1. OPĆI DIO

1.1. Rod *Rosa*

Prve sistematike ruža nalaze se još kod starih Rimljana i Grka i temeljile su se na fenotopskim značajkama cvijeta. [3] Iako danas ne postoji jedinstven kriterij za sistematizaciju ruža, uglavnom se koriste sistematizacije na osnovu fenotipskih svojstava biljaka (npr. oblik i svojstva cvijeća, struktura cvjetova, boja i miris cvjetova, svojstva cvjetanja, svojstva listova, visina biljke, oblik plodova, otpornost na mraz i dr.), prema geografskom porijeklu (npr. indijske, europske) i genetskoj srodnosti. [4]

Tablica 1. Klasifikacija roda *Rosa* [1]

Carstvo	Plantae (biljke)
Podcarstvo	Tracheobionta (vaskularne biljke)
Odjeljak	Magnoliophyta (Spermatophyta - sjemenjače)
Pododjeljak	Magnoliophytina (Angiospermae – kritosjemenjače)
Razred	Magnoliopsida (Dycotyledonae - dvosupnice)
Podrazred	Rosidae
Red	Rosales (ružovke)
Porodica	Rosaceae (ruže, ružičnjače)
Potporodica	Rosoideae
Rod	<i>Rosa</i> (ružica)

Porodica Rosaceae obuhvaća oko 115 rodova i više od 3 000 vrsta. Ona se dalje dijeli na potporodice gdje je najvažnija potporodica Rosoidae unutar koje spada rod *Rosa*. Rod *Rosa* je podijeljen u 11 odjeljaka koji obuhvaćaju 100-250 vrsta.

Tablica 2. Različiti broj vrsta unutar roda *Rosa*

Autor	Broj vrsta	Literatura
Kole	100 - 250	5
Werlemark i Nybom	cca. 180	6
Beales	cca. 140	7

Neke od vrsta koje nalazimo u rodu *Rosa* su *Rosa abyssinica*, *Rosa acicularis*, *Rosa agrestis*, *Rosa × alba*, *Rosa alpina*, *Rosa californica*, *Rosa canina*, *Rosa × centifolia*, *Rosa cinnamomea*, *Rosa × damascena*, *Rosa gallica*, *Rosa majalis*, *Rosa moschata*, *Rosa multiflora*, *Rosa pendulina*, *Rosa persica*, *Rosa rubiginosa*, *Rosa rubrifolia*, *Rosa rugosa* i druge. [8]

Za potrebe ovog rada odabrane su dvije vrste ruža, *Rosa canina* L. i *Rosa hybrid* spp.

1.1.1. *Rosa canina* L.

Rosa canina L. pripada rodu *Rosa* te je u narodu poznata kao divlja ruža, pasija ruža ili šipurak. U Hrvatskoj je zastupljeno oko desetak vrsta i križanaca divlje odnosno pasije ruže. Pasija ruža je rasprostranjena po Europi, sjevernoj Africi i sjeverno-zapadnoj Aziji. U Hrvatskoj se nalazi u gotovo svim krajevima, od rubova cesta i putova, preko livada, pašnjaka i šuma pa sve do brdskih i planinskih područja (nalazimo je na preko 1 400 metara nadmorske visine (m.n.v.)). Zbog velike rasprostranjenosti spada u najraširenije samonikle pripadnike roda *Rosa*. [1]

Pasija ruža je trajnica grmolika izgleda, visine do 3 m. Korijenov sustav biljke je jak i prodire duboko u tlo. [9] Izbojci su savijeni u lukove, vitki, goli sa slabo izraženim nodijima, u početku tamno-zelene ili smeđe boje. Na stabljici nalazimo svinute trnove koji su prošireni pri dnu [10] te podsjećaju na pseće zube. [11] Kora stabljike je glatka te može biti tamno-zelene ili crvenkaste boje. Listovi su dugi 7-9 cm te naizmjenično i neparno perasti sastavljeni od 5-9 jajolikih, pilasto nazubljenih listića koji su s donje strane obrasli dlačicama, dok su s gornje strane goli i sjajni. [12] Lisna peteljka je bodljikava i sa zaliskom, a pri dnu peteljke prirasla su po 2 uska palistića. [13] Pupovi su sitni, rijetki, spiralno raspoređeni iznad ožiljka otpalih listova. Lapovi su duži od latica i ostaju dugo uspravljeni nakon cvatnje. Cvjetovi su veliki, ružičasto-bijeli nježnog i ugodnog mirisa. Sadrže 5 latica, promjer im je 2-8 cm, a mogu stajati pojedinačno ili u skupini. [14] Cvatu od svibnja do srpnja uz razvijanje intenzivnog mirisa. Kada se latice osuše i otpadnu ostaje zeleni, mesnati ovoj, prepun sitnih svilenkastih dlačica i s tvrdim, uglatim sjemenkama. To je nepravi plod – šipak. [3] Plod je crvene boje, sjajan, dužine oko 1,5-2 cm, jajolika oblika. [12] Šipak dozrijeva u rujnu i listopadu, a udio mesa u plodu je oko 75%. [15] Berba započinje pri dozrijevanju plodova dok su još tvrdi. Što je

berba kasnije to može doći do gubitka od 50% bioaktivnih spojeva unutar ploda [16] i ujedno vitamina C. [1, 17]



Slika 1. Izgled *Rosa canina* L. [18]

1.1.2. *Rosa hybrid* spp.

Vrste koje nazivamo hibridima su se toliko izmiješale da je nemoguće fenotipski odrediti njenu pravu vrstu i zato se nazivaju „hibridima“. *Rosa hybrid* spp. pripadaju rodu *Rosa* te su nastale križanjem *Rosa canina* L. i/ili nekom drugom samoniklom vrstom iz roda *Rosa*. U takve vrste spadaju, većinom, kultivirane vrste roda *Rosa* koje se uglavnom nalaze u vrtovima, nasadima i raznim uzgajivačkim mjestima. Kultivirane vrste roda *Rosa* se zbog toga ne klasificiraju po latinskim imenima već po uzgojnim imenima. Nalaze se u svim dijelovima svijeta pa tako i diljem Hrvatske. Jako su raširene i nepoznat je broj podvrsta unutar *Rosa hybrida* spp.

Kultivirane ruže su trajnice. Međusobno se razlikuju po visinama, od samo 30 cm pa do 5 m u oblicima grma, stabla, penjačica, pokrivačica te im boja cvjetova varira. Građa korijena, stabljike, trnja, listova i lisne petlje je slična kao i divljoj ruži. Imaju sjajne listove te ljeti i u jesen neprekidno cvatu. Također, kao kod pasije ruže, kada se latice osuše i otpadnu ostaje zeleni, mesnati ovoj, prepun sitnih svilenkastih dlačica i s tvrdim, uglatim sjemenkama kojeg nazivamo plod – šipak. Plod kultivirane ruže je okruglog, debeljuškastog oblika te je 2-3 puta veći od ploda pasije ruže. Dozrijeva kroz listopad i studeni dok ne postane svijetlo-crven.

Rosa hybrid spp. se može podijeliti u nekoliko skupina:

1. Floribunde
2. Čajevke ili tea hibridi
3. Poliante
4. Polianta hibridi
5. Mini ruže
6. Patio ruže
7. Grmolike ruže - veće su od čajevki, spoj su više grupa ruža s jednostavnim ili punim cvjetovima, a zbog svoje veličine nisu prikladne za ukrašavanje cvjetnih gredica nego rastu soliterno, poput ruže Alba, Centifolie, Damaskanske ruže, ruže Noisette, ruže Rugosa.
8. Penjačice – to su kultivirane čajevke ili floribunde, s krutim stabljikama, visine do 5 m, s poluispunjenim ili krupnim cvjetovima, višekratne cvatnje. Pričvršćene za potporanj mogu se penjati, a koriste se za ograde, ukrašavanje zidova kuće, lukova.
9. Pokrivačice tla
10. Stablašice

Najčešće kultivirane ruže su: Lavaglut, Don Juan, Tineke, Friesia, Parade, Elfe, Black Magic, Marchenkonigen, Ingrid Bergman, Schwanense, Elina, Concerto, Moonstone, Amadeus, Frau Karl Druschki, Bonica, Landora i mnoge druge.

Za potrebe ovog rada odabrana je jedna ruža iz skupine penjačica i jedna ruža koja ima obilježja penjačice i grmolike ruže.



Slika 2. Ruža penjačica s obilježjima grma [19]



Slika 3. Ruža penjačica [19]

1.2. Kemijski sastav roda *Rosa*

Klasifikacija roda *Rose*, osobito unutar *Rosa hybrida* spp. vrsta, je otežana zbog slabo istraženog i ne standardiziranog sastava unutar kultiviranih vrsta ruža. Nasuprot tome, *Rosa canina* i njene podvrste su dosta istražene i njihov kemijski sastav prikazan je u tablici 3, dok je sastav kultiviranih vrsta sličan uz mala odstupanja.

Tablica 3. Kemijski sastav ploda *Rosa canina* L. [1, 20]

Kemijska komponenta	% sastojka na 100 g ploda
Bjelančevine	3,6
Ugljikohidrati	22
Masti	0,7
Organske kiseline	1-2
Eterična (esencijalna) ulja	0,038
Voda	22,8 – 38,0
Pepeo	2,4

Sjemenka unutar ploda sadrži 6,9–8,6% bjelančevina i ulja (nezasićene masne kiseline). [1] Najzastupljeniji ugljikohidrati su invertni šećer 10,0–13,7%, saharoza 0,6–2,4% i pektin 11%. [21, 22] Od masti uglavnom nalazimo nezasićene masne kiseline od kojih na esencijalne masne kiseline otpada oko 56,5%. [23] U njih spada alfa linolenska sa 40,5% [23] i linolna sa 16% [23], ali i laurinska i palmitinska kiselina. [24] Najzastupljenije organske kiseline su jabučna i limunska kiselina. Uz navedene spojeve plod pasije ruže sadrži minerale (tablica 4), vitamine (tablica 5), fenole, antocijane [25], flavonoide [26], karotenoide [26, 27] i tanine [1].

Tablica 4. Količine minerala u plodu pasje ruže [23]

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

Tablica 5. Količine vitamina u plodu pasje ruže [23]

Vitamini	mg/100 g ploda µg/100 g ploda*
Vitamin C	426
Vitamin B1	0,016
Vitamin B2	0,166
Vitamin E	5,84
Vitamin K	25,9*

1.2.1. Vitamin C

Vitamin C je najzastupljeniji vitamin u plodu pasje ruže te ujedno ima značajnu ulogu za dobrobit ljudskog organizma. Iz prethodne tablice može se uočiti da vitamina C, na 100 g ploda, ima 426 mg, dok su Demir i Ozcan (2001) prikazali da se on može nalaziti i u količinama do 1 700 mg na 100 g svježe mase ploda. Ercišli i Guleryuz (2005) su potvrdili da je svježi plod ruže najbogatiji vitaminom C, ali da njegova zastupljenost varira te ovisi o nizu čimbenika kao što su dio biljke odnosno dio ploda, zatim kvaliteta zemljišta, klima, stupanj zrelosti i stadij razvitka ploda. [29] Georgieva i sur. (2014) ističu da kožica ploda sadrži najveći udio vitamina C, čak i do 2 200 mg [30] dok je koncentracija vitamina C u sjemenkama 6-7 puta manja, odnosno 306 mg na 100 g. [30]

Provedena istraživanja (tablica 6) ukazuju kako su svježiji ružini plodovi najbogatija voćna vrsta po udjelu vitamina C [28] te u ovim plodovima može biti čak 6 puta viši sadržaj ove komponente u usporedbi s ostalim voćnim vrstama. [31, 32]

Tablica 6. Udio vitamina C u voću, povrću i plodu *R. canina* [22]

Vrsta biljke	Vitamin C mg/100 g svježe tvari
Nektarina	37,4
Crni ribiz	125
Limun	60
List peršina	166
Paprika	128
Kelj pupčar	102
Plod <i>R. canina</i>	300–1450

1.2.2. Fenolni sastav

Najkorištenija metoda za određivanje ukupnog fenolnog sastava je spektrofotometrijska Folin-Ciocalteu metoda. Demir i sur. (2014) su navedenom metodom odredili udio ukupnih fenola kod plodova *R. canina* te dobili vrijednost 31,08 mg ekvivalenta galne kiseline (GAE) po g suhe tvari ploda. Nađpal i sur.(2016) su odredili ukupnih fenola *R. canina* iz različito pripremljenih ekstrakata. Pripremili su ekstrakt džema (DŽ) ekstrakt kašice ploda (K), metanolni ekstrakt ploda sušenog na zraku (MD), metanolni ekstrakt svježeg ploda (MF), vodeni ekstrakt ploda sušenog na zraku (VD) i vodeni ekstrakt svježeg ploda(VF) i dobiveni rezultati su prikazani u tablici 7.

Uz udio ukupnih fenola, u znanstvenim radovima se vrlo često određuje i fenolni profil (udio pojedinih fenolnih spojeva) metodom tekućinske kromatografije visoke djelotvornosti (High-performance liquid chromatography, HPLC). Demir i sur. (2014) su u svom radu potvrdili rezultate istraživanja Fecka (2009), Hvattum (2002) i Nowak (2006) koji ističu ekstrakte ploda ruže kao bogat izvor fenolnih komponenti, osobito fenolnih kiselina (tablica 8).

Tablica 7. Ukupni fenolni sastav različitih ekstrakata *R. canina* [34]

Vrsta ekstrakta	Ukupni fenoli mg GAE*/g ST*
DŽ	11,9
K	96,2
MD	50,3
MF	50,9
VD	61,0
VF	74,6

*GAE – galne kiseline; ST – suhe tvari; DŽ – ekstrakt džema; K – ekstrakt kašice, MD – metanolni ekstrakt ploda sušenog na zraku; MF – metanolni ekstrakt svježeg ploda; VD – vodeni ekstrakt ploda sušenog na zraku; VF – ekstrakt svježeg ploda

Tablica 8. Fenolni spojevi *R. canina* [33]

Fenolni spoj	µg/g ST*
Galna kiselina	12,67
4-hidroksibenzojeva kiselina	3,92
Katehin	19,96
Procianidin-B2	7,54
4-metil katehol	1,02
Kava kiselina	2,60
Gentisinska kiselina	10,40
Klorogena kiselina	12,11
<i>p</i> - kumarinska kiselina	9,00
Ferulinska kiselina	10,55
Sinapinska kiselina	3,15

*ST – suhe tvari

Uz navedene spojeve Nađpal i sur. (2016) su u svojoj studiji dokazali prisustvo vanilinske kiseline i epikatehina koji nisu pronađeni u prethodnim studijima. [33, 37] Ista grupa autora potvrdila je i prisutnost značajnih količina kvercetin-3-*O*-glukozida, hiperozida i kempferol-3-*O*-glukozida što je u korelaciji s rezultatima dobivenim u istraživanju Guimarães i sur. (2013).

Navedeni znanstveni radovi pokazuju da svi testirani ekstrakti plodova roda *Rose* imaju vrlo sličan fenolni profil s neznatnim odstupanjima. [33, 37] Iako se fenolni sastav unutar nekoliko studija podudara on ipak može varirati zbog raznih okolišnih čimbenika (izloženost svjetlu, temperatura, hranjive tvari u tlu), fazi zrelosti ploda te o samom načinu pripreme uzorka. [33]

1.3. Biološka aktivnost roda *Rosa*

Određena biološka aktivnost proizlazi iz kemijskog sastava tj. ovisi o kemijskim spojevima prisutnim u ispitivanom materijalu. Iz prethodnog poglavlja u kojem je opisan kemijski sastav, vidljivo je da *R. canina* ima veliki potencijal.

Biološka djelovanja *R. canina* su brojna i dokazana kroz različite studije. Neka od najznačajnijih su antioksidativno, protuupalno, antimutageno djelovanje, citotoksična aktivnost, poznato je da ona zaustavlja prekomjernu pretilost, štiti od razvoja kardiovaskularnih bolesti, posjeduje diuretsko djelovanje, prevenira razvoj tumorskih stanica, djeluje protiv boli u trbuhu i peptičkog ulkusa (čira), koristi se u farmaceutskoj i kozmetičkoj industriji, ... [3, 1, 26, 38, 39, 40, 41]

Antioksidacijsko djelovanje *R. caninae* je najistraženije biološko djelovanje i to korištenjem različitih metoda (redukcijska aktivnost metodom FRAP (engl. ferric reducing antioxidant power), antiradikalna aktivnost prema DPPH radikalu (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) ili ABTS (2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazoline-6-sulfonska kiselina), metodom ORAC (engl. oxygen radical absorption capacity), u gašenju NO – radikala, superoksid anion radikala, hidroksil radikala, inhibiciji peroksidacije, ...). [33, 34, 42] Studije navode da su za antioksidacijsko djelovanje zaslužni fenoli, odnosno pojedine podgrupe fenolnih spojeva kao što su flavonoidi (antocijani) [25,26], karotenoidi [27, 43] te vitamin C. Ipak među svim ovim fenolnim komponentama osobito se izdvaja vitamin C koji je najvećim dijelom zaslužan za antioksidacijsko djelovanje što i ne čudi obzirom da plod pasije ruže sadrži do 7 puta više vitamina C od komercijalnih poznatih prehrambenih izvora tog spoja. Nađpal i sur. (2016) su dokazali značajan antioksidacijski učinak u usporedbi s poznatim sintetskim antioksidansima butilirani hidroksitoluen i propil galat. Također, prethodne studije su pokazale značajno antioksidacijsko djelovanje ploda pasije ruže u usporedbi sa divljim voćnim vrstama (jagoda, kupina, glog, trn) koje se konzumiraju u prehrani. [43, 44, 45, 46]

Iako je većina studija prikazala najizraženije protuupalno djelovanje ploda *R. canina* u nepolarnim ekstraktima, Nađpal i sur. (2014) su dokazali da i polarni ekstrakti imaju protuupalno djelovanje, što potencijalno pokazuje da spojevi poput fenola mogu doprinijeti navedenoj aktivnosti. Ova grupa autora istraživala je i *in vitro* citotoksično djelovanje ploda *R. canina* na ljudskim stanicama karcinom vrata maternice, adenokarcinoma dojke, adenokarcinoma debelog crijeva i raka pluća. Pire od ploda *R. canina* je pokazao citotoksično djelovanje na stanice karcinoma vrata maternice što su potvrdili i Guimarães i sur. (2013). Rezultati studija Tumbas i sur. (2012) i Nađpal i sur. (2014) podudaraju se u zapažanju da najbolje citotoksično djelovanje imaju ekstrakti najbogatiji fenolnim spojevima. [46]

Andersson i sur. (2012) su proveli istraživanje na markere rizika za dijabetes tipa 2 i kardiovaskularne bolesti kod pretilih osoba pri čemu su na osnovu dobivenih rezultata zaključili da je rizik za kardiovaskularne bolesti manji u skupini koja je konzumirala napitak od plodova *R. canina*. [47]

2. EKSPERIMENTALNI DIO

2.1. Biljni materijal

U eksperimentalnom dijelu rada korišteni su plodovi dviju vrsta roda *Rosa* prikupljeni na području Dalmacije na lokalitetima sa različitom nadmorskom visinom i klimom. Podaci o uzorkovanju i vrstama sakupljenim za testiranje prikazani su u tablici 9.

Tablica 9. Prikaz korištenih vrsta roda *Rosa* i njihove karakteristike

Oznaka uzorka	Vrsta	Područje	Uzgoj	Nadmorska visina, m.n.v.*	Klima
<i>R. canina</i>, Jadrija	<i>Rosa canina</i>	Jadrija	Divlja ruža	0	Mediteranska klima
<i>R. canina</i>, Ervenik	<i>Rosa canina</i>	Ervenik	Divlja ruža	130	Krško područje s kontinentalnom klimom
<i>R. canina</i>, Torak	<i>Rosa canina</i>	Torak	Divlja ruža	120	Močvarno područje u mediteranskoj klimi
<i>R. canina</i>, Mosor	<i>Rosa canina</i>	Mosor	Divlja ruža	1000	Šikara u planinskoj klimi
<i>R. hybrida</i> spp., Šibenik	<i>Rosa hybrida</i> spp.	Šibenik	Kultivirana ruža	50	Mediteranska klima
<i>R. hybrida</i> spp., Bilice	<i>Rosa hybrida</i> spp.	Bilice	Kultivirana ruža	60	Mediteranska klima s karakteristikama kontinentalne klime

*m.n.v. – metar nadmorske visine

Prije samog postupka ekstrakcije plodovi su osušeni prirodnim putem. (Slika 4) Osušeni plodovi su potom homogenizirani korištenjem električnog mlinca do što finijeg praha. Potom je 15 g biljnog materijala ekstrahirano s 100 mL destilirane vode u ultrazvučnoj kupelji u trajanju od dva sata pri 60 °C. Po završetku ekstrakcije uzorci su filtrirani preko naboranog filter papira i liofizirani. (slika 5).

Masa od 40 mg liofiliziranog ekstrakta otopljena je u 2 mL destilirane vode i tako pripremljeni uzorci koristili su se za daljnje ispitivanje. Do analiza vodeni ekstrakti su čuvani u zamrzivaču pri temperaturi od -18 °C.



Slika 4. Osušeni plod *Rosa canina*



Slika 5. Liofizirani ekstrakti

2.2. Reagensi i uređaji

Reagensi

- Sve korištene kemikalije bile su odgovarajuće analitičke čistoće (p.a. ili HPLC čistoće $\geq 97\%$), a proizvođači su im Sigma-Aldrich GmbH (Steinheim, Njemačka), Fluke (Buchs, Švicarska), Kemika (Zagreb, Hrvatska), Mercka (Darmstadt, Njemačka) i Gram-Mol (Zagreb, Hrvatska)).

Uređaji

- Mlinac za kavu, Joy Delimano, Hrvatska
- Ultrazvučna kupelj, Digital pro+, 40 kHz, UK
- Analitička vaga, Kern, Model ALS 120-4, Kingston, UK
- Liofilizator, FreeZone 2,5L, Labconco, Kansas City, SAD
- Spektrofotometar: SPECORD 200 Plus, Edition 2010; Analytik Jena AG, Jena, Njemačka
- HPLC-DAD Ultimate 3000, Termo Fisher Scientific, Waltham, MA, SAD

2.3. Metoda određivanja ukupnih fenola

Ukupni fenoli u uzorcima soka određeni su spektrofotometrijskom metodom po Folin-Ciocalteu. [48, 49]

Postupak:

U kivete od 10 mm otpipetirano je 25 μL uzorka, potom dodano 1,5 mL destilirane vode i 125 μL reagens Folin-Ciocalteu. Otopina je promiješana i dodano je 375 μL 20%-tne otopine natrij karbonata. Na kraju je dodano još 475 μL destilirane vode i kivete su ostavljene na sobnoj temperaturi 2 sata u mraku. Nakon toga očitana je vrijednost apsorbancije. Sva mjerenja su urađena u tri ponavljanja, a rezultati su iskazani kao srednja vrijednost \pm standardna devijacija. Dobiveni rezultati su izraženi u mg ekvivalenata galne kiseline u litri ekstrakta (mg GAE/L) budući je standardizacija izvršena s galnom kiselinom.

2.4. Metoda određivanja fenolnog profila HPLC metodom

Tekućinska kromatografija visoke učinkovitosti (HPLC) je separacijska tehnika kojom se analiziraju makromolekule, termolabilne i nehlapljive tvari te nestabilni prirodni spojevi. Osnovni dijelovi HPLC uređaja su kolona za odjeljivanje, injektor, detektor, pumpa i rezervoar za otapala. Pomoću pumpe, pri stalnoj brzini i tlaku, se uvodi pokretna faza koja se sastoji od otapala visoke čistoće. Kromatografske kolone mogu biti različitih materijala, punjena, duljine i širine te se uzorak u kolonu ubacuje mikrolitarskom špricom kroz ventil. Postoje razni detektori, a najkorišteniji je detektor s diodnim nizom (DAD) pomoću kojeg snimamo cijeli spektar spojeva u UV/VIS području. Separacija pikova na kromatogramu se postiže optimalnim odabirom temperature, tipa kolone i mobilne faze. [50]

Postupak:

Za određivanje fenolnog profila koristio se HPLC-DAD Ultimate 3000 (Termo Fisher Scientific, Wathman, MA, SAD) i odgovarajući program za obradu podataka. Kromatografska kolona korištena u radu je Synchronis™ C18 Columns dimenzije 250 × 4,6 mm i veličine čestica 5 µm (Termo Fisher Scientific, Wathman, MA, SAD). Korištena su 3 otapala: Otapalo A (voda/mravljja kiselina, 98:2, v/v), Otapalo B (Acetonitril) i Otapalo C (Metanol) pri protoku od 0,8 mL/min prema gradijentu protoka otapala prikazanom u tablici 10. Temperatura kolone je 25 °C, volumen injektiranog uzorka je bio 10 µL a detekcija je vršena pri valnim duljinama od 280 i 320 nm.

Tablica 10. Gradijent protoka otapala

t, min	Otapalo A, %	Otapalo B, %	Otapalo C, %
0	96	2	2
40	50	25	25
45	40	30	30
60	0	50	50
68	0	50	50
70	96	2	2
80	96	2	2

Standardi fenolnih spojeva otopljeni su pri različitim koncentracijama i potom napravljene dvije smjese (smjesa A i smjesa B) pomoću kojih je rađena potvrda prisutnosti istih u ekstraktima plodova *Rosa*. Identifikacija pojedinih spojeva je rađena pomoću UV-VIS spektra spoja i retencijskog vremena spoja. Kalibracijski pravci pojedinih fenolnih komponenti određeni su korištenjem pet različitih koncentracija, a dobivene jednadžbe pravaca su prikazane u tablicama 11 i 12.

Tablica 11. Kalibracijske jednadžbe za Smjesu A

Naziv spoja	conc ($\mu\text{g/mL}$)
Neringenin	$y = 1,552x + 0,1398$
Epikatehin + Siriginska kiselina	$y = 2,0271x - 0,1374$
Katehin	$y = 7,0984x - 0,2686$
Epigalokatehin galat	$y = 3,6744x + 0,1472$
Galna kiselina	$y = 2,1718x - 0,0544$
Protokatehinska kiselina	$y = 3,3268x - 0,1995$
Cimetna kiselina	$y = 0,6736x - 0,0455$
Vanilinska kiselina	$y = 3,4538x - 0,1589$
<i>p</i> -hidroksibenzojeva kiselina	$y = 3,8258x - 0,4585$
<i>o</i> -kumarinska	$y = 0,9746x - 0,0136$
Miricetin	$y = 4,0795x + 0,845$
Hesperetin	$y = 5,7066x + 0,0076$
Ferulinska kiselina	$y = 1,909x - 0,0807$

Tablica 12. Kalibracijske jednadžbe za Smjesu B

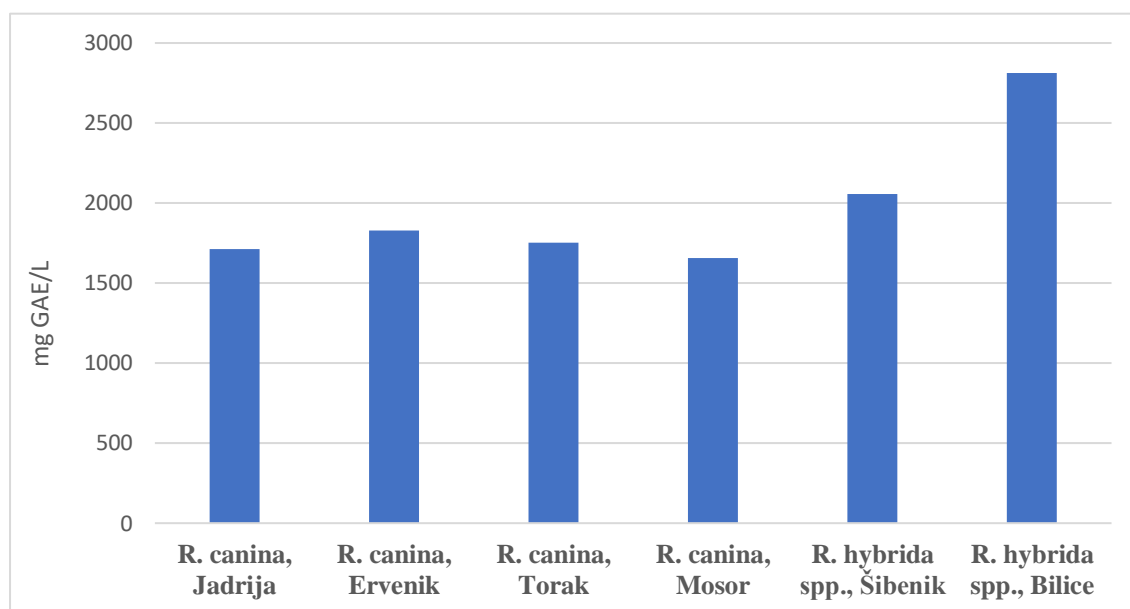
Naziv spoja	conc ($\mu\text{g/mL}$)
Kava kiselina	$y = 0,9405x + 0,2204$
Resveratrol	$y = 0,6542x + 0,2192$
Apigenin	$y = 1,3214x + 0,2479$
Ružmarinska kiselina	$y = 0,7206x + 0,1231$
Gentisinska kisleina	$y = 4,6269x + 0,7154$
Astrignin	$y = 1,7311x + 1,0093$
Sinapinska + Ferulinska kiselina	$y = 0,5373x + 0,2538$
<i>p</i> -kumarinska	$y = 0,8649x + 0,1628$
Klorogenska kiselina	$y = 1,7907x + 0,7715$
Rutin	$y = 4,8626x + 0,4004$
Kvercetin	$y = 3,7747x + 0,619$

Nakon analize otopina pojedinačnih standarda i smjese koja je potvrdila dobro razdvajanje pikova, provedena je analiza ekstrakata plodova *Rose* korištenjem prethodno opisane metode. Analiza je rađena u dva ponavljanja, a rezultati su iskazani kao srednja vrijednost \pm standardna devijacija. Pri izračunu koncentracija pojedinih spojeva korištene su jednadžbe kalibracijskih pravaca.

3. REZULTATI

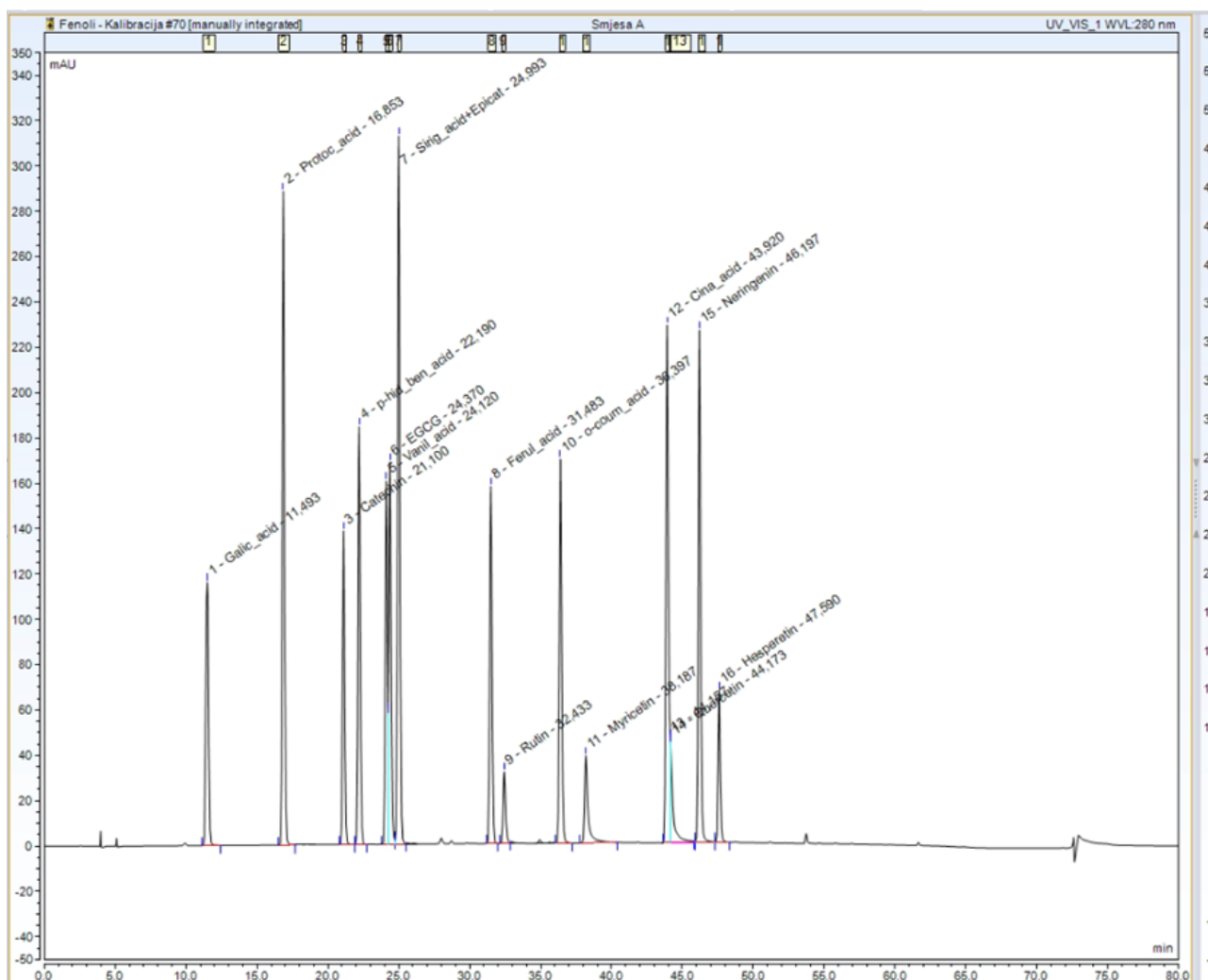
3.1. Rezultati određivanja sadržaja ukupnih fenola u ekstraktima plodova *Rosa*

Graf 1. Udio ukupnih fenola u ekstraktima ploda *Rosa*

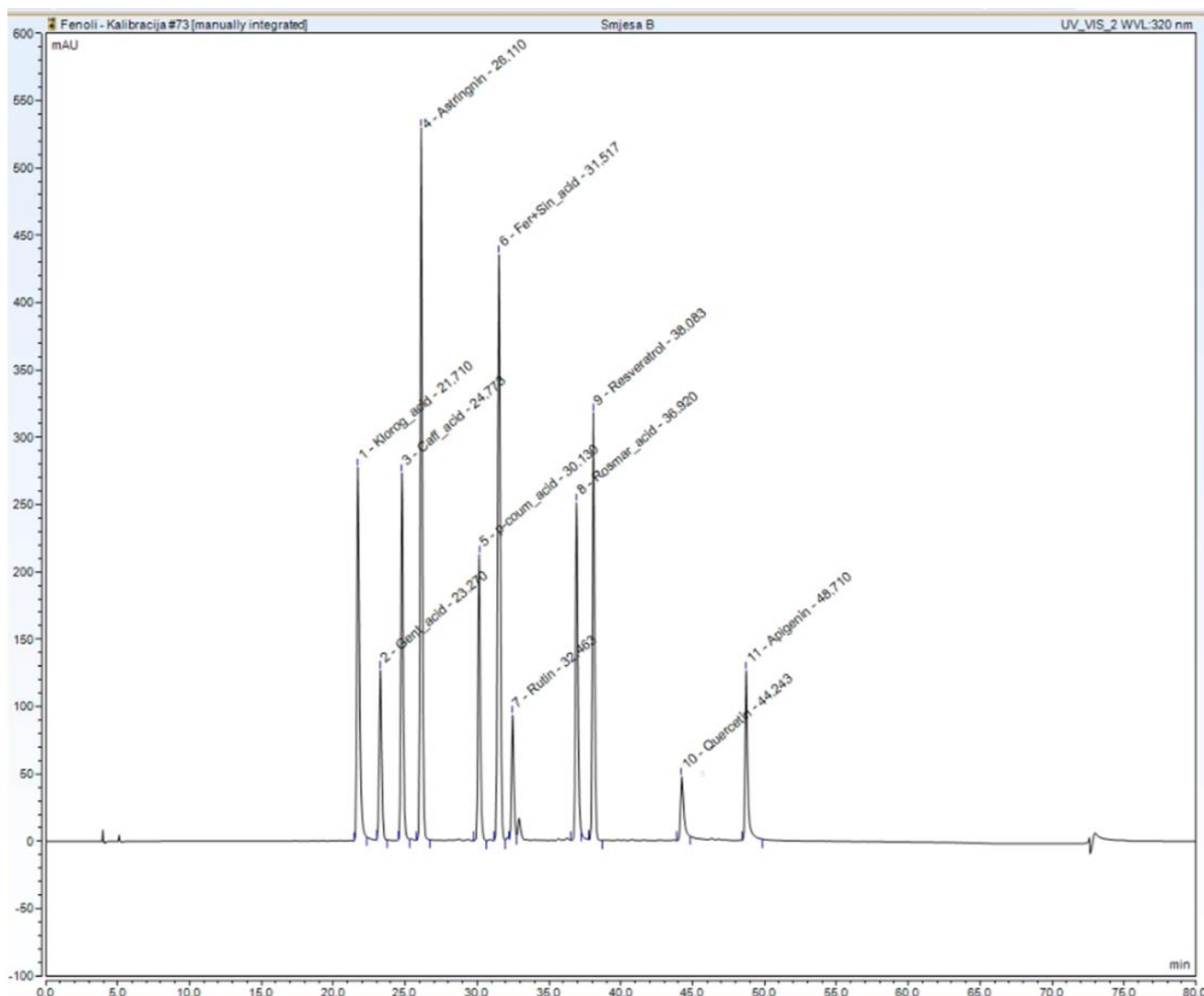


*mg GAE/L – mg galne kiseline po litri

3.2. HPLC analiza smjese fenolnih standarda



Slika 6. HPLC kromatogram fenolnih standarda: Smjesa A

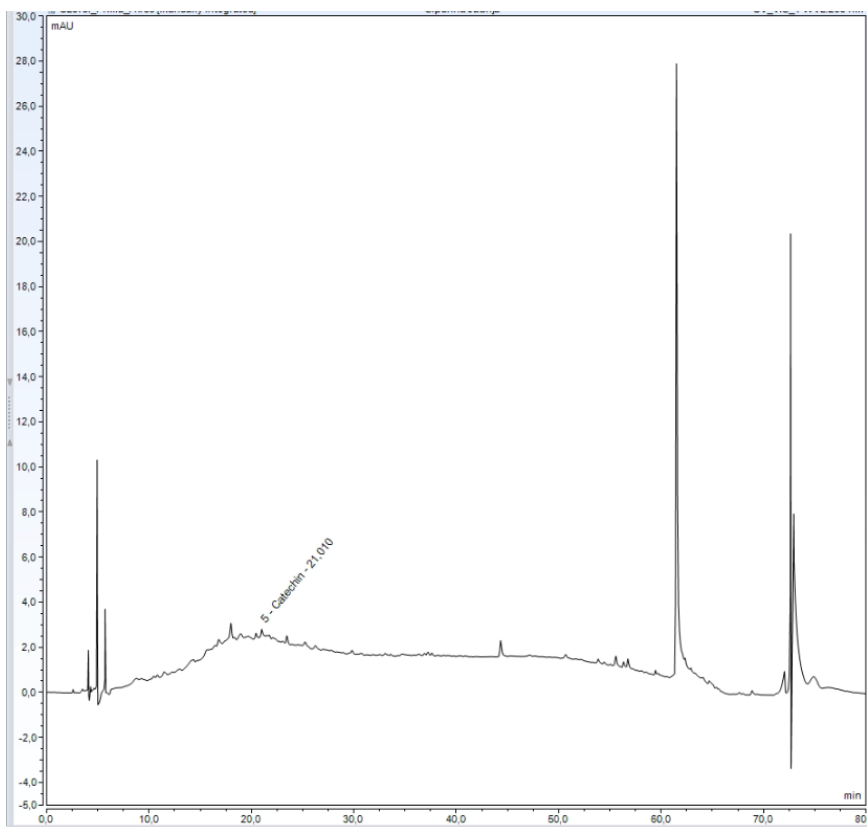


Slika 7. HPLC kromatogram fenolnih standarda: Smjesa B

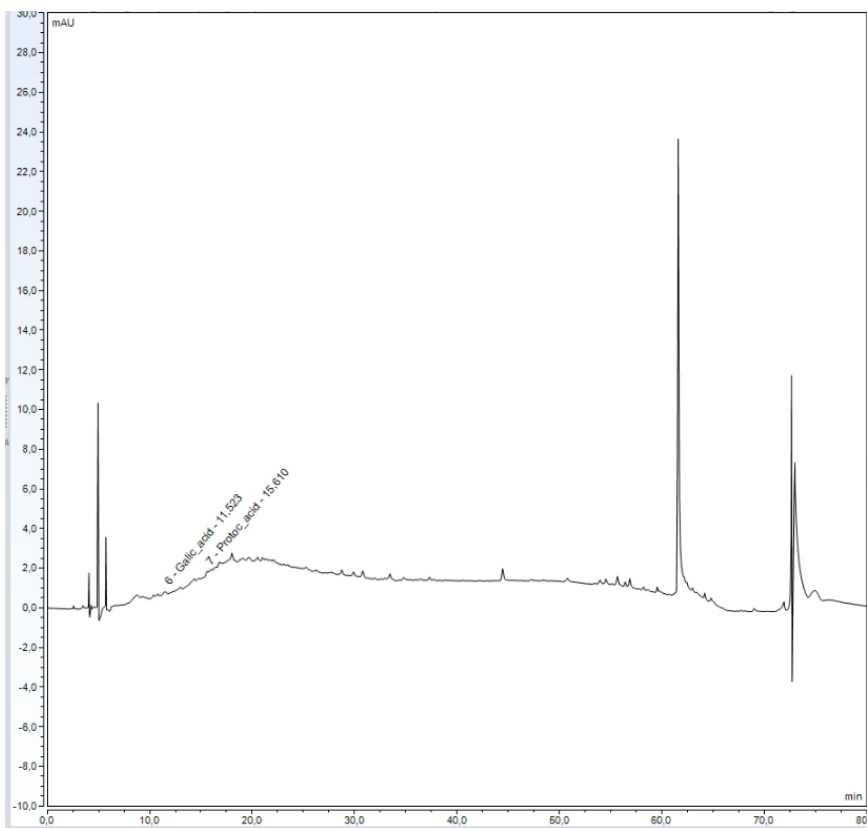
3.3. HPLC analiza ekstrakata plodova *Rose*

Tablica 13. Fenolni profil ekstrakata plodova *Rose* određen HPLC metodom

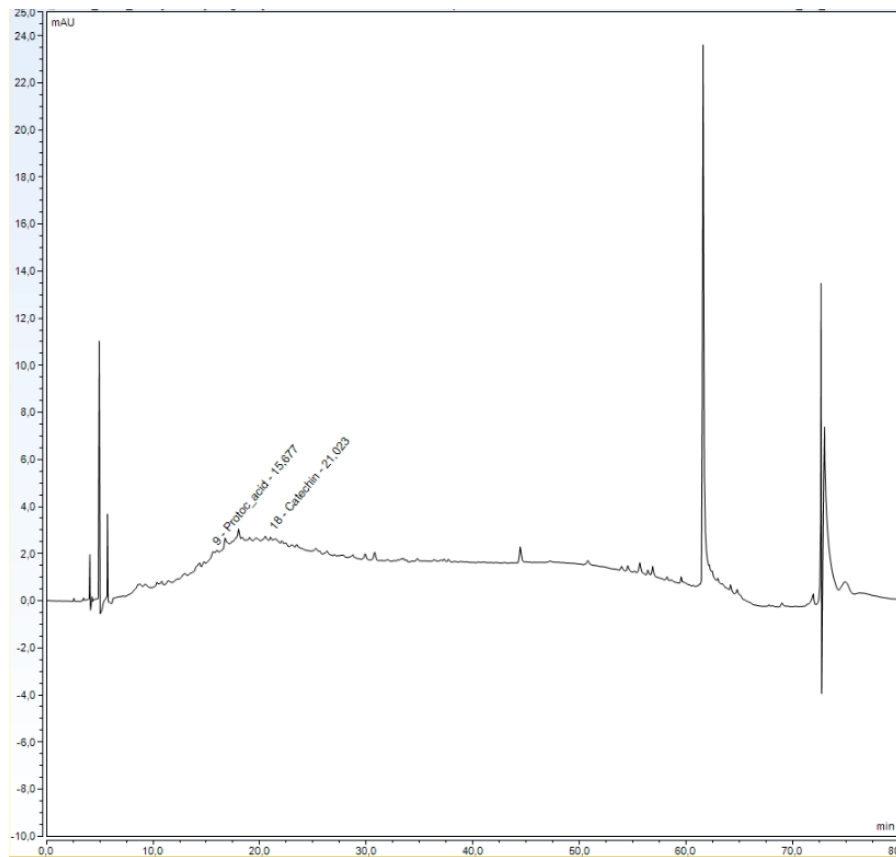
Oznaka uzorka	Galna kiselina (mg/mL)	Protokatehinska kiselina (mg/mL)	Epikatehin (mg/mL)	Katehin (mg/mL)
<i>R. canina</i> , Jadrija	n.d.	0,311 ± 0,111	n.d.	0,336 ± 0,005
<i>R. canina</i> , Ervenik	n.d.	0,203 ± 0,074	n.d.	n.d.
<i>R. canina</i> , Torak	n.d.	n.d.	n.d.	0,213 ± 0,052
<i>R. canina</i> , Mosor	n.d.	0,437 ± 0,061	n.d.	0,195 ± 0,018
<i>R. hybrida</i> spp., Šibenik	1,239 ± 0,078	n.d.	n.d.	1,231 ± 0,057
<i>R. hybrida</i> spp., Bilice	9,025 ± 0,179	n.d.	0,641 ± 0,045	3,335 ± 0,210



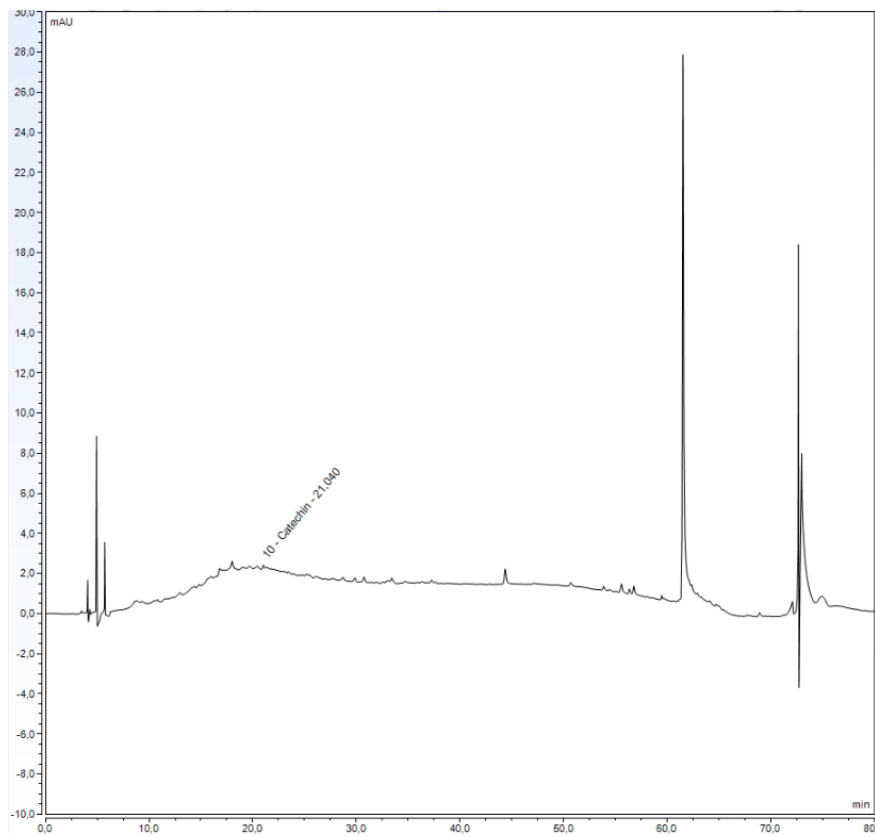
Slika 8. HPLC kromatogram *R. canina*, Jadrija



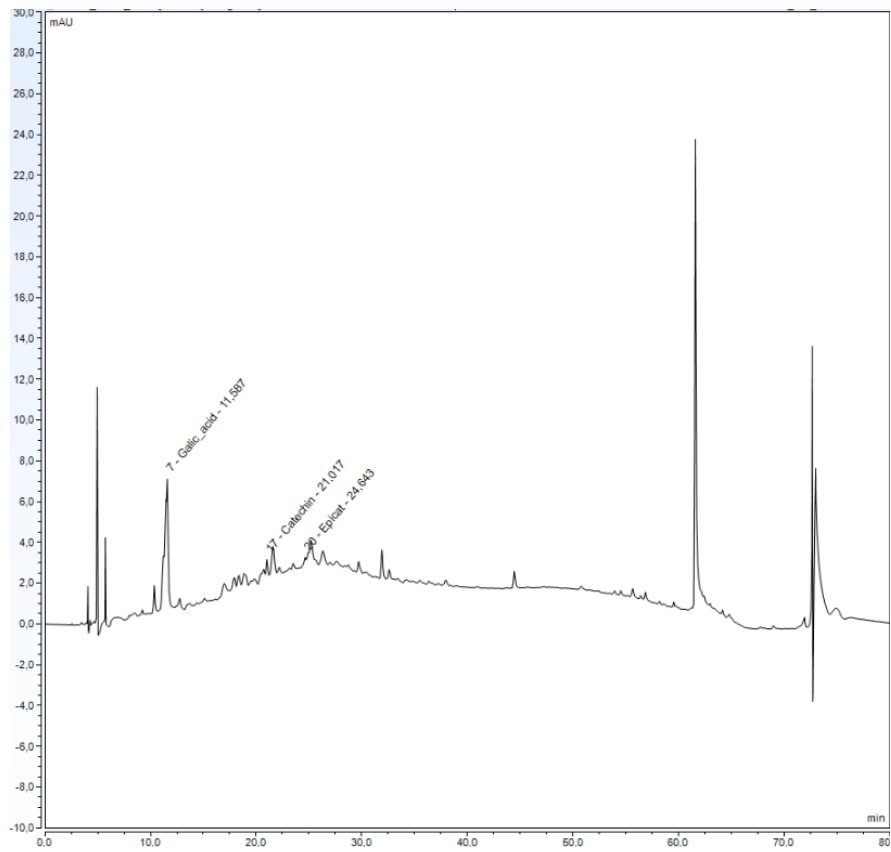
Slika 9. HPLC kromatogram *R. canina*, Ervenik



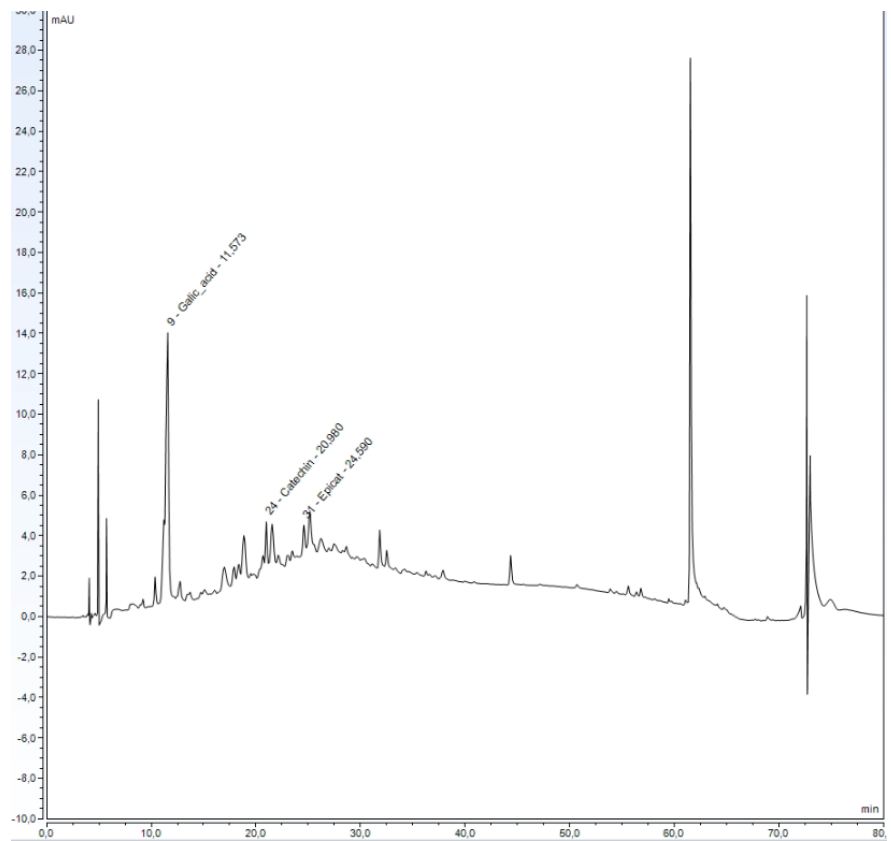
Slika 10. HPLC kromatogram *R. canina*, Torak



Slika 11. HPLC kromatogram *R. canina*, Mosor



Slika 12. HPLC kromatogram *R. hybrida* spp., Šibenik



Slika 13. HPLC kromatogram *R. hybrida* spp., Bilice

4. RASPRAVA

Cilj ovog diplomskog rada bio je odrediti spektrometrijski sadržaj ukupnih fenola te HPLC metodom odrediti fenolni profil ekstrakata plodova roda *Rosa* i to na vrstama *Rosa canina* L. i *Rosa hybrida* spp.

Iz grafičkog prikaza sadržaja ukupnih fenola u testiranim uzorcima možemo uočiti vrlo visoke vrijednosti koje su se kretale od 1655,56 mg GAE/L u uzorku *R. canina*, Mosor do 2811,11 mg GAE/L u uzorku *R. hybrida*, Bilice. Uzorci *R. canina*, Jadrija, *R. canina*, Ervenik i *R. canina*, Torak imaju približne slične vrijednosti dok uzorak *R. hybrida*, Šibenik lagano odskaače i uz uzorak *R. hybrida*, Bilice jedini ima vrijednost iznad 2000 mg GAE/L. Visoka vrijednost sadržaja fenola u uzorku *R. hybrida*, Bilice se može pripisati lošem okolišnom okruženju jer se nalazi uz prometnicu i limarsku radnju koja imitira velik udio štetne prašine u zrak. Osim toga uzorak se nalazi na klimatski nestabilnom podneblju gdje su velike temperaturne i vremenske razlike između jutra i popodneva. S obzirom da se uzorak nalazi u urbanom području ne možemo zanemariti upotrebu kemikalija i zaštitnih sredstava u očuvanju tla i biljaka te upotrebe klorirane vode. Sve navedene karakteristike mogu biti razlog zbog kojeg biljka producira veći udio fitokemikalija kako bi se obranila od navedenih štetnih utjecaja. Uzorak *R. hybrida*, Šibenik se također nalazi u urbanom području te možemo donijeti slične zaključke kao i kod uzorka *R. hybrida*, Blice. Ostali uzorci se ne nalaze u urbanim područjima gdje nema prometa, niti ikakvog drugog zagađenja bilo od pesticida ili gnojiva te im je izvor vode za navodnjavanje isključivo kišnica. Također, bitno je istaknuti i podatak da su uzorci *R. hybrida*, Šibenik i *R. hybrida*, Bilice kultivirani u odnosu na ostale uzorke kod kojih je udio ukupnih fenola bio nešto niži.

S obzirom da uzorci variraju od 0 m.n.v do 1 000 m.n.v. možemo uočiti da uzorak *R. canina*, Mosor ima najmanji udio ukupnih fenola, a sakupljen je sa staništa na 1 000 m.n.v. dok su svi uzorci bogati fenolnim sastavom brani na lokacijama ispod 100 m.n.v. Također, s obzirom da je uzorak ubran na području Mosora jedini s planinskom klimom možemo povući poveznicu da je sa visinom i hladnijom klimom siromašniji fenolni sastav, međutim tu hipotezu bi trebalo dodatno ispitati na više uzoraka.

U tablici 13 i na slikama 8-13 prikazani su rezultati HPLC analize testiranih ekstrakata koji se dosta razlikuju od rezultata prethodno provedenih studija. Kerasioti i sur. (2019) i Elmastaş i sur. (2017) su u svojim studijima za *R. canina* potvrdili koncentraciju od 134,74 µg/g katehina [51] odnosno 225,25 - 437,42 mg/kg [52], što se podudara s

podacima u uzorcima *R. canina*. Nasuprot tome, isti autori su pronašli 2,21 µg/g [52], odnosno 3,08 – 6,83 mg/kg [52] galne kiseline što je značajna količina dok u eksperimentnu, u niti jednom uzorku galna kiselina nije detektirana. Kerasiotti i sur. (2019) su pronašli 120,99 µg/g epikatehina koji također nije pronađen uzorcima analiziranim u ovom diplomskom radu.

Ono što se zasigurno može zaključiti jest da postoji razlika između uzoraka te da se uzorka *R. hybrida* s područja Bilice ponovno ističe s najvećim udjelom pojedinih fenolnih komponenti. U uzorku *R. hybrida*, Bilice određena je najveća koncentracija galne kiseline, epikatehina i katehina dok protokatehinska kiselina nije identificirana. Osim u uzorku *R. hybrida*, Bilice, galnu kiselinu nalazimo i u uzorku *R. hybrida* s područja Šibenik koji je drugi po redu imao najveći udio ukupnih fenola. Također, jedino je u uzorku *R. hybrida*, Bilice identificiran epikatehin i to u vrlo visokoj koncentraciji dok je u uzorku *R. canina* s područja Ervenik pronađena protokatehinska kiselina te u uzorku *R. canina*, Torak samo katehin. Uzimajući u obzir općenite klimatske uvijete u kojima rastu testirani uzorci (tablica 9.) i nadmorsku visinu na kojoj su uzorkovani, ipak ne možemo odrediti sigurnu poveznicu s fenolnim profilom.

Iako je *Rosa canina* rasprostranjena na našim područjima kroz pregled literature može se uočiti da u drugim dijelovima svijeta ipak nije toliko rasprostranjena. Pregledom odabrane i dostupne znanstvene literature može se uočiti da su dosta zastupljena ispitivanja na vrstama *R. arvensis*, *R. dumalis*, *R. villosa*, *R. sempervirens*. [53, 54] Biolle i sur. (1994) su istraživali fenolni sastav na laticama različitih vrsta ruža dok su Polumackanycz i sur. (2020) istraživali fenolni sastav listova ruže. Međutim, pregledom dostupne literature nema podataka o usporedbi fenolnog sastava plodova divljih i kultiviranih ruža kao što je provedeno u ovom radu. U eksperimentalnom dijelu ovog rada također su korišteni uzorci s urbanog području dok većina radova ne navodi da li se uzorci nalaze na urbanim ili na neurbanim područjima. Iz tog razloga bi ovo istraživanje moglo dati smjernice za provedbu daljnjih istraživanja i praćenja utjecaja okolišnih i drugih faktora na fenolni sastav i profil plodova *Rosa*.

5. ZAKLJUČAK

Iz dobivenih rezultata i provedene rasprave možemo izvesti slijedeće zaključke:

- Udio ukupnih fenola u testiranim uzorcima kretao se od 1655,56 mg GAE/L do 2811,11 mg GAE/L.
- Kultivirane ruže pokazale su veći udio fenola u odnosu na divlje ruže.
- HPLC metodom je dokazano prisustvo četiri fenolna spoja od kojih su najzastupljenije galna i protokatehinska kiselina te epikatehin i katehin.
- Galna kiselina je identificirana u uzorcima *R. hybrida* s područja Šibenika i Bilica.
- U uzorcima *R. canina* uzorkovanim na području Jadrija, Ervenik i Mosor identificirana je protokatehinska kiselina.
- Epikatehin je bio zastupljen u uzorku *R. hybrida*, Bilice, a katehin u uzorku *R. canina*, Ervenik.
- Ukupna koncentracija identificiranih fenolnih spojeva HPLC metodom bila je veća u kultiviranim ružama u usporedbi s divljim ružama.

6. LITERATURA

1. Šindrak Z, Jemrić T, Grđan K, Baričević L. Divlje ruže: Važnost, uporaba i uzgoj. Hrvatska sveučilišna naklada d.o.o., Zagreb, 2013.
2. Hamilton AC. Medicinal plants, conservation and livelihoods. *Biodivers Conserv* 2004;13(8):1477-517.
3. Mikošić K. Razmnožavanje pasje ruže (*Rosa canina* L.). Diplomski rad, Agronomski fakultet, 2011.
4. Ivančić A. Hibridizacija pomembnejših rastlinskih vrst. Fakulteta za kmetijstvo, 2002.
5. Kole C. Wild crop relatives: Gemonic and breeding resources, plantation and ornamental crops. Springer, Berlin, 2011.
6. Werlemark G, Nybom H. Dogroses: Botany, Horticulture, Genetics, and Breeding. *Horticultural Reviews* 2010;36:199-255.
7. Beales P et al. *Botanica's roses: the encyclopedia of roses*. Könemann, 2005.
8. Wissemann V, Ritz CM. The genus *Rosa* (Rosoideae, Rosaceae) revisited: molecular analysis of nrITS-1 and atpB-rbcL intergenic spacer (IGS) versus conventional taxonomy. *Botanical Journal of the Linnean Society* 2005;147:275-290.
9. Scheerer O. Ruže u našem vrtu. Mladost, Zagreb, 1971.
10. Domac R. Flora Hrvatske. Školska knjiga, Zagreb, 2002.
11. Schereer O. Ruže u našem vrtu. Mladost, Zagreb, 1971.
12. Forenbacher S. Velebit i njegov biljni svijet. Školska knjiga, Zagreb, 1990.
13. Grlić Lj. Enciklopedija samoniklog jestivog bilja. Ex libris, Rijeka, 2005.
14. Werlemark G. Dogrose: Wild plant, bright future. *Chronica Horticulturae* 2009;49(2):8-13.
15. Kovacs S, Facsar G, Udvardy L, Tóth M. Phenological, Morphological and Pomological Characteristics of Some Rose Species Found in Hungary. *Acta Horticulturae* 2005;690:71-76.
16. Shamsizade LA, Novruzov EN. Distribution, Fruit Properties and Productivity of *Rosa* Species in Great Caucasus, Azerbaijan. *Acta Horticulturae* 2005;690:101-105.
17. Matleković V. Tehnologija uzgoja divlje ruže (*Rosa canina* L.) i mogućnost prerade plodova. Završni rad, Agronomski fakultet, 2016.
18. https://www.google.com/search?q=rosa+canina&rlz=1C1GCEA_enHR912HR912&sxsrf=ALeKk02mQQ4GoEcmhcDr0166EMIOTIFrJQ:1621973125066&source=lnms&tbn=isch&sa=X&ved=2ahUKEwjikNHf0OXwAhXXvosKHZT3AHgQ_AUoAXoEC

AEQAw&biw=1366&bih=625#imgrc=JFXpleq7ze7rlM&imgdii=KV04a6w7qk0WRM
- pristupljeno 25.05.2021.

19. Osobna arhiva - pristupljeno 26.05. 2021.

20. Demir F, Ozcan M. Chemical and technological properties of rose (*Rosa canina* L.) fruits grown wild in Turkey. *Journal of Food Engineering* 2001;47:333-336.

21. Hoşafçı H, Arslan N, Sarihan EO. Propagation of Dogrose (*Rosa canina* L.) by Softwood Cuttings. *Acta Horticulturae* 2005;690:139-142.

22. Lodeta V. Kakvoća šipka i podizanje nasada ruža za uzgoj ploda. *Pomologia Croatica* 2006;3:233-239.

23. Fan C, Pacier C, Martirosyan MD. Rose hip (*Rosa canina* L.): A Functional food perspective. *Functional Foods in Health and Disease* 2014;4(11):493-509.

24. Nybom H, Werlemark G. Beauty is as beauty does - culinary and medicinal use of rosehips. *Acta Horticulturae* 2015;1064: 137-150.

25. Lattanzio F, Greco E, Carretta D, Cervellati R, Govoni P, Speroni E. In vivo anti-inflammatory effect of *Rosa canina* L. Extract. *Journal of Ethnopharmacology* 2011;137:880-885.

26. Georgieva S, Angelov G, Boyadzhieva S. Concentration of Vitamin C and Antioxidant activity of Rosehip Extracts. *Journal of Chemical Technology and Metallurgy* 2014;49(5):451-454.

27. Fecka I. Qualitative and quantitative determination of hydrolysable tannins and other polyphenols in herbal products from meadowsweet and dog rose. *Phytochemical Analysis* 2009;20: 177-190.

28. Ercişli S, Guleryuz M. Rose hip Utilization in Turkey. *Acta Horticulturae* 2005;690:77-81.

29. Vedrına Dragojević I, Šebečić B. Biokemija prehrane, Vitamini u namirnicama. Udžbenik za vježbe iz kolegija Biokemija prehrane za studente Studija farmacija. Farmaceutsko-biokemijski fakultet, 2007.

30. Kazaz S, Baydar H, Erbas S. Variations in Chemical Compositions of *Rosa damascena* Mill. and *Rosa canina* L. Fruits. *Czech Journal of Food Science* 2009;27(3):178-184.

31. Nojavan S, Khalilian F, Kiai FM, Rahimi A, Arabanian A, Chalavi S. Extraction and quantitative determination of ascorbic acid during different maturity stages of *Rosa canina* L. Fruit. *Journal of Food Composition and Analysis* 2008;21: 300-305.

32. Montazeri N, Baher E, Mirzajani F, Barami Z, Yousefian S. Phytochemical contents and biological activities of *Rosa canina* fruit from Iran. *Journal of Medicinal Plants Research* 2011;5: 4584-4589.
33. Demir N, Yildiz O, Alpaslan M, Hayaloglu AA. Evaluation of volatiles, phenolic compounds and antioxidant activities of rose hip (*Rosa L.*) fruits in Turkey. *Food Science and Technology* 2014;57:126-133.
34. Nađpal JD, Lesjak MM, Šibul FS, Anacčkov GT, Četojević-Simin DD, Mimica-Dukić NM, Beara IN. Comparative study of biological activities and phytochemical composition of two rose hips and their preserves: *Rosa canina L.* and *Rosa arvensis Huds.* *Food Chemistry* 2016;192:907-914.
35. Hvattum E. Determination of phenolic compounds in rose hip (*Rosa canina*) using liquid chromatography coupled to electrospray ionisation tandem mass spectrometry and diode-array detection. *Rapid Communications in Mass Spectrometry* 2002;16:655-662.
36. Nowak R. Comparative study of phenolic acids in pseudofruits of some species of roses. *Acta Poloniae Pharmaceutica* 2006;63:281-288.
37. Guimarães R, Barros L, Dueñas M, Carvalho AM, Queiroz MJRP, SantosBuelga C et al. Characterisation of phenolic compounds in wild fruits from Northeastern Portugal. *Food Chemistry* 2013;141:3721-3730.
38. Larsen E, Kharazmi A, Christensen PL, Christensen Brogger S. An Antiinflammatory Galactolipid from Rose Hip (*Rosa canina*) that Inhibits Chemotaxis of Human Peripheral Blood Neutrophils in Vitro. *Journal of Natural Products* 2003;66 (7): 994– 995.
39. Gao X, Bjork L, Trajkovski V, Ugglä M. Evaluation of antioxidant activities of rosehip ethanol extracts in different test systems. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 2000;80: 2021- 2027.
40. Janick J, Werlemark G, Nybom H. Dogroses: Botany, Horticulture, Genetics and Breeding. *Horticultural Reviews* 2010;36:199-255.
41. Szentmihályi K, Vinkler P, Lakatos B, Illés V, Then M. Rose hip (*Rosa canina L.*) oil obtained from waste hip seeds by different extraction methods. *Bioresource Technology* 2002;82:195-201.
42. Fascellaa G, D'Angiolilloa F, Mammanoa MM, Amentab M, Romeob FV, Rapisardab P, Ballistrerib G. Bioactive compounds and antioxidant activity of four rose hip species from spontaneous Sicilian flora. *Food Chemistry* 2019;289:56-64.

43. Barros L, Carvalho AM, Morais JS, Ferreira ICFR. Strawberry-tree, blackthorn and rose fruits: Detailed characterization in nutrients and phytochemicals with antioxidant properties. *Food Chemistry* 2010;120:247-254.
44. Barros L, Carvalho AM, Ferreira ICFR. Exotic fruits as a source of important phytochemicals: Improving the traditional use of *Rosa canina* fruits in Portugal. *Food Research International* 2011;44:2233-2236.
45. Egea I, Sánchez-Bel P, Romojaro F, Pretel MT. Six edible wild fruits as potential antioxidant additives or nutritional supplements. *Plant Foods for Human Nutrition* 2010;65:121-129.
46. Tumbas VT, Čanadović-Brunet JM, Četojević-Simin DD, Četković GS, Đilas SM, Gille L. Effect of rosehip (*Rosa canina* L.) phytochemicals on stable free radicals and human cancer cells. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 2012;92:1273-1281.
47. Andersson U, Berger K, Höggberg A, Landin-Olsson M, Holm C. Effects of rose hip intake on risk markers of type 2 diabetes and cardiovascular disease: a randomized, double-blind, cross-over investigation in obese persons. *European Journal of Clinical Nutrition* 2012;66:585-590.
48. Amerine MA, Ough CS. *Methods for analysis of musts and wines*, Pub J Wiley & Sons, 1980;181-200.
49. Singleton VL, Rossi JA. Colorimetry of total phenolics with phospho-molybdic-phosphotungstic acid reagents, *Am J Enol Vitic* 16, 1965.; 144-158.
50. Ursić I. Prednosti tekućinske kromatografije ultra visoke učinkovitosti u razvoju stabilitetno-indikativne metode za kontrolu kakvoće nepafenaka. Specijalistički rad, Farmaceutsko-biokemijski fakultet, 2017.
51. Kerasioti E, Apostolou A, Kafantaris I, Chronis K, Kokka E, Dimitriadou C, Tzanetou EN, Priftis A, Koulocheri SD, Haroutounian SA, Kouretas D, Stagos D. Polyphenolic Composition of *Rosa canina*, *Rosa sempervivens* and *Pyrocantha coccinea* Extracts and Assessment of Their Antioxidant Activity in Human Endothelial Cells. *Antioxidants* 2019; 8:92.
52. Elmastaş M, Demir A, Genç N, Dölek U, Güneş M. Changes in Flavonoid and Phenolic Acid Contents in Some *Rosa* species During Ripening. *Food Chemistry* 2017;235:154-159.
53. Nađpal JD, Lesjak MM, Mrkonjić ZO, Majkić TM, Četojević-Simin DD, Mimica-Dukić NM, Beara IN. Phytochemical composition and in vitro functional properties of three wild rose hips and their traditional preserves. *Food Chemistry* 2017;241:290-300.

54. Ercisli S. Chemical composition of fruits in some rose (*Rosa spp.*) species. *Food Chemistry* 2007;104:1379–1384.
55. Biolley JP, Jay M, Viricel MR. Flavonoid diversity and metabolism in 100 *rosa x hybrida* cultivars. *Phytochemistry* 1994; 35(2):413-419.
56. Polumackanycz M, Kaszuba M, Konopacka A, Marzec-Wróblewska U, Wesolowski M, Waleron K, Bucíński A, Viapiana A. Phenolic Composition and Biological Properties of Wild and Commercial Dog Rose Fruits and Leaves. *Molecules* 2020;25(22):5272.