

Razlike u kemijskom sastavu obične borovice (*Juniperus communis* L.) između promatranih lokaliteta

Prežigalo, Martina

Master's thesis / Diplomski rad

2022

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Food Technology and Biotechnology / Sveučilište u Zagrebu, Prehrambeno-biotehnološki fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:159:758460>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-11-05**



Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of Food Technology and Biotechnology](#)



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
PREHRAMBENO-BIOTEHNOLOŠKI FAKULTET

DIPLOMSKI RAD

Zagreb, 2022.

Martina Prežigalo

**RAZLIKE U KEMIJSKOM
SASTAVU OBIČNE BOROVICE
(*Juniperus communis* L.)
IZMEĐU PROMATRANIH
LOKALITETA**

Rad je izrađen u Laboratoriju za kemiju i biokemiju hrane na Zavodu za poznavanje i kontrolu sirovina i prehrambenih proizvoda Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu pod mentorstvom prof.dr.sc. Ines Panjkota Krbavčić.

Zahvaljujem se prof.dr.sc. Ines Panjkota Krbavčić, svojoj mentorici, koja mi je savjetima, strpljenjem, susretljivošću i razumijevanjem uvelike pomogla pri izradi diplomskog rada.

Tehničkoj suradnici Valentini Hohnjec veliko hvala na pomoći pri izradi eksperimentalnog dijela ovog rada.

Hvala mojim roditeljima i sestrama na pomoći i osloncu koji su mi pružali tijekom studiranja. Mateu, hvala što jesi moja najveća podrška i motivacija, što si vjerovao u mene i u moje snove.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Sveučilište u Zagrebu
Prehrambeno-biotehnološki fakultet
Zavod za poznavanje i kontrolu sirovina i prehrambenih proizvoda
Laboratorij za kemiju i biokemiju hrane

Diplomski rad

Znanstveno područje: Biotehničke znanosti
Znanstveno polje: Nutricionizam

Diplomski sveučilišni studij: Nutricionizam

RAZLIKE U KEMIJSKOM SASTAVU OBIČNE BOROVICE (*Juniperus communis* L.) IZMEĐU PROMATRANIH LOKALITETA

Martina Prežigalo, univ. bacc. nutr.
0058206882

Sažetak: Obična borovica (*Juniperus communis* L.) je zimzelen grm čiji su plodovi male okruglaste tamnoplave bobice koje dozrijevaju u jesen. Borovica, njeni ekstrakti i eterična ulja imaju primjenu u prehrambenoj, kozmetičkoj industriji i narodnoj medicini zbog svojih protuupalnih, antimikrobnih i antioksidativnih svojstava. Cilj ovog rada bio je odrediti kemijski sastav plodova obične borovice. Uzorci korišteni u ovom radu uzeti su sa šesnaest lokacija s područja Gorskog kotara, Like, Istre, Zagrebačke županije i Slavonije. Ukupan broj ispitivanih uzoraka bio je 21, a određivanje kemijskog sastava obuhvaćalo je određivanje masenog udjela vode, pepela, masti, proteina, šećera i celuloze. Prosječni maseni udio vode u svim ispitanim uzorcima iznosio je 30,46 %, pepela 2,45 %, masti 8,22 %, proteina 2,63 %, 23,49 % i celuloze 12,74 %. Jednofaktorska analiza varijance pokazala je da ne postoji statistički značajna razlika između lokaliteta.

Ključne riječi: borovica, *Juniperus communis* L., kemijski sastav

Rad sadrži: 56 stranica, 16 slika, 16 tablica, 48 literaturnih navoda, 0 priloga

Jezik izvornika: hrvatski

Rad je u tiskanom i elektroničkom (pdf format) obliku pohranjen u: Knjižnica Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta, Kačićeva 23, Zagreb

Mentor: Ines Panjkota Krbavčić, prof.dr.sc.

Stručno povjerenstvo za ocjenu i obranu:

1. Prof.dr.sc. Nada Vahčić (predsjednik)
2. Prof.dr.sc. Ines Panjkota Krbavčić (mentor)
3. Doc.dr.sc. Ivana Rumora Samarin (član)
4. Prof.dr.sc. Ksenija Marković (zamjenski član)

Datum obrane: 28. siječnja 2022.

BASIC DOCUMENTATION CARD

University of Zagreb

Graduate Thesis

Faculty of Food Technology and Biotechnology

Department of Food Quality Control

Laboratory for Food Chemistry and Biochemistry

Scientific area: Biotechnical Sciences

Scientific field: Nutrition

Graduate university study programme: Nutrition

DIFFERENCES IN CHEMICAL COMPOSITION OF COMMON JUNIPER (*Juniperus communis* L.) BETWEEN OBSERVED LOCATIONS

Martina Prežigalo, univ. bacc. nutr.
0058206882

Abstract: *Juniperus communis* L. is an evergreen shrub whose fruits are small, round and dark blue berries that ripen in autumn. Juniper, its extracts and essential oils are used in the food, cosmetics and folk medicine due to their anti-inflammatory, antimicrobial and antioxidant properties. The aim of this study was to determine the chemical composition of juniper fruits. The samples used in this thesis were collected from sixteen different locations in area of Gorski kotar, Lika, Istra, Zagreb county and Slavonija. The total number of tested samples was 21, and determination of chemical composition included determination of mass fraction of water, ash, fat, protein, sugar and cellulose. The average mass fraction of water in all tested samples was 30.46%, ash 2.45%, fat 8.22%, protein 2.63%, sugars 23.49% and cellulose 12.74%. One-way analysis of variance showed that there is no statistically significant difference between the localities.

Keywords: juniper, *Juniperus communis* L., chemical composition

Thesis contains: 56 pages, 16 figures, 16 tables, 48 references, 0 supplements

Original in: Croatian

Graduate Thesis in printed and electronic (pdf format) version is deposited in: Library of the Faculty of Food Technology and Biotechnology, Kačićeva 23, Zagreb.

Mentor: Ines Panjkota Krbavčić, PhD

Reviewers:

1. Nada Vahčić, PhD, Full Professor (president)
2. Ines Panjkota Krbavčić, PhD, Full Professor (mentor)
3. Ivana Rumora Samarin, PhD, Assistant professor (member)
4. Ksenija Marković, PhD, Full Professor (substitute)

Thesis defended: Januray 28th, 2022

SADRŽAJ

1. UVOD.....	1
2. TEORIJSKI DIO	2
2.1 OBIČNA BOROVICE.....	2
2.2 PODVRSTE BOROVICE.....	2
2.3 TAKSONOMIJA BOROVICE	3
2.4 MORFOLOGIJA.....	3
2.5 STANIŠTE I RASPROSTRANJENOST.....	5
2.6 BERBA.....	6
2.7 LJEKOVITOST BILJKE I POVIJESNO KORIŠTENJE U MEDICINI	7
2.8 UPOTREBA.....	8
2.9 UČINCI <i>Juniperus communis</i> NA LJUDSKO ZDRAVLJE	8
2.10 ETERIČNO ULJE.....	9
2.11 KEMIJSKI SASTAV BOROVICE	10
3. EKSPERIMENTALNI DIO	13
3.1 Materijali	13
3.2 Metode rada.....	16
3.3 Određivanje udjela vode.....	17
3.4 Određivanje udjela mineralnog ostatka (pepela).....	19
3.5 Određivanje udjela ukupnih proteina Kjeldahlovim postupkom	21
3.6 Određivanje udjela masti metodom po Soxheltu	24
3.7 Određivanje udjela reducirajućih šećera	27
3.8 Određivanje udjela celuloze Kürschnerovim i Hanakovim postupkom.....	30
3.9 Statistička obrada podataka.....	32
4. REZULTATI I RASPRAVA	34
4.1 Rezultati analize uzoraka s područja Istre.....	34
4.2 Rezultati analize uzoraka s područja Like.....	35
4.3 Rezultati analize uzoraka s područja Gorskog kotara	37
4.4 Rezultati analize uzoraka s područja kontinentalne Hrvatske.....	38
4.5 Rezultati za maseni udio vode.....	39
4.6 Rezultati za maseni udio pepela	40
4.7 Rezultati za maseni udio masti.....	41
4.8 Rezultati za maseni udio proteina	43
4.9 Rezultati za maseni udio šećera	44

4.10 Rezultati za maseni udio celuloze	46
4.11 Prosječni sastav svih uzoraka	47
4.12 Usporedba vlastitih i literaturnih podataka	48
5. ZAKLJUČCI.....	51
6. LITERATURA.....	53

1. UVOD

Obična borovica, *Juniperus communis* je zimzeleni, ragranati grm koji pripada porodici čempersa (*Cupressaceae*). Borovica je najrasprostranjenija četinjača, otporna na velike mrazove i sušu. Obitava na području cijele Europe, Sjeverne Amerike, na planinama sjeverne Afrike i zapadne i sjeverne Azije, može rasti i na siromašnom tlu, no za rast joj je potrebno svjetlo (Enescu i sur., 2016).

Grane, iglice i bobice predstavljaju važan izvor hrane za životinje poput jelena, ptica, losova, goveda, a također se koriste i u ljudskoj prehrani (Enescu i sur., 2016). Obična borovica ima dugu tradiciju korištenja u narodnoj medicini (poznata je pod nazivima kleka, smrkovina, brinje), u znanstvenim radovima proučavama je fitokemija roda kleka, no uglavnom se kao medij koristi eterično ulje dobiveno iz bobica. Plodovi obične borovice koriste se u parfemskoj, farmaceutskoj industriji, za proizvodnju alkoholnih pića i kao začim (Miceli i sur., 2009).

Obična borovica se u narodnoj medicini koristi zbog njenog protuupalnog, antioksidativnog, antiseptičkog djelovanja, kao i zbog djelovanja na različite abdominalne poremećaje. Glavni kemijski spojevi ove biljke su α -pinen, β -pinen, apigenin, sabinen, β -sitosterol, kampesterol, limonen i brojni drugi (Bais i sur., 2014).

Cilj ovog rada bio je ispitati osnovni kemijski sastav plodova obične borovice ubranih na šesnaest lokacija teritorija Republike Hrvatske. U istraživanju je obuhvaćen i ispitan dvadeset jedan uzorak na kojima su se proveli analitički postupci određivanja masenog udjela vode, pepela, masti, proteina, šećera i celuloze. Dobiveni rezultati statistički su obrađeni i uzorci su međusobno uspoređeni s obzirom na dobivene rezultate. Dobiveni rezultati su uspoređeni s literaturno dostupnim podacima kemijskog sastava obične borovice.

2. TEORIJSKI DIO

2.1 OBIČNA BOROVICA

Obična borovica (*Juniperus communis* L.) je razgranat grm, a pripada porodici čempresa (*Cupressaceae*), raste veoma sporo, životnog je vijeka do 170 godina (Diotte i Bergeron, 1989; Enescu i sur., 2016). *Juniperus communis* L. je jedina iz roda *Juniperus* koja raste na oboje hemisfere (Hajdari i sur., 2015). Narodna imena za običnu borovicu su brojna, a neka od njih su smreka, kleka, smrekva, smrekovica, smrekva crna, kadik, fenja, brinje, brinj, resnica, smrič, smrička, smriška, borovica, brin, smrek, smrekva črna, smrkovina, smrkva, šmrč, šmreka, šmrika (Mihovilović, 2021).

2.2 PODVRSTE BOROVICE

Postoji više od 50 vrsta borovica, a u Europi rastu četiri podvrste *Juniperus communis*:

1. *Juniperus communis subsp. alpine*,
2. *Juniperus communis subsp. communis*,
3. *Juniperus communis subsp. nana* i
4. *Juniperus communis subsp. hemisphaerica* (EMA, 2009).

Podvrsta *alpine* je alpska smreka, raste kao mali grm, visine 0,5-1,5 m, grane i stabljike su puzeće. Alpska borovica raste na visokim alpskim zonama, obično na nadmorskoj visini 1700-2500m (Gonny i sur., 2005).

Juniperus communis subsp. communis raste obično kao široki grm ili manje stablo na tlu vrijednosti pH 4.1-5.7.

Podvrsta *hemisphaerica* raste na području južne Europe, u obliku niskog zbijenog grma s uskim, bodljikavim grančicama (Thomas i sur., 2007).

2.3 TAKSONOMIJA BOROVICE

Taksonomija obične borovice prikazana je u tablici 1. Rod *Juniperus* L. obuhvaća oko 40 vrsta koje rastu kao grmovi ili kao niža stabla, a rasprostranjene su na cijeloj sjevernoj polutki (Herman, 1971; Nikolić, 2013).

Tablica 1. Taksonomija borovice (USDA, 2021)

CARSTVO	<i>Plantae</i>
ODJELJAK	<i>Coniferophyta</i>
KOLJENO	<i>Pinopsida</i>
RED	<i>Pinales</i>
PORODICA	<i>Cupressaceae</i>
ROD	<i>Juniperus</i> L.
VRSTA	<i>Juniperus communis</i> L.

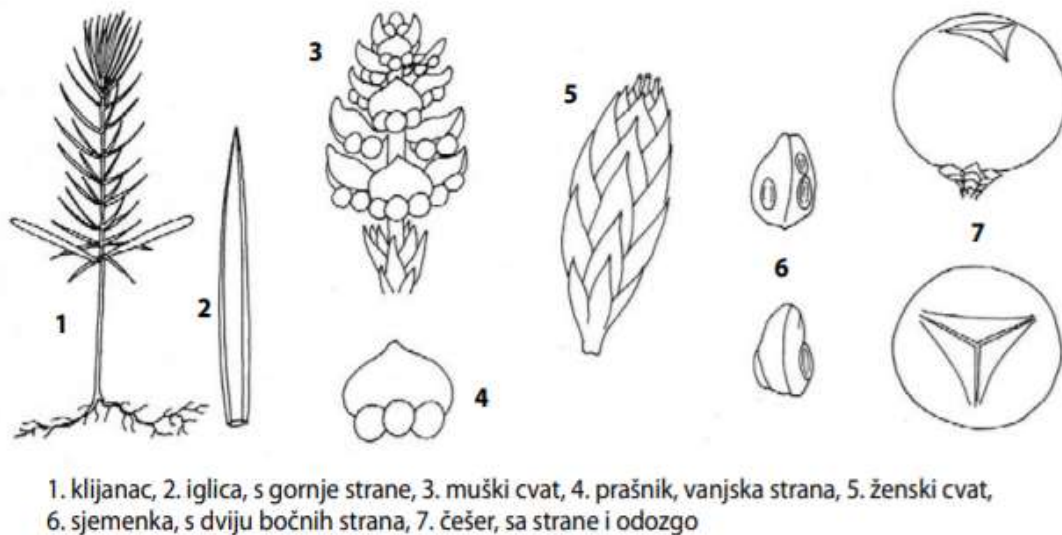
2.4 MORFOLOGIJA

Borovica, ovisno o staništu, može rasti kao patuljasti grm visok do pola metra, kao grm visok 1-2 m, može rasti i kao stablo visine 7-15 m, no najčešće raste u visinu od 3-5 m. Borovica ima žljebasto deblo, može biti debelo oko 50 cm. Mlada biljka ima glatku koru, starenjem se kora odvaja u obliku ljuski i traka te je ispucala. Korijenje biljke je razgranato s izraženom žilom srčanicom koja može prodirati duboko u tlo i tvoriti bočne korijene, korijenje ima i razvijenu endotrofnu mikorizu.

Položaj grana borovice može biti viseći, uzdignuti ili polegnuti, krošnja može biti raznoliko formirana, nepravilna ili stupolika. Listovi (iglice ili četine) su igličasti, bodljikavi, a razvijaju se po 3 u pršljenu, zašiljenih vrhova. Listovi su u početku svijetlozelene boje, kasnije tamne, na gornjoj strani lista nalazi se plavo-bijela pruga. Iglice na biljci ostaju do četiri godine. Listovi su dužine 5-30 mm, širine do 2 mm (Mihovilović, 2021; Šilić, 2005).

U pazušcima listova razvijaju se sitni cvjetovi, izgled cvjetova prikazan je na slici 1. Borovica je dvodomna biljka pa se muški i ženski cvjetovi ne nalaze na istom stablu. Ženski cvjetovi

rastu pojedinačno, zelene su boje i uspravni. Mikrostrombilusi (“muški cvjetovi”) su žuti, jajastog oblika, sastoje se od mnogobrojno poredanih prašnika, a rastu skupljeni u pazušcima (Mihovilović, 2021).



Slika 1. Grafički prikaz *Juniperus communis* (Šilić, 2005)

Borovica cvate u travnju i svibnju, ovisno o nadmorskoj visini na kojoj biljka raste. Obična borovica razmnožava se sjemenom ili reznicama (vegetativno). Nakon oplodnje cvjetova, koja se obavlja tek godinu dana nakon oprašivanja, razvijaju se mesnati češeri u obliku boba koji dozrijevaju u jesen sljedeće godine. Plodovi (bobičasti češer/šišarka/galbulus) su veličine graška, prvotno zelene boje i nezreli, a sljedeće jeseni, za otprilike 18 mjeseci, tamne ljubičaste boje promjera 4-12 mm sa 3-6 mesnatih spojenih ljuski, a u svakoj ljusci po jedna sjemenka (Gursky, 1985; Šilić, 2005). Sjemenke se prenose i rasprostiru pticama i drugim životinjama (Enescu i sur., 2016).

Zbog dugog razdoblja sazrijevanja plodova, na biljci se mogu istovremeno pronaći zreli i nezreli plodovi (slika 2). U češeru su smještene sjemenke. Sjemenke su tvrde, trokutaste i smeđe, a u svakom češeru se najčešće nalaze tri (EMA, 2021; Raina i sur, 2019; Šilić, 2005).



Slika 2. Obična borovica, plodovi različite zrelosti (Enesu i sur., 2016)

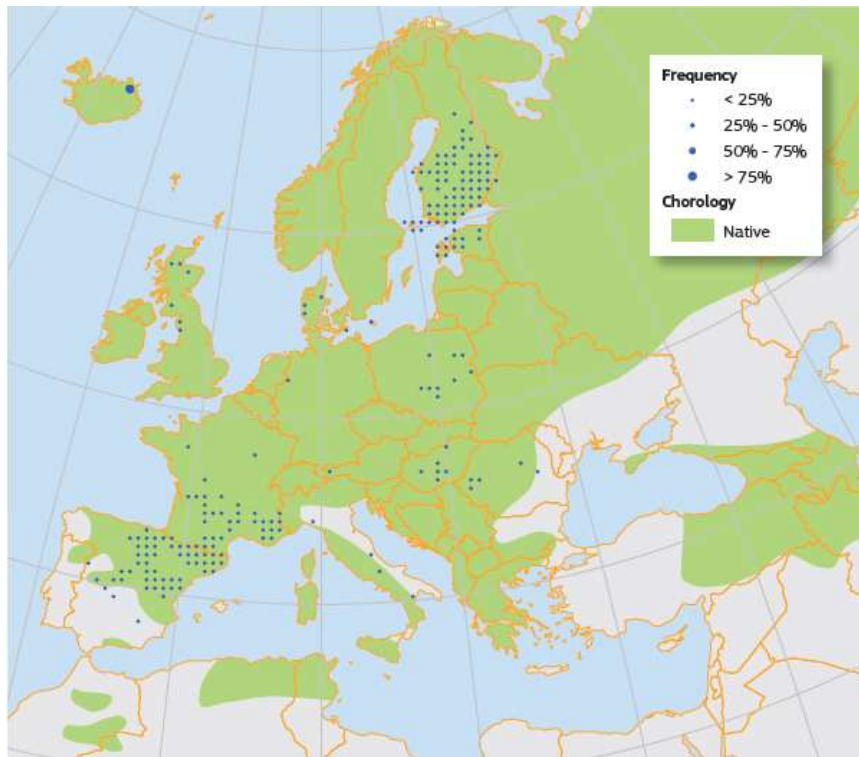
2.5 STANIŠTE I RASPROSTRANJENOST

Borovica je najrasprostranjenija četinjača, otporna na velike mraz i sušu. Raste na području cijele Europe, Sjeverne Amerike, na planinama sjeverne Afrike i zapadne i sjeverne Azije. U Aziji obitava na prostorima Kavkaza, Irana, Afganistana, i Himalaje, a u Sjevernoj Americi njezino se stanište rasprostire od Aljaske istočno do Labradora i Greenlanda, južno do New Yorka te zapadno do Minnesote i Wyominga (NBN Atlas, 2021). Na karti (slika 3) prikazana je njena rasprostranjenost u Europi. Često raste na acidofilnim tlima i devastiranim terenima poput šikara, zapuštenih pašnjaka i livada (Šilić, 2005; Enesu i sur., 2016).

U Hrvatskoj je raširena u područjima od nizina do planinskog pojasa, šume u kojima najčešće raste su hrastove i bukove te degradirane šume bukve i jele. Borovica može rasti i na otvorenim površinama poput pašnjaka i travnjaka.

Najčešće raste na degradiranim, kiselim staništima kitnjakovih šuma te u šumama s običnom brezom (Mihovilović, 2021). Borovica nema posebnih zahtjeva za tlom, no češće raste na kamenitoj i krškoj podlozi, na klisurama i neplodnim gorskim strminama (Gursky, 1985; Enescu i sur, 2016).

Prema EUFORGEN-u (2021) raste do 2400 m nadmorske visine, izdržljiva je vrsta i može rasti na siromašnom tlu. Obična borovica je heliofilna biljka pa za rast zahtijeva puno svjetla (Šilić, 2005; Enescu i sur., 2016).



Slika 3. Rasprostranjenost obične borovice na području Europe (Enescu i sur., 2016)

2.6 BERBA

Biljka *Juniperus communis* L. je cijela ljekovita, no najčešće se beru bobice. Berba traje od kraja ljeta do zime, ovisno o nadmorskoj visini na kojoj biljka raste. Bobice se mogu brati trešnjom grana, ali i ručno. Bobice su male, a listovi bodljikavi i oštri pa je ručna berba dugotrajna i zahtjevna. Berba se najčešće provodi mlaćenjem grana ispod kojih se nalazi prostirka na koju padaju plodovi. Štap kojim se udaraju grane ne smije biti debeo, niti se smije jako udarati kako ne bi padali i nezreli plodovi.

Nakon berbe, slijedi prerada ili sušenje bobica, ovisno o namjeni za koju su bobice brane. Za dobivanje eteričnog ulja ili rakije mogu se upotrijebiti svježe ili osušene borovice, neosušene

bobice nisu prikladne za konzumaciju. Bobice se suše na suhom i prozračnom mjestu. Bobice se mogu sušiti samo prirodnim putem u tankom sloju uz redovito prevrtanje, sušenje na suncu ili toplinom nije preporučljivo. Nakon sušenja, bobice se čuvaju na tamnom i suhom mjestu u drvenim ili staklenim posudama (Glavaš, 1985; Mihovilović, 2021).

2.7 LJEKOVITOST BILJKE I POVIJESNO KORIŠTENJE U MEDICINI

Borovica je biljka koju tisućama godina narodi koriste u medicinske svrhe, a njeni ekstrakti i eterična ulja imaju i primjenu u prehrambenoj i kozmetičkoj industriji. U mnogim kulturama bobice su bile korištene kao lijek zbog svojih protuupalnih, antimikrobnih i antioksidativnih svojstava.

Ova biljka je u prošlosti bila jedan od sastojaka diuretičkog vina preporučivana od Marka Porcija Katona Starijeg u knjizi “*De re rustica*”, a Leclerc 1966. spominje liječenje reumatoidnog artritisa pripravkom koji se sastojao od 8 g eteričnog ulja pomiješanog sa 4 g dietiletera u dozi od 10 kapi/dan (EMA, 2021).

Zapadnoamerička plemena pila su biljni čaj od bobica borovice i kore korijena žutike. Indijanci su koristili bobice kao sredstvo kontracepcije kod žena te za smanjenje apetita (Raina i sur., 2019). Navajo Indijanci koristili su borovicu kao lijek za dijabetes (McCabe i sur, 2005).

U turskoj tradicionalnoj medicini bobice su se koristile kao diuretik, antiseptik te za liječene gastrointestinalnih problema (Baytop, 1999). Tinkture i ekstrakt tekućine tradicionalno su korištene u narodnoj europskoj medicini za liječenje dispepsije, arteroskleroze, gihta, migrene i upale (EMA, 2021; Raina, 2019). Prema ESCOP-u (2003), borovica se smatra učinkovitom za poboljšanje bubrežne eliminacije vode.

U narodnoj se medicini koristi i kora biljke za liječenje bolesti poput astme, respiratornih oboljenja, dijabetesa, kašlja, kroničkog pijelonefritisa, kožnih bolesti, abdominalnih poremećaja, nefritičkog sindroma od djece, gonoreje i plućne blenoreje (Raina i sur., 2019).

2.8 UPOTREBA

Borovice su obično gorke pa se ne mogu jesti sirove, a nakon berbe se suše kako bi se mogle konzumirati. Sušene se koriste u kulinarstvu diljem svijeta. Osušene bobice se drobe ili melju kako bi se oslobodio njihov okus prije dodavanja jelu, koriste se za aromatiziranje juha, alkohola, gulaša, nadjeva, umaka i jela od mesa (Enescu i sur., 2016; Falcão i sur., 2018; Mastelić i sur., 1999).

Grane i bobice kleke spaljuju se prilikom vjerskih obreda u svrhu pročišćavanja zraka (Rezvani i sur., 2009.; Raina i sur., 2019). Od borovice se proizvode rakije, eterična ulja, tinkture, sokovi, čajevi i sirupi. Tinktura se dobiva maceracijom svježih plodova u alkoholu ili jakoj rakiji na suncu u staklenoj posudi.

Bobice se također koriste pri aromatiziranju alkoholnih pića kao što su *craft* pivo, gin te za proizvodnju rakije borovičke (Tarawneh i sur., 2020; Vichi i sur., 2006).

Borovica se tradicionalno koristi u proizvodnji gina te je odgovorna za karakterističnu aromu gina (Vichi i sur., 2006; Aumatell, 2014). Često se i ubacuje kao začim u gin-tonic kako bi se naglasio sam okus i aroma gina. Njen utjecaj na proizvodnju gina definiran je i zakonom, pa je definicija gina prema Uredbi (EZ) br. 110/2008: jako alkoholno piće s aromom borovice proizvedeno aromatiziranjem odgovarajućeg etilnog alkohola poljoprivrednog podrijetla bobicama borovice (*Juniperus communis L.*) (Uredba, 2008).

2.9 UČINCI *Juniperus communis* NA LJUDSKO ZDRAVLJE

Kao što je već navedeno, plodovi obične borovice upotrebljavaju se godinama u ljudskoj prehrani i narodnoj medicini zbog njenih pozitivnih djelovanja na određena stanja.

Ekstrakti plodova imaju snažno antioksidativno djelovanje koje je potvrđeno nizom in-vitro testova i različitih testova uklanjanja radikala. Tako je utvrđen inhibitorni učinak na djelovanje kasantin oksidaze, a antioksidativno djelovanje pripisuje se uglavnom prijenosu elektrona, a ne prijenosu atoma ugljika zbog čega se eterično ulje borovice smatra snažnim antioksidansom. Utvrđeno je blokiranje procesa oksidacije na živim modelima koje se pripisuje povećanoj aktivnosti različitih antioksidativnih enzima poput superoksid dismutaze, katalaze i glutation peroksidaze (Raina i sur., 2019; Bais i sur., 2014).

Istraživanja na štakorima pokazala su hepatoprotektivan učinak obične borovice gdje su vodeni ekstrakti bobica *J. communis* smanjili povišene serumske koncentracije biomarkera oštećenja jetre, a dugotrajna primjena etalnonog ekstrakta obične borovice i *Solanum xanthocarum* normalizirala je markere oštećenja jetre i preokrenulo histopatološke promjene u jetrenom tkivu kod ispitivanih štakora (Raina i sur., 2019; Bais i sur., 2014).

Pepeljnjak i suradnici (2005) istraživali su antimikrobni učinak eteričnog ulja borovice na bakterijama, kvascima, dermatofitima i kvascima sličnim gljivicama gdje je eterično ulje pokazalo baktericidan učinak na neke Gram-pozitivne i Gram-negativne bakterijske vrste te snažan protugljivični učinak pri čemu je uočeno najjače djelovanje na neke vrste roda *Candida* i dermatofite. Uz ovo istraživanje i brojna druga potvrđuju antibakterijsko djelovanje eteričnog ulja na *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* i *Hafnia alvei* (Raina i sur., 2019; Bais i sur., 2014).

Ekstrakti borovice pokazali su pozitivno djelovanje na hipoglikemiju kod štakora, također, administracijom metanolnog ekstrakta borovice uz značajno smanjenje koncentracije glukoze u krvi, došlo je i do smanjenja koncentracija kolesterola, triglicerida, lipoproteina niske gustoće (LDL), lipoproteina vrlo niske gustoće (VLDL) uz povećanje koncentracija poželjnog lipoproteina visoke gustoće (HDL) u dijabetičkih štakora. Ekstrakti obične borovice pokazali su i neuroprotektivan učinak i anti-Parkinsonovu aktivnost na modelima štakora (Banerjee i sur., 2013.; Raina i sur., 2019).

2.10 ETERIČNO ULJE

Borovice se koriste za proizvodnju eteričnog ulja (*Oleum juniperi baccarum*) (Hrvatska enciklopedija, 2021). Istraživanja su pokazala različite farmakološke aktivnosti eteričnog ulja borovice te se pokazalo da ima antioksidativni, antimikrobni, hipoglikemijski, hipolipidemijski, citotoksični i protuupalni učinak.

Eterično ulje može se dobivati od različitih dijelova biljke poput lišća, plodova i korijena. Bobice borovice sadrže eterično ulje u udjelu od 0,5 % u svježim bobicama, a osušene bobice sadrže 2,5 % eteričnog ulja (Raina i sur., 2019)

Eterična ulja borovice sadrže mnoge spojeve. Glavni terpenoidi u ulju su ugljikovodici monoterpena, seskviterpeni i diterpeni. Monoterpenoidi su prisutni u najvećem udjelu od svih

terpeonida, te ih u eteričnom ulju ima do 83 % svih terpeonida, od čega je 69,4 % monoterpenskih ugljikovodika.

U skupinu monoterpenskih ugljikovodika pripadaju α -pinen, β -pinen, β -mircenski sabinen, limonen, oksigenirani monoterpenski ugljikovodici uključuju terpinen-4-ol, mirtenol, β -citronelol, linalool, kamfen hidrat, borneol (Sela i sur.,2011).

Monoterpeni su najdominantnije komponente eteričnog ulja, no brojni čimbenici utječu na njihov udio u ulju kao što su geografski položaj, stupanj zrelosti, starosti biljke i brojni drugi čimbenici.

Prema Raini i suradnicima (2019), spoj koji najviše varira je α -pinen pa ga tako u eteričnom ulju iz Grčke ima u udjelu od 27 %, 28,6-38,2 % u eteričnom ulju iz Makedonije te 46,6 % u ulju iz Irana. Eterično ulje borovice iz Hrvatske sadrži 29,17 % α -pinena (Pepeljnjak i sur., 2005).

Seskviterpeni čine oko 13,4 % eteričnog ulja borovice. Glavni seskviterpeni u eteričnom ulju su germakreni B i D (6 %), α - i β -selinen, α -humulen, epi- α -bisabolol, α -muurolen, β - i δ -elemen, dok su najpristupniji oksigenirani seskviterpeni α -kadinol, spathulenol, eudesmol, viridiflorol, germakren D-4-ol i kariofilen oksid (Sela i sur., 2011.).

Lignin, izo-kuprezinska kiselina, ariliteralin, imbricatolna kiselina, junicedral, transkomunična kiselina spadaju u skupini bicikličkih diterpena prisutnih u eteričnom ulju borovice (Raina i sur., 2019).

2. 11 KEMIJSKI SASTAV BOROVICE

Borovice imaju raznoliku primjenu u narodnoj medicini, iako je čitava biljka ljekovita, najznačajniji i najprimjenjiviji su plodovi borovice; u prehrani se najčešće koriste kao začim u različitim jelima i pri proizvodnji alkoholnih pića. U tablici 2. prikazan je kemijski sastav borovica analiziran u različitim mjesecima kroz godinu na području Južne Dakote (Gastler i sur., 1951).

Tablica 2. Sastav bobica obične borovice kroz godinu (Gastler i sur, 1951)

Nutrijent	1. listopada	2. siječnja	1. travnja	1. srpnja
Vlaga (%)	50,27	43,48	43,81	66,13
Karoten (?g/g)	56,63	16,30	52,08	57,88
Pepeo (%)	1,41	1,65	2,00	1,38
Ulje (%)	6,07	7,51	7,16	4,12
Vlakna (%)	11,28	15,50	12,70	9,51
Proteini (%)	4,22	3,30	2,85	3,53
Ekstrakt bez N (%)	26,75	28,56	31,49	15,35
Fosfor (%)	0,087	0,081	0,12	0,07
Kalcij (%)	0,36	0,85	0,67	0,25
Željezo (ppm)	94,97	91,02	92,68	40,49
Mangan (ppm)	43,62	58,82	80,19	45,98

Najistraživiji je sastav eteričnog ulja borovice koji se u bobicama nalazi u relativno viskom sadržaju. Ulje se sastoji uglavnom od monoterpena (oko 58 %) (EMA, 2021).

Bobice borovice, osim eteričnog ulja, sadrže:

- seskviterpene: δ -kadinen, α -kadinen, β -kadinen
- diterpenske kiseline: isokomunska kiselina; labdan diterpene
- C12 terpenoide: geijeron
- tanine: proantocijanidini (kondenzirani), galokatehin i epigalokatehin
- flavonoide: amentoflavoni, kvercetin, izokvercitrin, apigenin i razni glukozidi
- invertne šećere (30 %); glukoza+fruktoza (oko 30 %) i pektin
- organske kiseline: jabučna, octena, askorbinska i glukuronska kiselina
- lignan
- cerin
- smole
- juniperin koji je vjerojatno kompleks tanina i šećera (EMA, 2021; Keršek, 2004).

Borovica sadrži brojne minerale, poput kalcija, mangana, željeza, magnezija, cinka i bakra (tablica 3.). Kalciji je vezan na jabučnu kiselinu, a mangan na octenu kiselinu (Keršek, 2004).

Tablica 3. Sadržaj mineralnih elemenata u bobici borovice (Inci i sur., 2016)

Mineralni elementi	Bobica borovice
<i>N (%)</i>	0,6
<i>P (%)</i>	0,18
<i>K (%)</i>	5,72
<i>Ca (%)</i>	1,43
<i>Mg (ppm)</i>	1,87
<i>Fe (ppm)</i>	79,32
<i>Mn (ppm)</i>	16,58
<i>Zn (ppm)</i>	17,84
<i>Cu (ppm)</i>	18,91

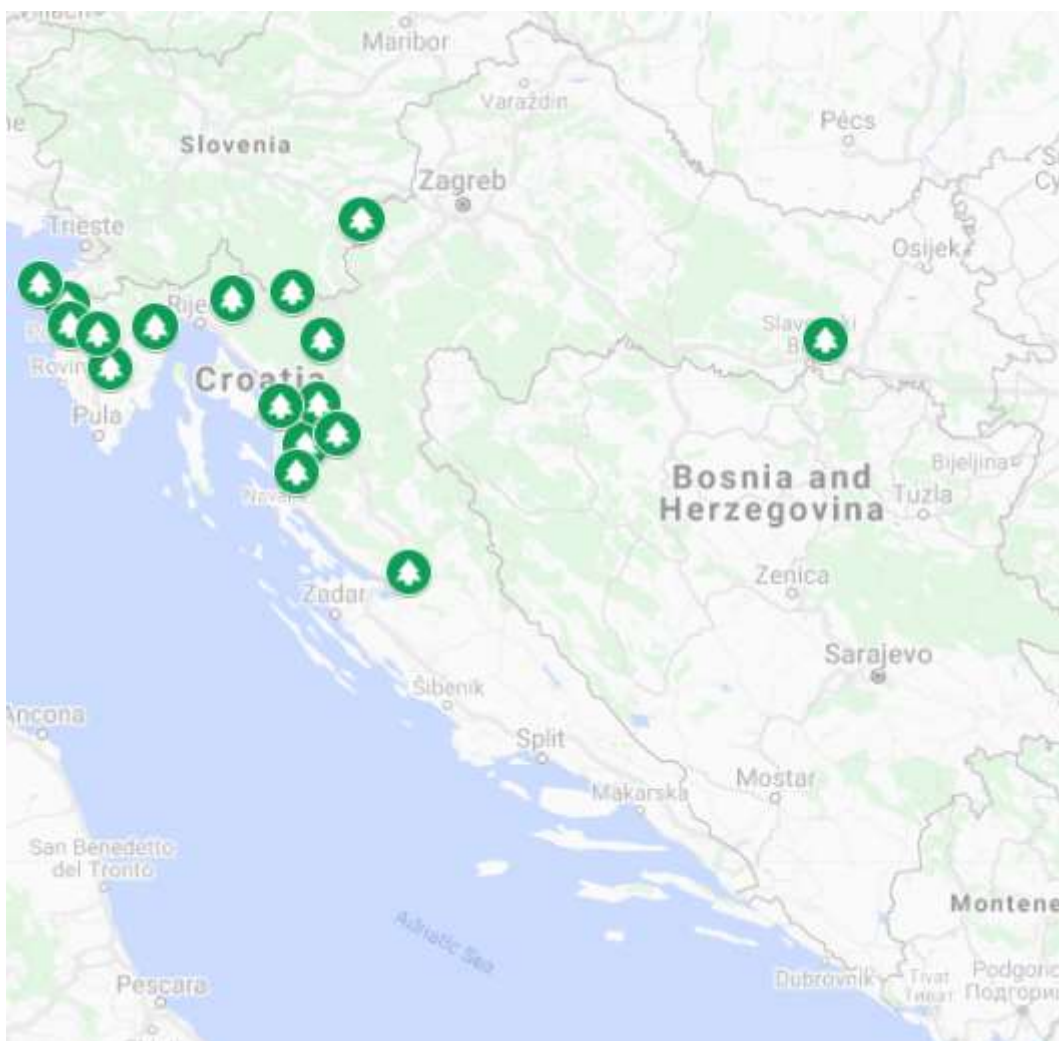
3.EKSPERIMENTALNI DIO

3.1 Materijali

Ispitivani su plodovi obične borovice (*Juniperus communis*, L.) koji su ubrani na teritoriju Republike Hrvatske na 16 različitih lokaliteta, a ti lokaliteti su (slika 4) :

- Brinje
- Brod Moravice
- Buje
- Dilj
- Kaštelir Labinci
- Klek
- Krasno
- Mali Alan
- Otočac
- Savudrija
- Senj
- Sošice
- Vela Draga
- Veliki Alan
- Veliki Risnjak
- Žminj.

Plodovi su brani kada su dosegli odgovarajući stupanj zrelosti, stavljeni u plastične sterilne posudice na kojima je bio naznačen lokalitet i broj uzorka. Uzorci su čuvani u zamrzivaču na temperaturi od -18 °C kako bi se minimizirao i spriječio gubitak svih prisutnih tvari u ubranim plodovima.



Slika 4. Prikaz lokaliteta na kojima su ubrani uzorci obične borovice (vlastita fotografija)

Borovice s istih lokaliteta međusobno su grupirane te je u konačnici dobiven 21 uzorak (tablica 4) za provođenje analitičkih metoda. Na dvadeset jednom uzorku provedeni su analitički postupci određivanja udjela vode, udjela mineralnog ostatka (pepela), udjela masti (ulja), udjela proteina, udjela šećera te udjela celuloze. Zbog nedostatka materijala, tj. ubranih borovica, na pet uzoraka (2., 10., 11., 14., 17.) nije proveden postupak određivanja udjela masti, na jednom uzorku (14.) udjel celuloze te na tri uzorka (9., 14., 19.) nije utvrđen udio reducirajućih šećera.

Tablica 4. Uzorci korišteni u eksperimentalnom dijelu

BROJ UZORKA	POČETNI UZORCI	OZNAKA UZORKA	BROJ UZORKA	POČETNI UZORCI	OZNAKA UZORKA
1.	Brinje 1	B1+B2	12.	Senj 1	SE1+SE2
	Brinje 2			Senj 2	
2.	Veliki Alan 1	VA1+VA2	13.	Senj 3	SE3+SE4
	Veliki Alan 2			Senj 4	
3.	Žminj 1	Ž1+Ž2+Ž3	14.	Brod Moravice 1	BM1+BM2
	Žminj 2			Brod Moravice 2	
4.	Buje 1	BU1+BU2	15.	Krasno 1	KR1+KR
	Buje 2			Krasno 2	
5.	Buje 3	BU3+BU4	16.	Sošice 1	SO1+SO2
	Buje 4			Sošice 2	
6.	Dilj 1	D1+D2	17.	Mali Alan 1	MA1+MA2
	Dilj 2			Mali Alan 2	
7.	Dilj 2 1	D21+D22	18.	Škrupeti 1	Š1+Š2+Š3
	Dilj 2 2			Škrupeti 2	
8.	Otočac 1	O1+O2	19.	Vela Draga 1	VD1+VD2
	Otočac 2			Vela Draga 2	
9.	Savudrija 1	SA1+SA2	20.	Kaštelir Labinci 1	KL1+KL2
	Savudrija 2			Kaštelir Labinci 2	
10.	Klek 1	K1+K2	21.	Kaštelir Labinci 3	KL3+KL4
	Klek 2			Kaštelir Labinci 4	
11.	Veliki Risnjak 1	VR1+VR2			
	Veliki Risnjak 2				

3.2 Metode rada

Svi uzorci su izvagani na tehničkoj vagi i njihova masa iznosila je od 10,3 do 26,9 grama. Uzorci su se nalazili u označenim plastičnim čašicama s poklopcem koje su bile spremljene u plastičnu vrećicu s patentnim zatvaračem. Kako bi se provedeli analitički postupci uzorci su zbog nedovoljne mase početnih uzoraka spojeni u 21 uzorak na temelju istih lokaliteta na kojima su bobice ubrane. U tablici 4 navedeni su nazivi početnih uzoraka i oznake uzoraka koji su se analizirali, kao što je B1+B2, odnosno, to su dva uzorka s lokaliteta Brinje koja su zbog provođenja analitičkih postupaka analizirani kao jedan uzorak. Broj uzoraka razlikuje se od lokaliteta do lokaliteta, na nekim lokalitetima prikupljena su samo dva uzorka, no na nekima tri ili četiri pa tako s lokaliteta Buje imamo četiri početna uzorka koja su se u konačnici analizirala kao dva pod nazivima BU1+BU2 i BU3+BU4.

Kako bi se mogli provesti analitički postupci određivanja kemijskog sastava, uzorak je homogeniziran sjeckalicom. Homogenizirani uzorak prenosio se pomoću metalne špatule u sterilne, plastične čaše s poklopcem. Sve čaše su bile označene i na njima je pisao naziv uzorka. Nakon homogeniziranja svakog uzorka sjeckalica i plastična zapremna posuda sjeckalice temeljito su očišćene kako bi se spriječilo miješanje različitih uzoraka i dobivanje pogrešnih rezultata kemijske analize. Svi uzorci čuvali su se u zamrzivaču do vremena provođenja analitičkih metoda. Na dane prije provođenja pokusa uzorci su se izvadili iz zamrzivača i čuvali u hladnjaku (slika 5), na dan pokusa izvađeni su iz hladnjaka kako bi se zagrijali do sobne temperature.



Slika 5. Homogenizirani uzorci u sterilnim plastičnim čašicama u hladnjaku (vlastita fotografija)

3.3 Određivanje udjela vode

Voda utječe na fizikalna, kemijska i nutritivna svojstva, uvijek je prisutna u hrani. Udio suhe tvari i vlage (vode) važan je čimbenik koji određuje kakvoću prehrambenog proizvoda tijekom svih proizvodnih procesa, od berbe do konačnog proizvoda. Udio vode može se odrediti fizikalnim ili kemijskim metodama. Udio vode određen je indirektnom fizikalnom metodom sušenja koje traje nekoliko sati do konstantne mase. Ova indirektna fizikalna metoda najčešće je korištena metoda određivanja udjela vode, a temelji se na eliminiranju vode sušenjem pri određenoj povišenoj temperaturi u zračnoj sušnici (Hruškar i Vahčić, 1999; Nielsen, 2010.).

Princip

Indirektna metoda određivanja udjela vode temelji se na principu sušenja uzorka na određenoj temperaturi (105°C) te u vremenskom periodu koji je potreban da uzastopnim mjerenjima masa osušenog uzorka bude konstantna. Ova metoda temelji se na uklanjanju vode iz malih količina uzorka evaporacijom. Vaganjem uzorka prije i nakon sušenja dobiva se željena informacija o udjelu suhe tvari i vlage (Hruškar i Vahčić, 1999; Nielsen, 2010; AOAC 925.40, 2000).

Posude i uređaji:

- zračna sušnica, tip ST-01/02, Instrumentaria, Zagreb
- analitička vaga, tip 2615, Tehtnica, Železniki
- aluminijska zdjelica s poklopcem
- metalna žlica
- eksikator
- sitno zrnast kvarcni pijesak (oprani i žareni)

Postupak

Prvotno su pripremljene aluminijske posudice s poklopcem, u njih je dodano pola žličice kvarcnog pijeska i stakleni štapić koji se koriste kako bi uzorak bio što ravnomjernije raspoređen za sušenje. Aluminijske posudice su označene kako ne bi došlo do miješanja uzoraka. Aluminijske posudice s kvarcnim pijeskom i štapićem osušene su na temperaturi od

105 °C u vremenskom periodu od 30 min, zatim ohlađene u eksikatoru i izvagane. U označene aluminijske posudice poznate mase na analitičkoj vagi izvagano je 2 g prethodno odmrznutog i homogeniziranog uzorka borovice. Uzorci su pomoću štapića homogenizirani i izmiješani s kvarcnim pijeskom. Sušenje je provedeno u zračnoj sušnici u trajanju od 4 h na temperaturi od 105 °C (slika 6.). Nakon sušenja aluminijske posudice s uzorkom prebačene su u eksikator kako bi se ohladile na sobnu temperaturu. Ohlađene posudice izvagane su na analitičkoj vagi, a udio vode je izračunat prema navedenoj formuli. Ostatak borovica predstavlja suhu tvar, a gubitak je udio vode u borovicama.



Slika 6. Sušenje uzorka u zračnoj sušnici (vlastita fotografija)

Račun

$$\%vode = \frac{m_2 - m_3}{m_2 - m_1} \times 100 \quad [1]$$

Pri čemu je:

m₁ masa prazne osušene aluminijske posudice (g)

m₂ masa aluminijske posudice s uzorkom prije sušenja (g)

m₃ masa aluminijske posudice s uzorkom nakon sušenja (g)

$$\% suhe tvari = 100 - \%vode \quad [2]$$

3.4 Određivanje udjela mineralnog ostatka (pepela)

Za određivanje udjela mineralnog ostatka korištena je metoda spaljivanja u mufolnoj peći. Prilikom spaljivanja uzorka voda i hlapljive tvari isparavaju, a organske tvari izgaraju. Tako se ukupni mineralni ostatak može odrediti kao udio pepela koji preostaje nakon što je zapaljena sva organska tvar. Preostali pepeo nakon spaljivanja predstavlja preostali anorganski dio. Određivanje pepela je bitan korak u analizi različitih prehrambenih proizvoda, dobiveni pepeo kasnije se koristi kako bi se odredila prisutnost pojedinih mineralnih tvari. Određeni prehrambeni proizvodi bogati su mineralnim tvarima pa je određivanje udjela pepela iznimno bitan korak u određivanju kvalitete tih proizvoda (AOAC 925.35, 2000; Nielsen, 2010).

Princip

Uzorak se karbonizira na plameniku, mineralizira suhim putem u mufolnoj peći pri određenoj temperaturi do postizanja jednolično svijetlo sivog pepela ili pepela konstantne mase (AOAC 925.35, 2000).

Reagensi:

- destilirana voda

Posude i uređaji:

- zračna sušnica, tip ST-01/02, Instrumentaria, Zagreb
- analitička vaga, tip 2615, Tehtnica, Železniki
- mufolna peć za žarenje, tip Heraeus KR-170, W.C. Heraeus GmbH, Hanau
- porculanska zdjelica
- metalna žlica
- plamenik
- eksikator

Postupak

U prethodnu označenu, ožarenu, u eksikatoru ohlađenu porculansku zdjelicu koja je izvagana, odvagano je 2 g usitnjenog i homogeniziranog uzorka. Uzorak u porculanskoj zdjelici se zagrijavao na plameniku dok nije potpuno pougljenio. Nakon pougljenja, zdjelica je prenesena u mufolnu peć koja je bila zagrijana na 550 °C. Uzorak je ostavljen u mufolnoj peći dok se nije postigao jednolični sivi pepeo bez crnih čestica ili dok se nije postigao pepeo konstante mase. Ukoliko je mineralni ostatak tamne boje navlažio se malom količinom destilirane vode, osušio se u sušnici te se nastavio proces mineralizacije.

Nakon spaljivanja (mineralizacije) porculanska zdjelica s pepelom prenesena je u eksikator na hlađenje do sobne temperature te je zatim izvagana na analitičkoj vagi.

Račun

$$\% \text{ pepela} = \frac{m_3 - m_1}{m_2 - m_1} \times 100 \quad [3]$$

Pri čemu je:

m₁ masa prazne osušene prazne porculanske zdjelice (g)

m₂ masa porculanske zdjelice i uzorka prije spaljivanja (g)

m₃ masa porculanske zdjelice i pepela (g)

3.5 Određivanje udjela ukupnih proteina Kjeldahlovim postupkom

Proteini su vrlo složena skupina spojeva, sastoje se od vodika, dušika, ugljika, kisika i sumpora.

Određivanje ukupnog udjela proteina koristi se za određivanje nutritivne vrijednosti namirnica, kako bi se ispitala funkcionalna svojstva i za određivanje biološke aktivnosti (enzimi, inhibitori enzima).

Dušik je najistaknutiji element u proteinima, pa se njihov udio u namirnicama određuje se većinom indirektno iz udjela dušika. Jedan od analitičkih postupaka je Kjeldahlov postupak. Kjeldahlov postupak jedan je od najprimjenjivijih postupaka određivanja dušika i proteina pri čemu se koristi ili ne koristi Kjeltceov sustav. Kjeldahlov postupak služi kako bi se odredio dušik u $-NH$ skupinama prisutan u hrani poput amido, amino i proteinskog dušika. Rezultat analize Kjeldahlovim postupkom je sadržaj sirovih proteina u hrani (AOAC 992.15, 2000, Nielsen, 2010).

Princip

Kjeldahlov postupak podijeljen je u nekoliko važnih koraka, sagorijevanje, neutralizacija i destilacija, titracija i računanje. Organske tvari iz uzorka razore se zagrijavanjem sa sumpornom kiselinom uz dodatak katalizatora $CuSO_4 \times 5H_2O$ i K_2SO_4 koji povisuje vrelište sumpornoj kiselinu. Zagrijavanjem se oslobađa proteinski i neproteinski dušik, osim onog dušika koji je vezan na nitrate i nitrite. Neproteinski dušik zaostaje u obliku amonijevih soli, amonijevog sulfata. Natrijev hidroksid dodaje se kako bi se oslobodio amonijak iz amonijeva sulfata. Amonijak se predestilira u odmjereni volumen kiseline poznate koncentracije, a višak kiseline se retitrira lužinom NaOH (AOAC 992.15, 2000).

Reagensi:

- sumporna kiselina, 95 %-tna (H_2SO_4)
- Kjeldahlove tablete
- natrijev hidroksid, 40 %-tni (NaOH)
- borna kiselina, 4 %-tna
- klorovodična kiselina, 0,1 mol/L (HCl)

- vodikov peroksid, 30 %-tni (H_2O_2)

Posude i uređaji:

- analitička vaga, tip 2615, Tehtnica, Železniki
- metalna žlica
- aluminijska lađica
- pinceta
- kiveta
- Erlenmeyerova tikvica
- pipeta
- Floss Kjeltec 8100
- bireta

Postupak

Odvagan je 1 gram prethodno homogeniziranog uzorka. Uzorak je prebačen u kivetu od 500 mL pomoću aluminijske lađice i pincete tako da je grlo kivete ostalo čisto. Zatim se izvagala lađica zbog zaostalog uzorka na lađici. U kivetu je odpipetirano 10 mL koncentrirane sumporne kiseline, dodana je Kjeldalova tableta i 5 mL 30 postotnog vodikovog peroksida. Kiveta je protresena kako bi se uzorak ravnomjerno pomiješao sa kiselinom. Kiveta zatim se lagano zagrijavala u bloku za spaljivanje. Nakon što se reakcija u kivetu smirila, grijanje kivete je pojačano na veću temperaturu. Kada je zaostala plavo-zelena tekućina bez neizgorelih crnih komada uzorka spaljivanje je završeno te su kivete prebačene na hlađenje. Nakon hlađenja sadržaja u kivetu, provedena je destilacija u sustavu Floss Kjeltec 8100. Prije provođenja destilacije u Kjeltecu u Erlenmayerovu tikvicu otpipetirano je 25 mL borne kiseline te se tikvica zatim postavila na postolje destilacijske jedinice, a kiveta se postavila na postolje za kivetu. Uređaj je stavljen na program koji dodaje 80 mL vode i 50 mL lužine. Postupak destilacije ovijao se na postavljenom programu u Floss Kjeltec 8100 (slika 7). Nakon destilacije, sadržaj Erlenmayerove tikvice titriran je s 0,1 M HCl-a do pojave ružičaste boje. Postotak ukupnog dušika izračunat je iz volumena utrošene 0,1 M klorovodične kiseline koja je utrošena za titraciju uzorka i titraciju slijepe probe.

Račun

$$\% \text{ ukupnog } N = \frac{(T-B) \times N \times 14,007 \times 100}{m} \quad [4]$$

Pri čemu je

T – volumen HCl utrošen za titraciju uzorka (mL)

B – volumen HCl utrošen za titraciju slijepa probe (mL)

N – molalitet kiseline

m – masa uzorka (mg)

6,25 – faktor za preračunavanje postotka dušika u proteine

$$\% \text{ proteina} = \%N \times 6,25 \quad [5]$$



Slika 7. Određivanje udjela proteina Kjeldahlovim postupkom, postupak destilacije u Floss Kjeltec 8100 (vlastita fotografija)

3.6 Određivanje udjela masti metodom po Soxheltu

U skupinu masti pripadaju spojevi koji su smjesa estera viših masnih kiselina s glicerolom. Lipidi su uglavnom skupina tvari koja su topljiva u organskim otapalima, a slabo topljiva ili netopljiva u vodi. Nalazimo ih u namirnicama životinjskog i biljnog podrijetla. Ukoliko su pri sobnoj temperaturi tekući, nazivamo ih uljima, a ako su na sobnoj temperaturi u krutom stanju, onda ih nazivamo mastima. Prehrambeni proizvodi sadrže mnoge vrste lipida, a najvažniji od njih su triacilgliceroli i fosfolipidi. Određivanje udjela masti iznimno je bitno kako bi se osiguralo da proizvodi zadovoljavaju određene specifikacije i standarde kvalitete. Analiza sadržaja masti važna je za određivanje nutritivne vrijednosti, ali i kod kontrole kvalitete i funkcionalnosti proizvoda.

Netopljivost masti u vodi bitno je analitičko svojstvo koje se koristi kao osnova za odvajanje masti od vode, ugljikohidrata i proteina pa se kao jedna od metoda često koristi ekstrakcija masti organskim otapalima (AOAC 989.05, 2000, Nielsen, 2010).

Princip

Metoda određivanja masti po Soxhletu je višekratna kontinuirana ekstrakcija masti organskim otapalom u posebnoj Soxhletovoj aparaturi (AOAC 989.05, 2000).

Reagensi:

- medicinski benzin

Posude i uređaji:

- papirnata čahura
- vata
- staklene kuglice
- stakleni lijevak
- eskikator
- Soxhletova aparatura

- analitička vaga, tip 2615, Tehtnica, Železniki
- zračna sušnica, tip ST-01/02, Instrumentaria, Zagreb
- pješčana kupelj

Postupak

Na analitičkoj vagi izvagano je 10 g homogeniziranog uzorka borovice u prethodno izvaganu, osušenu i odmašćenu papirnatu čahuru. Čahura je poklopljena sa slojem odmašćene i suhe vate te je čahura s uzorkom stavljena u zračnu sušnicu. Čahura se sušila na temperaturi od 105 °C, 1 h. Nakon sušenja, čahura je stavljena u srednji dio Soxhletove aparature (ekstraktor). Ekstraktor s čahurom spojen je s hladilom i tikvicom. Tikvica se prije spajanja na aparaturu sušila s nekoliko staklenih kuglica, a nakon sušenja tikvica je izvagana. Uz pomoć lijevka kroz hladilo se ulilo toliko otapala (benzina) da se ekstraktor napunio i pomoću kapilarne cjevčice se ispraznio u tikvicu. Nakon toga ponovno je dodan volumen otapala tako da se napunilo do otprilike polovice ekstraktora. Ukupni volumen dodanog benzina nije prelazio 3/4 volumena tikvice. Kroz hladilo je pušten jaki mlaz vode te je započeto sa zagrijavanjem. Zagrijavanje je provedeno u pješčanoj kupelji (slika 8). Ekstrakcija je trajala 5 h, a prekinuta u trenu kada se otapalo iz ekstraktora prelilo u tikvicu, a čahura je ostala u ekstraktoru bez otapala. Aparatura je rastavljena, a čahura s uzorkom se izvadila te se potom aparatura ponovno sastavila kako bi se otapalo predestiliralo u prazan ekstraktor iz kojeg se nakon završene destilacije odlilo. Tikvica koja je sadržavala ekstrakt sušena je pri 100-101 °C do konstantne mase, nakon toga je ohlađena u eksikatoru i izvagana na analitičkoj vagi.



Slika 8. Određivanje udjela masti metodom po Soxhletu, postupak ekstrakcije (vlastita fotografija)

Račun

$$\% \text{ masti} = \frac{b-a}{m} \times 100 \quad [6]$$

Pri čemu je:

a – masa prazne tikvice (g)

b – masa tikvice i ekstrahirane masti (g)

m – masa uzorka

3.7 Određivanje udjela reducirajućih šećera

Ugljikohidrati čine veliku skupinu spojeva koje dijelimo u tri skupine na temelju strukture i broja ugljikovih atoma: monosaharidi, disaharidi, polisaharidi. Monosaharidi se ne mogu hidrolizirati u jednostavnije spojeve, disaharidi se mogu hidrolizirati na dvije molekule monosaharida, a hidrolizom polisaharida dobiva se više molekula monosaharida.

Ugljikohidrati imaju sposobnost redukcije metala iz alkalnih otopina njihovih soli, to svojstvo proizlazi iz prisutnosti slobodne ketonske ili aldehidne skupine ugljikohidrata. Fehlingova otopina, alkalna otopina bakrova (II) sulfata pentahidrata i kalijeva natrijeva tartarata tetrahidrata, služi kao reagens za određivanje ugljikohidrata na temelju njihove redukcijske sposobnosti. Izravno reducirajući šećeri reduciraju otopinu Fehling izravno u bakrov (I) oksid koji se potom taloži, nereducirajući disaharidi se prvo hidroliziraju na reducirajuće monosaharide kiselinom ili enzimima pa se potom određuju pomoću otopine Fehling.

Ugljikohidrati su važni izvor energije, za održavanje teksture, utječu na fiziološke procese, pridonose svojstvima kao što su viskoznost, stabilnost emulzija i pjene, kapacitet zadržavanja vode, okus, aroma i niz drugih svojstava (AOAC 925.35, 2000; Nielsen, 2010).

Princip

Reducirajući šećeri, tj. prirodni invert, glukoza i fruktoza određuju se na osnovi reducirajućih svojstva koje ti šećeri imaju. Pod određenim uvjetima reduciraju Fehlingovu otopinu, odnosno bakrov sulfat (CuSO_4) u bakar (I) oksid (Cu_2SO) pri određenim uvjetima. Bakrov (I) oksid se odvaja te se može odrediti gravimetrijski (vaganjem) ili titracijski, a potom se iz empirijskih tablica očitaju pripadajući udjeli šećera (AOAC 925.35, 2000).

Posude i uređaji:

- tehnička vaga, tip 1111, Tehtnica, Železniki
- analitička vaga, tip 2615, Tehtnica, Železniki
- vodena kupelj
- zračna sušnica, tip ST-01/02, Instrumentaria, Zagreb
- laboratorijske čaše 100 mL i 250 mL
- odmjerne tikvice od 100 mL i 200 mL

- pipete od 2 mL, 5 mL, 10 mL, 25 mL i 50 mL
- Erlenmeyerova tikvica od 100 mL i 300 mL
- plamenik
- azbestna mrežica
- filter papir
- stakleni lijevak
- laboratorijska špatula
- satno staklo
- stakleni štapić
- porculanski filter (poroznosti B4-1P1)
- odsisna boca
- sisaljka uz vodeni mlaz
- eksikator

Reagensi:

- olovo acetat, zasićena otopina
- natrij oksalat ($\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4$)
- klorovodična kiselina , 20 %-tna (HCl)
- natrij hidroksid, 30 %-tni (NaOH)
- fenolftalein
- Fehling I otopina
- Fehling II otopina
- destilirana voda

Postupak

U čašu od 250 mL na tehničkoj vagi odvagano je 10 g uzorka. U čašu je uliveno 100 mL destilirane vode, čaša je stavljena na grijanje na plamenik te je zagrijavana do vrenja uz povremeno miješanje. Proces zagrijavanja trajao je dok nije postignuta homogenost tekućine. Nakon toga uzorak iz čaše kvantitativno je preko lijevka bez filter papira prebačen u odmjernu tikvicu od 250 mL te je ohlađen pod pipom na sobnu temperaturu. Nakon hlađenja,

graduiranom pipetom dodano je 2 mL olovo acetata, sadržaj tikvice je promiješan i odmijerna tikvica je štrcaljkom dopunjena vodom do oznake. Odmijerna tikvica dobro je začepljena, promućkana te je sadržaj filtriran preko filter papira u Erlenmayerovu tikvicu, a prvih nekoliko mililitara filtrata je odbačeno. U dobiveni filtrat stavljeno je pola plastične žličice natrijevog oksalata kako bi se istaložio višak olova korišten u procesu bistrenja te je sadržaj tikvice ponovno filtriran kroz filter papir u novu Erlenmayerovu tikvicu, prvih nekoliko mililitara filtrata je odbačeno. Dobiveni filtrat je otopina za određivanje šećera. U odmjernu tikvicu od 100 mL trbušastom pipetom odpipetirano je 20 mL destilirane vode i 10 mL 20 % HCl-a. U odmjernu tikvicu potom je otpipetirano 25 mL otopine za određivanje šećera i odmijerna tikvica stavljena je u vodenu kupelj na 10 min na 60 °C na hidrolizu, prvih 3 minute sadržaj tikvice se mućkao u kupelji. Nakon isteka 10 min tikvica je izvađena iz vodene kupelji i ohlađena pod mlazom hladne vode na sobnu temperaturu, a sadržaj tikvice neturaliziran je sa 30 %-tnom otopinom natrijeva hidroksida uz indikator te je tikvica nakon neutralizacije dopunjena destiliranom vodom do oznake i dobro promućkana. U Erlenmayerovu tikvicu otpipetirano je 25 mL otopine Fehlinga I i 25 mL Fehlinga II, 25 mL destilirane vode i 25 mL neutralizirane otopine šećera. Tikvica je začepljena sa satnim stakalcem i stavljena na plamenik. Kada je sadržaj tikvice zavrio, držali smo ga u vrenju dvije minute, a nastali talog Cu₂O filtriran je preko prethodno osušenog, označenog i izvaganog porculanskog filtra uz pomoć odsisne boce i sisaljke uz vodeni mlaz. Porculanski filter s talogom sušio se u zračnoj sušnici pri 100 °C 30 minuta. Nakon sušenja, filter je izvađen iz sušnice i stavljen na hlađenje u eksikator, nakon hlađenja na sobnu temperaturu izvagan na analitičkoj vagi. Iz Hammondovih tablica očitani je udio invertnog šećera ekvivalentan izvavanoj masi Cu₂O (taloga).

Račun

$$\% \text{ šećera} = \frac{a \times 100}{b \times 1000} \quad [7]$$

Pri čemu je

a – očitani udio šećera iz Hammondovih tablica (mg)

b – masa uzorka u alikvotnom dijelu filtrata uzetom u konačni postupak (g)

3.8 Određivanje udjela celuloze Kürschnerovim i Hanakovim postupkom

Prehrambena vlakna uključuju ugljikohidrate koji se ne mogu probaviti i apsorbirati u tankom crijevu. Prehrambena vlakna dijelimo na topljiva ili netopljiva. Netopljiva vlakna uključuju celulozu, hemicelulozu i lignin (Mulero i sur., 2019; Gaćina, 2014).

Celuloza je glavi sastojak stjenki biljnih stanica, to je nerazgranati lanac, a sadrži do 15000 β -D-glukoze koja je u lancu povezana vodikovim vezama. Celulozu sadrže gljive, alge i više biljke, netopljiva je u vodi (Lovegrove i sur., 2015). U sastavu ljudskog probavnog sustava nema enzima koji je odgovoran za razgradnju celuloze pa ona ostaje neprobavljena. Celuloza nema kalorijsku vrijednost, no ima važnu ulogu u pravilnom funkcioniranju probavnog sustava za poticanje peristaltike, celuloza usporava apsorpciju glukoze u krvi te smanjuju serumski kolesterol (Dahl i Coffey i sur., 2006; Stewart, 2015; Nielsen, 2010). Određivanje masenog udjela celuloze u hrani bitno je kako bi se osigurala kvaliteta, istražila funkcionalnost i odredila nutritivna deklaracija proizvoda (Nielsen, 2010).

Princip: Uzorak se razara smjesom dušične i octene kiseline. Dušična kiselina oksidira i nitrira sve tvari osim celuloze, a ti razgradni produkti otapaju se u octenoj kiselini. Celuloza se zatim filtracijom odvaja, ispire, suši važe i određuje se njen maseni udio.

Reagensi:

- octena kiselina, 80 %-tna (CH_3COOH),
- dušična kiselina, koncentrirana, (HNO_3 , $\rho = 1,40 \text{ g/cm}^3$, p.a.)

Posude i uređaji:

- okrugla tikvica s ravnim dnom
- metalna žlica
- zračno hladilo
- analitička vaga, tip 2615, Tehtnica, Železniki
- zračna sušnica tip ST-01/02, Instrumentaria, Zagreb

- plamenik
- azbestna mrežica
- stakleni filter lončić (poroznost 1-G-3)
- odsisna boca
- sisaljka uz vodeni mlaz

Postupak

Na analitičkoj vagi u okruglu tikvicu s ravnim dnom izvagano je homogeniziranog 1 g uzorka. U tikvicu je odpipetirano 25 mL 80 %-tne octene kiseline i 2,5 mL koncentrirane dušične kiseline. Ako su se dijelci uzorka uhvatili za stjenke tikvice, sadržaj tikvice bio je promiješan. Tikvica s povratnim zračnim hladilom stavljena zagrijavana je na plameniku pola sata (slika 9). Nakon pola sata zagrijavanja, vrući sadržaj tikvice s ravnim dnom filtriran je kroz prethodno osušene i izvagane staklene filtere. Filteri su zatim isprani s nešto vrućeg reagensa octene i dušične kiseline, a poslije toga i vrućom vodom. Filtracija je provedena uz slabiji vakuum kako bi se spriječilo zatvaranje pora filtera. Filter s talogom zatim je osušen pri temperaturi 100-110 °C 1h, nakon sušenja je ohlađen u eksikatoru na sobnu temperaturu i izvaga na analitičkoj vagi.



Slika 9. Određivanje udjela celuloze Kürschnerovim i Hanakovim postupkom, zagrijavanje tikvice s povratnim zračnim hladilom (vlastita fotografija)

Račun

$$\% \text{ sirove celuloze} = \frac{a \times 100}{m} \quad [8]$$

Pri čemu je

a – masa sirove celuloze (g)

m – masa uzorka uzetog za analizu (g)

3.9 Statistička obrada podataka

Za svaku grupu uzoraka prikazane su dobivene vrijednosti, a pomoću programa Microsoft Excel izračunati su pokazatelji deskriptivne statistike, odnosno srednja vrijednost (prosjek), raspon, standardna devijacija i koeficijent varijabilnosti. Prikazana je najveća vrijednost (maksimum) te najmanja vrijednost masenog udjela (minimum). Uzorci unutar svake grupe (lokaliteta) međusobno su uspoređeni na temelju dobivenih vrijednosti za maseni udio svakog sastojka.

Analiza varijance, odnosno ANOVA, korištena je kao statistička metoda kako bi se testiralo postoji li statistički značajna razlika između aritmetičkih sredina populacija u koje smo grupirali analizirane uzorke, odnosno Istra, Lika, Gorski kotar i kontinentalni dio Hrvatske. Za obradu podataka korištena je *One-Way* ANOVA koja je napravljena u programu Microsoft Excel.

Prije odrade podataka potrebno je postaviti dvije hipoteze. Nultom hipotezom pretpostavlja se da su srednje vrijednosti svih populacija jednake, a drugom se hipotezom pretpostavlja da srednje vrijednosti svih populacija nisu jednake. Pri analizi varijance s jednim promjenjivim faktorom cilj je ispitati odnos varijabilnosti podataka unutar uzorka. Broj uzorka određen je samim brojem grupa, a odnos između opisanih varijabilnosti prikazuje *F*-omjer, u slučaju da je on statistički značajan, odbacuje se nulta hipoteza da se aritmetičke sredine između grupa značajno ne razlikuju. Takav rezultati analize govori nam da na promatranu slučajnu varijablu

Y određeni faktor ne djeluje značajno, no u tom slučaju se prihvaća druga hipoteza kojom se pretpostavlja da na promatranu slučajnu varijablu Y određeni faktor značajno djeluje.

Kako bi se mogla donijeti odluka o tome koja se hipoteza odbacuje, a koja prihvaća, uspoređuje se empirijska razina značajnosti, to jest, p -vrijednost i teorijska razina značajnosti α . Za teorijsku razinu značajnosti uzima se vrijednost 0,05 i ako je empirijska razina značajnosti veća od teorijske razine, $p > \alpha$, nulta hipoteza se prihvaća i zaključuje se da ne postoji statistički značajna razlika na razini značajnosti $\alpha = 0,05$. Ukoliko je $p < \alpha$ zaključuje se da postoji statistički značajna razlika i nulta hipoteza se ne prihvaća (Arnerić i Protrka, 2019).

4. REZULTATI I RASPRAVA

Cilj ovog rada bio je ispitati kemijski sastav plodova obične borovice. Uzorci su bili sakupljeni na različitim lokalitetima teritorija Republike Hrvatske te su podijeljeni prema područjima na kojima su ubrani. Uzorci su grupirani u četiri grupe, a to su Istra, Lika, Gorski kotar i kontinentalna Hrvatska, odnosno Slavonija i okolica Zagreba. Svaka grupa sastojala se od različitog broja prikupljenih uzoraka. Iz područja Istre analizirano je osam uzoraka, iz Like sedam, iz Gorskog kotara tri i tri uzorka iz područja Zagreba i Slavonije.

Laboratorijska analiza obuhvaćala je određivanje masenog udjela vode metodom sušenja, određivanje mineralnog ostatka (pepela) mineralizacijom, određivanje udjela masti Soxhletovim postupkom, određivanje udjela proteina Kjeldahlovim postupkom, određivanje udjela šećera gravimetrijskim postupkom i određivanje udjela celuloze Kürschnerovim i Hanakovim postupkom.

4.1 Rezultati analize uzoraka s područja Istre

S područja Istre ukupno je analizirano osam uzoraka, a to su Buje (B1+B2), Buje (B3+B4), Kaštelir Labinci (KL1+KL2), Kaštelir Labinci (KL3+KL4), Savudrija (SA1+SA2), Škropeti (Š1+Š2+Š3), Vela Draga (VD1+VD2), Žminj (Ž1+Ž2+Ž3). Na uzorcima Savudrija (SA1+SA2) i Vela Draga (VD1+VD2) nije utvrđen maseni udio šećera zbog nedostatne mase prikupljenih uzoraka.

Najznačajniji maseni udio u uzorcima borovice s područja Istre ima voda. U prosjeku maseni udio vode u uzorcima obične borovice je 30,10 % kao što je prikazano u tablici 5.

Uzorci obične borovice s područja Istre sadrže i značajan udio šećera, u prosjeku 26,73 %. Uzorak s lokaliteta Škropeti sadrži najveći udio šećera, a najmanji maseni udio šećera ima uzorak Buje (B1+B2) (slika 14).

Prosječan maseni udio celuloze u ovih osam uzoraka bio je 13,60 %, maseni udio masti u uzorcima u prosjeku je bio 8,20 a najmanji maseni udio u uzorcima borovice imaju proteini i pepeo. Prosječan maseni udio proteina je 2,66 %, a prosječan maseni udio pepela je 2,45 %.

Jednostavna mjera disperzije pokazuje da najveći raspon varijacije ima voda, a najmanji raspon ima pepeo. Voda ima najveće odstupanje od prosjeka dok najmanje odstupanje od prosjeka imaju šećeri, zatim slijedi pepeo, masti, celuloza i proteini.

Tablica 5. Rezultati ispitivanja kemijskog sastava obične borovice s područja Istre

KEMIJSKI SASTAV OBIČNE BOROVICE, PODRUČJE ISTRA

	voda (%)	pepeo (%)	masti (%)	proteini (%)	šećeri (%)	celuloza (%)
PROSJEK	30,10	2,45	8,20	2,66	26,73	13,60
NAJVEĆA VRIJEDNOST	46,06	3,38	10,72	3,99	32,89	21,39
NAJMANJA VRIJEDNOST	18,07	2,06	6,25	2,17	19,10	11,03
RASPON	27,99	1,32	4,47	1,82	13,79	10,36
STANDARDNA DEVIJACIJA	8,07	0,42	1,68	0,66	4,43	3,26
KOEFICIJENT VARIJACIJE	26,82	17,10	20,48	24,80	16,56	23,96

4.2 Rezultati analize uzoraka s područja Like

S područja Like prikupljeno je ukupno šesnaest uzoraka sa 7 različitih lokaliteta, a ti lokaliteti i uzorci su:

1. Brinje (B1+B2),
2. Krasno (KR1+KR2),
3. Mali Alan (MA1+MA2),
4. Otočac (O1+O2),
5. Senj (SE1+SE2),
6. Senj (SE3+SE4) i
7. Veliki Alan (VA1+VA2).

Na uzorcima Mali Alan (MA1+MA2) i Veliki Alan (VA1+VA2) nije provedeno utvrđivanje masenog udjela masti jer masa prikupljenih uzoraka nije bila dovoljna za provođenje navedene metode.

Voda ima najznačajniji maseni udio u uzorcima s područja Like i prosjek masenog udjela vode u ovim uzorcima iznosi 35,18 % (tablica 6). Najveća vrijednost masenog udjela ovih uzoraka je u uzorku s lokaliteta Brinje (B1+B2), a najmanja vrijednost masenog udjela vode je u uzorku Veliki Alan (VA1+VA2).

Analizirani uzorci sadrže značajan maseni udio šećera koji je u prosjeku 19,45 %. Celuloza je sljedeća po značajnosti u masenom udjelu u ovim uzorcima s prosjekom od 12,26 %, u prosjeku uzorci iz Like sadrže 2,43 % proteina.

Na temelju analize vidljivo je da najmanji raspon varijacije ima pepeo, a najveći raspon varijacije imaju šećeri. Koeficijent varijacije pokazuje da voda ima najmanje odstupanje od prosjeka, a najveći koeficijent varijacije imaju šećeri.

Tablica 6. Rezultati ispitivanja kemijskog sastava obične borovice s područja Like

KEMIJSKI SASTAV OBIČNE BOROVICE, PODRUČJE LIKA

	voda (%)	pepeo (%)	masti (%)	proteini (%)	šećeri (%)	celuloza (%)
PROSJEK	35,18	2,17	7,59	2,43	19,45	12,26
NAJVEĆA VRIJEDNOST	40,31	2,86	9,11	3,57	26,32	16,18
NAJMANJA VRIJEDNOST	30,69	1,82	6,55	1,85	6,95	10,03
RASPON	9,62	1,04	2,56	1,72	19,37	6,15
STANDARDNA DEVIJACIJA	3,63	0,40	1,06	0,75	7,43	2,42
KOEFICIJENT VARIJACIJE	10,32	18,41	13,93	30,87	38,21	19,77

4.3 Rezultati analize uzoraka s područja Gorskog kotara

Na području Gorskog kotara prikupljeno je ukupno šest uzoraka koji su bili s tri različita lokaliteta: Brod Moravice (BM1+BM2), Klek (K1+K2) i Veliki Risnjak (VR1+VR2).

Na uzorcima iz Gorskog kotara nije provedena analiza masenog udjela masti, a na uzorku Brod Moravice nije provedena ni analiza masenog udjela šećera i celuloze zbog nedovoljne mase sakupljenih uzoraka.

Prema analizama koje su provedene, najveći maseni udio uvih uzoraka pripada masenom udjelu vode (tablica 7). Prosječni maseni udio šećera u ovim uzorcima bio je 17,70 %.

Prosjek ostalih masenih udjela je:

- celuloza 12,18 %,
- proteini 3,33 %,
- pepeo 3,00 %.

Jednostavna mjera disperzije prikazuje da najmanji raspon varijacije imaju šećeri, a najveći raspon varijacije ima voda. Koeficijent varijacije, relativna mjera disperzije, pokazuje da šećeri imaju najmanje odstupanje od prosjeka, a zatim slijedi celuloza pa proteini, pepeo, dok je najveće odstupanje od prosjeka dobiveno kod vode.

Tablica 7. Rezultati ispitivanja kemijskog sastava obične borovice s područja Gorskog kotara

KEMIJSKI SASTAV OBIČNE BOROVICE, PODRUČJE GORSKI KOTAR

	voda (%)	pepeo (%)	proteini (%)	šećeri (%)	celuloza (%)
PROSJEK	26,77	3,00	3,33	17,70	12,18
NAJVEĆA VRIJEDNOST	37,51	4,12	4,25	17,88	13,58
NAJMANJA VRIJEDNOST	12,74	2,03	2,64	17,51	10,77
RASPON	24,77	2,09	1,61	0,37	2,81
STANDARDNA DEVIJACIJA	12,71	1,05	0,83	0,26	1,99
KOEFICIJENT VARIJACIJE	47,47	35,10	24,90	1,48	16,32

4.4 Rezultati analize uzoraka s područja kontinentalne Hrvatske

Na području kontinentalne Hrvatske, odnosno Slavonije i na području Zagrebačke županije, uzorci su prikupljeni na tri lokacije.

Na području Slavonije skupljena su dva seta uzorka s područja Dilja, a to su:

1. Dilj (D1+D2) i
2. Dilj 2. (D21+D22).

U Zagrebačkoj županiji uzorci su sakupljeni u Sošicama koji su analizirani kao uzorak Sošice (SO1+SO2).

Šećeri u ovim uzorcima zauzimaju najveći prosječni udio, prosječni udio šećera u ovim uzorcima je 30,30 % (tablica 8).

Prosječni udio vode je 24,11 %. Celuloza je sljedeća po značajnosti u masenom udjelu u ovim uzorcima s prosjekom od 11,96%. U prosjeku maseni udio masti u uzorcima je 9,30 %. Prosječni maseni udio pepela u ova tri uzorka je 2,57 %, a prosječni maseni udio proteina je 2,33 %.

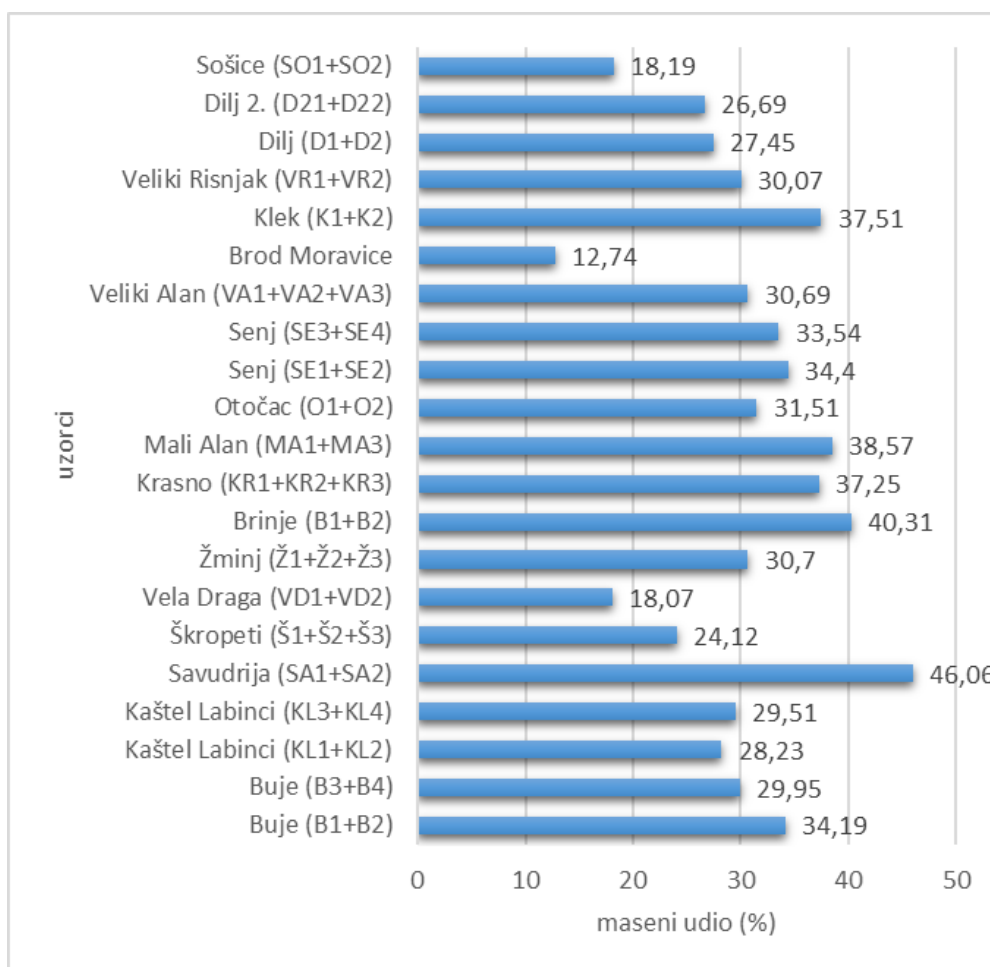
Na temelju analize, vidljivo je da najmanji raspon varijacije ima pepeo, a najveći raspon varijacije ima voda. Koeficijent varijacije pokazuje da celuloza ima najmanje odstupanje od prosjeka, a najveće odstupanje ima voda.

Tablica 8. Rezultati ispitivanja kemijskog sastava obične borovice s područja Kontinentalne Hrvatske

KEMIJSKI SASTAV OBIČNE BOROVICE, PODRUČJE KONTINENTALNA HRVATSKA

	voda (%)	pepeo (%)	masti (%)	proteini (%)	šećeri (%)	celuloza (%)
PROSJEK	24,11	2,57	9,30	2,33	30,30	11,96
NAJVEĆA VRIJEDNOST	27,45	2,77	11,01	2,75	35,43	12,65
NAJMANJA VRIJEDNOST	18,19	2,44	7,50	2,12	27,22	11,25
RASPON	9,26	0,33	3,51	0,63	8,21	1,40
STANDARDNA DEVIJACIJA	5,14	0,18	1,76	0,36	4,47	0,70
KOEFICIJENT VARIJACIJE	21,32	6,84	18,89	15,61	14,77	5,85

4.5 Rezultati za maseni udio vode



Slika 10. Rezultati ispitivanja masenog udjela vode, svi uzorci

Najveći maseni udio vode je u uzorku iz Istre, Savudrija (SA1+SA2) i on iznosi 46,06%. Uzorak koji ima najmanji maseni udio vode je uzorak Brod Moravice (BM1+BM2) iz Gorskog kotara, kao što je vidljivo u slici 10, maseni udio vode u tom uzorku je 12,74%.

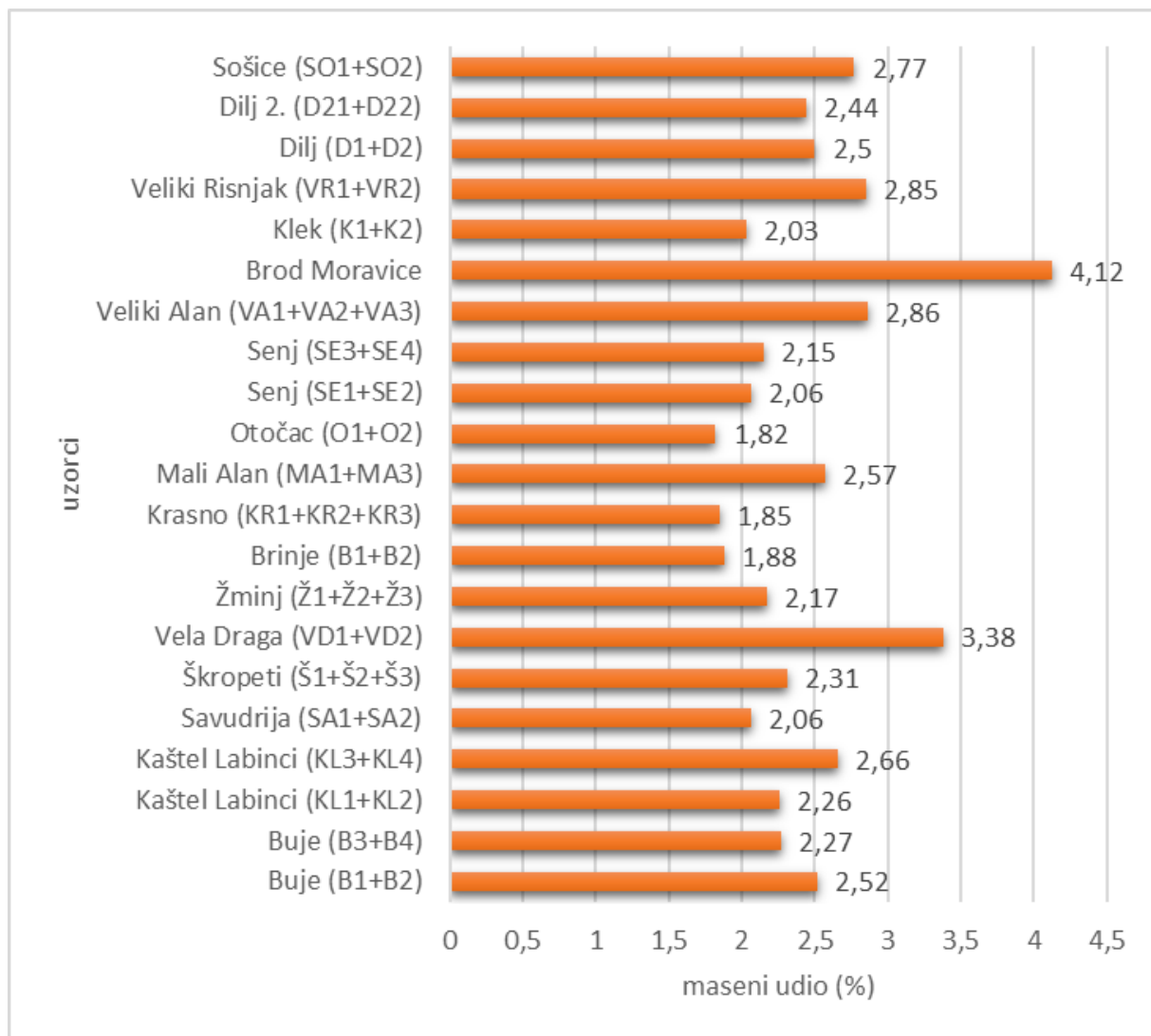
Tablica 9. Analiza varijance podataka o udjelu vode u svim uzorcima

ANOVA						
Značajka	Izvor varijacije	SS*	df*	MS*	F*	p-value
Voda (%)	Između lokaliteta	700,2024	3	233,4008	0,56999	0,638
	Unutar lokaliteta	15560,3	38	409,4815		
	Ostatak	16260,5	41			

*SS-suma kvadrata odstupanja, df-stupnjevi slobode, MS-prosječna varijacija, F-Fisherov kvocijent

U tablici 9 prikazana je analiza varijance podataka o udjelu vode u svim uzorcima. U tablici možemo vidjeti da je p -vrijednost (p -value) za udjel vode u uzorcima 0,638, odnosno $p > 0,05$. Nulta hipoteza se iz tog razloga ne odbacuje te se može zaključiti da ne postoji statistički značajna razlika između lokaliteta po udjelu vode.

2.6 Rezultati za maseni udio pepela



Slika 11. Rezultati ispitivanja masenog udjela pepela, svi uzorci

Maseni udio pepela svih uzoraka prikazan je na slici 11. Na slici je vidljivo da najveći maseni udio ima uzorak Brod Moravice (BM1+BM2) i on iznosi 4,12%. Najmanji udio pepela ima uzorak iz Like, a to je Otočac sa 1,82% masenog udjela pepela.

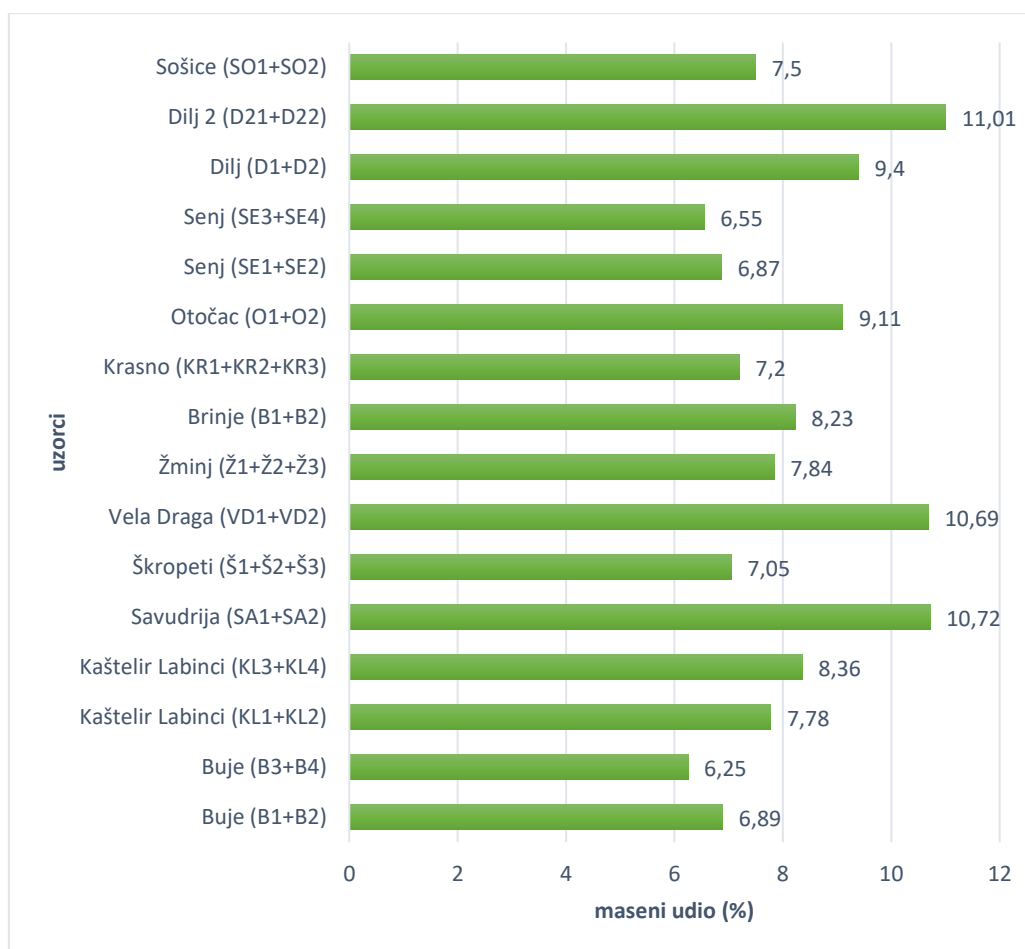
Tablica 10. Analiza varijance podataka o udjelu pepela u svim uzorcima

ANOVA						
Značajka	Izvor varijacije	SS*	df*	MS*	F*	<i>p-value</i>
Pepeo (%)	Između lokaliteta	1467,048	3	489,0159	0,51335	0,676
	Unutar lokaliteta	36198,86	38	952,6015		
	Ostatak	37665,9	41			

*SS-suma kvadrata odstupanja, df-stupnjevi slobode, MS-prosječna varijacija, F-Fisherov kvocijent

U tablici 10 možemo vidjeti da je *p*-vrijednost za podatke o udjelu pepela u svim analiziranim uzorcima 0,676. Razina značajnosti je $\alpha = 0,05$, a dobiveni $p > 0,05$ pa se nulta hipoteza prihvaća i može se zaključiti da ne postoji statistički značajna razlika između lokaliteta prema udjelu pepela u analiziranim uzorcima.

2.7 Rezultati za maseni udio masti



Slika 12. Rezultati ispitivanja masenog udjela masti, svi uzorci

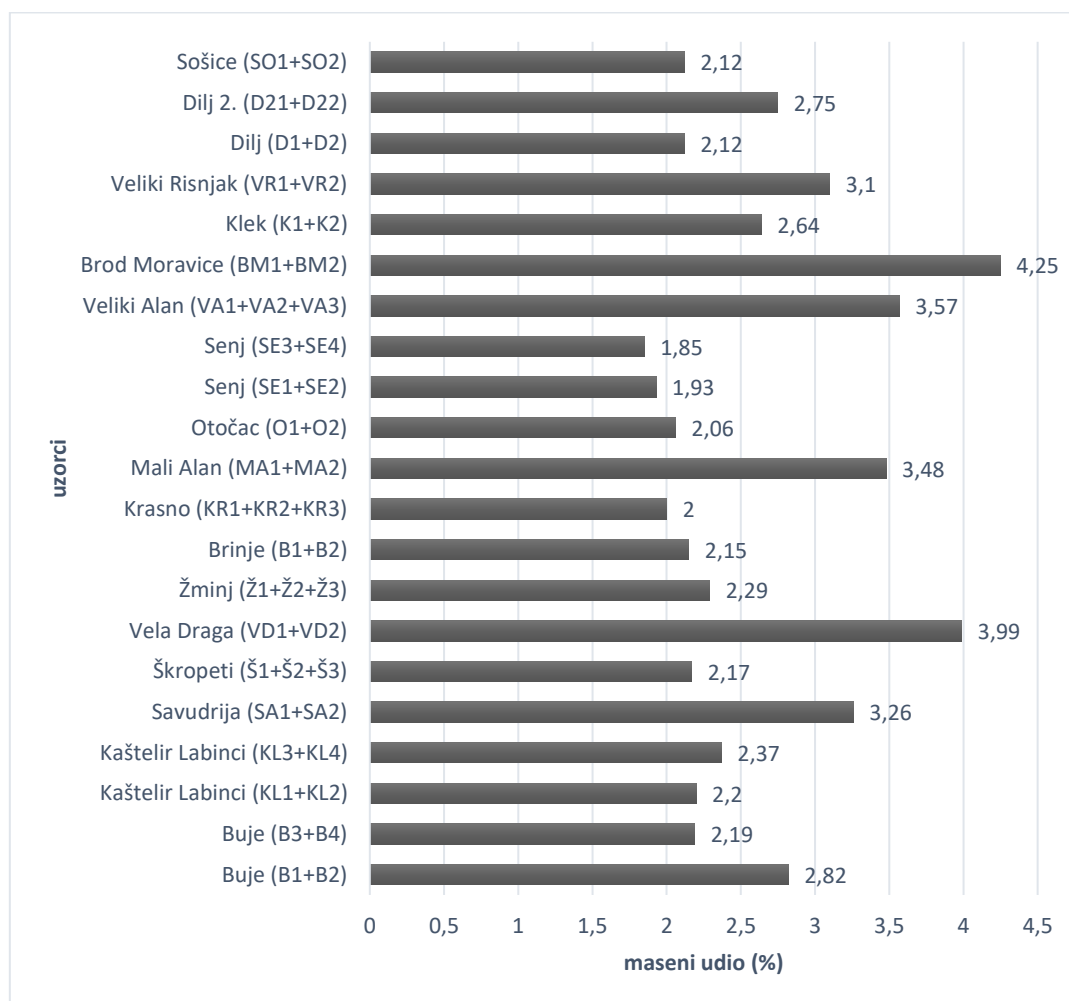
Analiza masenog udjela masti provedena je na samo 16 uzoraka, na slici 12 prikazani su maseni udjeli masti kod svih uzoraka. Od tih 16, najveći udio masti imao je uzorak Dilj 2, 11,01%. Najmanji maseni udio masti imao je uzorak Buje (B3+B4), 6,25%. Analizom svih dobivenih vrijednosti masenog udjela masti dobivena je *p*-vrijednost koja iznosi 0,166 (tablica 11). Na temelju dobivene *p*-vrijednosti može se zaključiti da ne postoji statistički značajna razlika između uzoraka, odnosno, da se nulta hipoteza ne odbacuje.

Tablica 11. Analiza varijance podataka o udjelu masti u svim uzorcima

ANOVA						
Značajka	Izvor varijacije	SS*	df*	MS*	F*	<i>p-value</i>
Proteini (%)	Između lokaliteta	3114,704	2	1557,3521	1,91376	0,166
	Unutar lokaliteta	23599,17	29			
	Ostatak	36713,88	31			

*SS-suma kvadrata odstupanja, df-stupnjevi slobode, MS-prosječna varijacija, F-Fisherov kvocijent

4.8 Rezultati za maseni udio proteina



Slika 13. Rezultati ispitivanja masenog udjela proteina, svi uzorci

Na slici 13. grafički su prikazani maseni udjeli proteina u svim uzorcima. Prosječan udio proteina je 2,63 %, a najveći udio proteina dobiven je u uzorku Brod Moravice (BM1+BM2) gdje je udio proteina 4,25 %. Najmanji udio proteina dobiven je u uzorku Senj (SE3+SE4) u kojem je udio proteina 1,85 %.

Tablica 12. Analiza varijance podataka o udjelu proteina u svim uzorcima

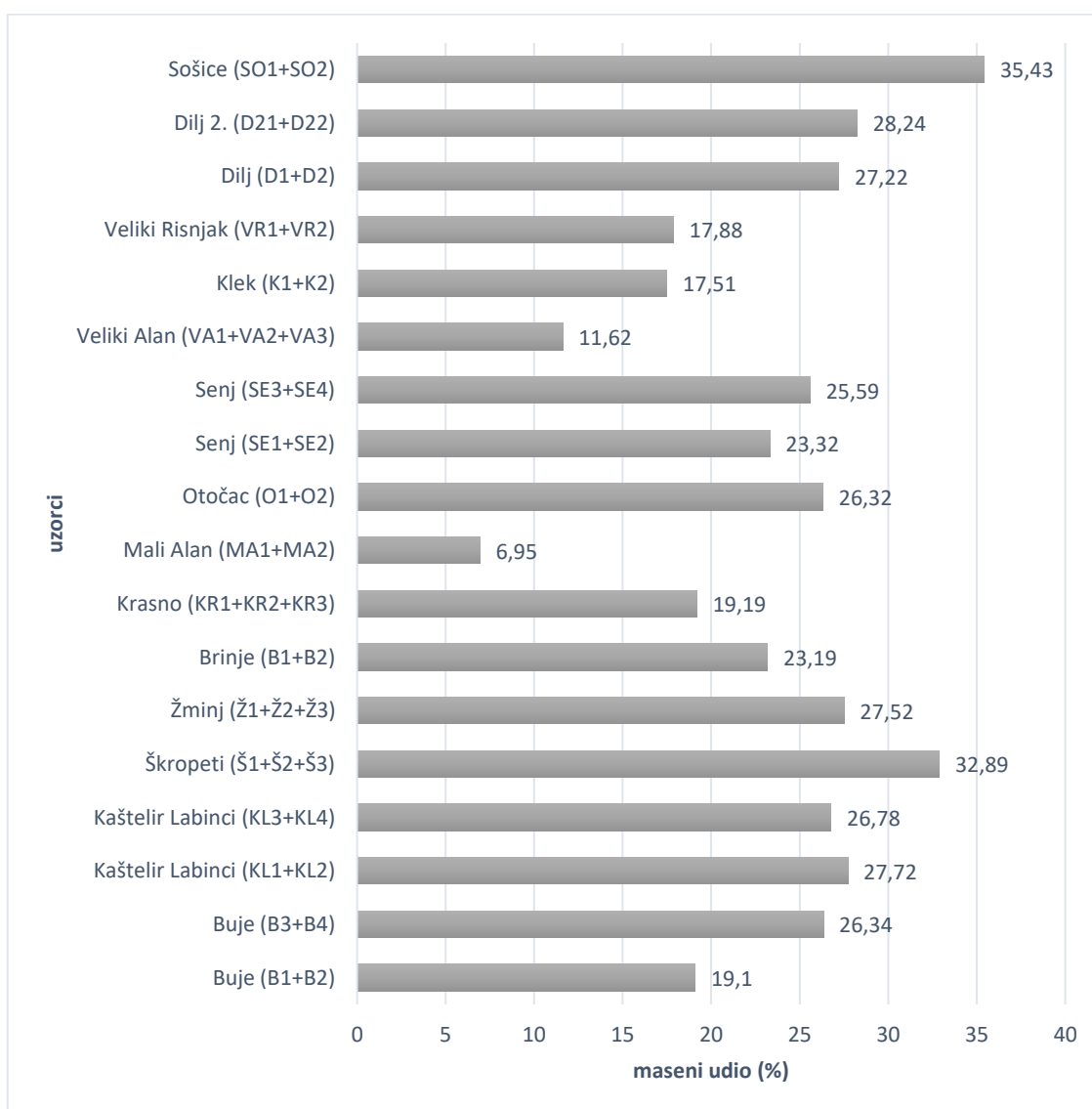
ANOVA						
Značajka proteini (%)	Izvor varijacije	SS*	df*	MS*	F*	p-value
	Između lokaliteta	351,3927	3	117,1309	0,12566	0,944
	Unutar lokaliteta	34488,17	37	932,1127		
	Ostatak	34839,56	40			

*SS-suma kvadrata odstupanja, df-stupnjevi slobode, MS-prosječna varijacija, F-Fisherov kvocijent

U tablici 12 prikazana je dobivena p -vrijednost za analizu varijance podataka o udjelu proteina na svim analiziranim uzorcima borovice. p -vrijednost iznosi 0,944, a razina značajnosti je $\alpha = 0,05$. $p > 0,05$ pa se nulta hipoteza prihvaća i zaključuje se da ne postoji statistički značajna razlika između lokaliteta prema udjelu proteina.

4.9 Rezultati za maseni udio šećera

Maseni udio šećera u svim uzorcima prikazan je na slici 14. Najveći udio šećera od analiziranih uzoraka ima uzorak Sošice (SO1+SO2) gdje maseni udio šećera iznosi 35,43 %, najmanji udio šećera nalazi se u uzorku Mali Alan gdje je udio šećera samo 6,25 %.



Slika 14. Rezultati ispitivanja masenog udjela vode, svi uzorci

Analizom varijance podataka o udjelu šećera u svim uzorcima dobivena je p -vrijednost koja iznosi 0,810319 (tablica 13), odnosno njena vrijednost je $p > 0,05$, što znači da se prihvaća nulta hipoteza. Analizom varijance za udjel šećera utvrđeno je da ne postoji statistički značajna razlika između ispitanih lokaliteta.

Tablica 13. Analiza varijance podataka o udjelu šećera u svim uzorcima

ANOVA						
Značajka	Izvor varijacije	SS*	df*	MS*	F*	<i>p-value</i>
Šećeri (%)	Između lokaliteta	598,1703	3	199,3901	0,32071	0,810319
	Unutar lokaliteta	20516,64	33	621,7164		
	Ostatak	21114,81	36			

*SS-suma kvadrata odstupanja, df-stupnjevi slobode, MS-prosječna varijacija, F-Fisherov kvocijent

4.10 Rezultati za maseni udio celuloze



Slika 15. Rezultati isptivanja masenog udjela vode, svi uzorci

Maseni udio celuloze svih analiziranih uzoraka prikazan je grafički na slici 15. Na stupčastom dijagramu vidljivo je da je najveći udio celuloze u uzorku Vela Draga (VD1+VD2) gdje je dobiven maseni udio celuloze od 21,39%. Najmanje celuloze ima uzorak Brinje (B1+B2), 10,03%. Obradom dobivenih rezultata o udjelu celuloze u svim uzorcima dobivena je p -vrijednost koja iznosi $> 0,05$, odnosno 0,323 (tablica 14) što znači da se nulta hipoteza prihvaća. Analizom varijance za udjel celuloze na temelju p -vrijednosti utvrđeno je da ne postoji statistički značajna razlika između ispitanih lokaliteta.

Tablica 14. Analiza varijance podataka o udjelu celuloza u svim uzorcima

ANOVA						
Značajka	Izvor varijacije	SS*	df*	MS*	F*	<i>p-value</i>
Šećeri (%)	Između lokaliteta	1999,709	3	666,5697	1,20191	0,323
	Unutar lokaliteta	20519,85	37	554,5906		
	Ostatak	22519,56	40			

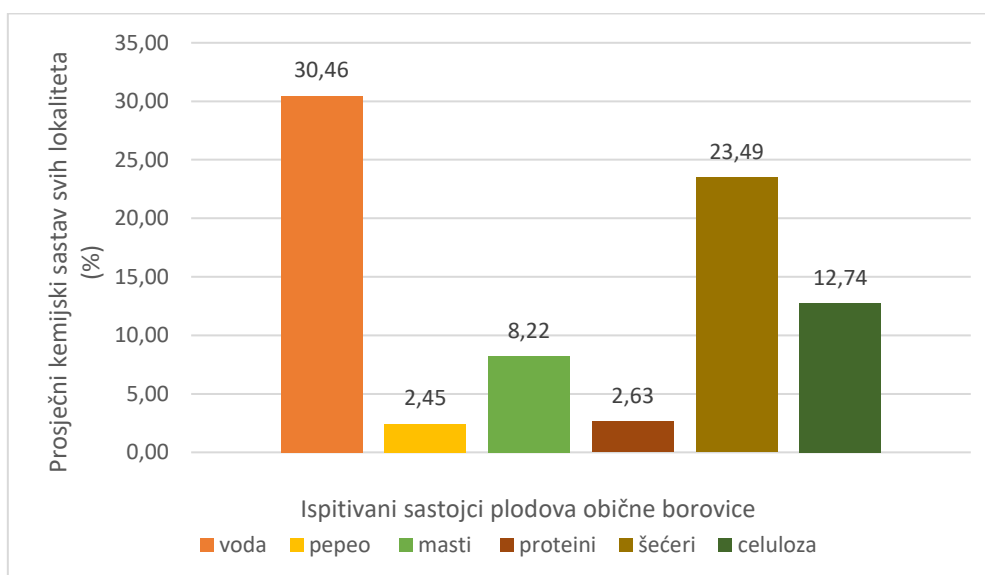
*SS-suma kvadrata odstupanja, df-stupnjevi slobode, MS-prosječna varijacija, F-Fisherov kvocijent

4.11 Prosječni sastav svih uzoraka

Na slici 16 prikazan je prosječni sastav svih ispitivanih uzoraka. U ispitivanim uzorcima, voda u prosjeku zauzima najveći udio i on iznosi 30,46 %. Sljedeći značajan sastojak u ispitivanim uzorcima je šećer čiji je prosječni maseni udio 23,49 %, zatim slijedi celuloza čiji je prosječni udio 12,74 %. Manji maseni udio u borovici zauzimaju masti s 8,22 %, proteini s 2,63 % i najmanji udio pepeo 2,45 %.

Jednofaktorskom analizom varijance međusobno su uspoređeni svi uzorci na temelju dobivenih vrijednosti za udjel vode, pepela, masti, proteina, šećera i celuloze. Analizom varijance dobivene su *p*-vrijednosti čija je vrijednosti za svaki analizirani sastojak veća od 0,05.

Zaključuje se da za svaku analiziranu značajku ne postoji statistički značajna razlika između ispitanih lokaliteta te se u svim slučajevima nulta hipoteza prihvaća.



Slika 16. Prikaz prosječnog kemijskog sastava svih analiziranih uzoraka

4.12 Usporedba vlastitih i literaturnih podataka

Tablica 15. Usporedba vlastitih i literaturnih podataka

		voda (%)	pepeo (%)	masti (%)	proteini (%)	celuloza (%)
Prosječni rezultati vlastitog istraživanja		31,35	2,37	8,21	2,55	12,74
Literaturni podaci, Južna Dakota (Gastler i sur., 1951)	1. listopada	50,27	1,41	6,07	4,22	11,28
	2. siječnja	43,48	1,65	7,51	3,30	15,50
	1. travnja	43,81	2,00	7,16	2,85	12,70
	1. srpnja	66,13	1,38	4,12	3,53	9,51

U tablici 15. su prikazani podaci prosječnog masenog udjela vode, pepela, masti, proteina i celuloze vlastitog istraživanja te rezultati analize borovice Južne Dakote (Gastler i sur., 1951) u različitim datumima kroz godinu. U literaturnim podacima nisu pronađeni podaci o masenom udjelu šećera.

U usporedbi s literaturnim podacima o kemijskom sastavu borovice možemo vidjeti da je prosječni maseni udio vode manji od svih prosječnih literaturnih podataka. Najmanja razlika je sa sastavom borovice 2. siječnja, gdje je razlika u masenom udjelu vode 12,13%, a najveća razlika vlastitih i literaturnih podataka je kod borovice iz srpnja gdje je razlika u masenom udjelu vode 34,78 %.

Vlastitim istraživanjima dobiven je maseni udio pepela koji je veći od literaturnih podataka, najmanja razlika od 0,37 % je kod borovice iz travnja, a najveća razlika od 0,99 % je kod borovice iz srpnja.

Vlastitim istraživanjem dobiven je maseni udio masti koji je veći od svih literaturnih podataka. Najmanje odstupanje je ono s literaturnim podacima za borovicu iz siječnja, razlika u podacima je 0,61 %, a najveće odstupanje je s literaturnim podacima iz srpnja, pri čemu je dobiveni maseni udio masti veći za 4,09 % u odnosu na literaturne podatke.

Dobiveni prosječni maseni udio proteina vlastitog istraživanja iznosi 2,55 %, taj maseni udio manji je od svih literaturnih podataka. Dobiveni maseni udio proteina najbliži je onim literaturnim podacima za mjesec travanj, razlika u masenim udjelima je 0,4 %. Prema literaturnim podacima, najveći udio proteina imale su borovice iz listopada i one najviše odstupaju od dobivenog prosječnog masenog udjela vlastitog istraživanja za 1,67 %.

Pregledom literaturnih podataka i uspoređivanjem rezultata vlastite analize, možemo zaključiti da prikupljene i analizirane borovice sastavom pokazuju najvišu sličnost s onim borovicama koje su Gastler i suradnici (1951) prikupili u travnju.

Juniperus drupacea, još jedna vrsta iz roda *Juniper*, ima maseni udio šećera od 21.29±1.47 % (Akinci i sur., 2004), a određeni maseni udio šećera za *Juniperus communis* je 23,49 %, pa možemo zaključiti da te dvije vrste imaju sličan udio šećera.

Tablica 16. Uspoređivanje kemijskog sastava borovice s kemijskim sastavom borovnice, goji bobice i kardamoma

	Voda (%)	Pepeo (%)	Masti (%)	Proteini (%)	Šećeri (%)	Celuloza (%)
Borovica	31,35	2,37	8,21	2,55	23,49	12,74
Borovnica*	84,2	0,24	0,33	0,74	14,5	2,4
Goji bobice*	7,5	0,78	0,39	14,3	77,1	13
Kardamom*	8,28	5,78	6,7	10,8	68,5	28

*podaci izraženi kao postotak izračunat na temelju vrijednosti preuzete iz USDA baze podataka (USDA, 2021)

Dobiveni kemijski sastav borovica uspoređen je s kemijskim sastavom borovnica, goji bobica i kardamoma. Borovnice su jedna od najčešće konzumiranih bobica s dokazanim pozitivnim djelovanjem na ljudsko zdravlje sa protuupalnim djelovanjem, poboljšavaju osjetljivost na inzulin, bogate su antioksidansima, smanjuju oksidativni stres i pozitivno djeluju na krvni tlak (Miller i sur., 2019). Sjemenke biljke kardamom koriste se slično kao i bobice borovice, u prehrani primarno kao začin i za obogaćivanje arome jela i pića te imaju anti-oksidativno, antibakterijsko, gastro-protektivno i antikancerogeno djelovanje (Ashokkumar i sur., 2020). Goji bobice u posljednjih nekoliko godina smatraju se superhranom, odnosno hranom koja se smatra korisna za ljudsko zdravlje. Zdravstvene prednosti konzumacije goji bobica su poboljšanje hemopoeze, antikancerogeno i antioksidacijsko djelovanje te pozitivno djelovanje na imunitet (Ma i sur., 2019).

Uspoređivanjem borovice i izabranih bobica i začina možemo zaključiti da kemijskim sastavom uglavnom nisu slične u niti jednoj komponenti. Goji bobice i borovica imaju sličan postotak celuloze, a kardamom i borovica najbliži su u postotku masti. Borovica i borovnica imaju potpuno različit kemijski sastav, borovnica ima 2,7 puta veći postotak vode, a borovica ima veći udio svih ostalih komponenti kemijskog sastava.

5. ZAKLJUČCI

Obična borovica (*Juniperus communis L.*) je biljka koja pripada porodici čempresa (*Cupressaceae*), najrasprostranjenija je četinjača. Raste u svim predjelima Republike Hrvatske, a u ovom istraživanju analizirali su se uzorci iz Istre, Like, Gorskog kotara, Slavonije i Zagrebačke županije sa šesnaest različitih lokaliteta.

Na temelju provedenog istraživanja može se zaključiti sljedeće:

- Plodovi obične borovice u prosjeku sadrže 30,46 % masenog udjela vode., 23,49%, masenog udjela šećera, 12,74% masenog udjela celuloze, 8,22% masenog udjela masti, 2,63% masenog udjela proteina i 2,45% masenog udjela pepela.
- Najveći maseni udio vode je u uzorku iz Istre, u uzorku Savudrija. Uzorak koji ima najmanji maseni udio vode je uzorak Brod Moravice iz Gorskog kotara. Maseni udio vode također ima najveći raspon rezultata.
- Raspon rezultata za maseni udio pepela je najmanji od svih ispitivanih sastojaka obične borovice pri čemu je najveći maseni udio pepela kod uzorka Brod Moravice. Najmanji udio pepela ima uzorak iz Like, a to je Otočac.
- Analiza masenog udjela masti provedena je na samo 16 uzoraka, od tih 16 najveći udio masti imao je uzorak Dilj 2. Najmanji maseni udio masti imao je uzorak Buje (B3+B4). Koeficijent varijacije rezultata najmanji za maseni udio masti.
- Najveći udio proteina dobiven je u uzorku Brod Moravice (BM1+BM2), a najmanji udio proteina dobiven je u uzorku Senj (SE3+SE4).
- Najveći udio šećera od analiziranih uzoraka ima uzorak Sošice (SO1+SO2), najmanji udio šećera nalazi se u uzorku Mali Alan. Koeficijent varijacije najveći je za maseni udio šećera.
- Najveći maseni udio celuloze je u uzorku Vela Draga (VD1+VD2), najmanje celuloze ima uzorak Brinje (B1+B2).
- Prilikom usporedbe s literaturnim podacima uočene su razlike s obzirom na maseni udio vode, koji je u literaturnim podacima veći, za ostale ispitivane sastojke ploda nisu uočene značajne i veće razlike.
- Borovice su uspoređene s drugim začinima i bobicama te je zaključeno da borovica nije slična u kemijom sastavu s borovnicom, goji bobicom i kardamomom.

- Jednofaktorskom analizom varijance međusobno su uspoređeni svi uzorci na temelju dobivenih vrijednosti za maseni udjel vode, pepela, masti, proteina, šećera i celuloze, dobiveni rezultati pokazuju da ne postoji statistički značajna razlika s obzirom na promatrane parametre između ispitanih lokaliteta.

6. LITERATURA

AOAC 923,03:2000, Fruits and fruit products – Ash content in fruits and fruit products

AOAC 925,03:2000, Fruits and fruit products – Moisture in fruits and fruit products

AOAC 925,35:2000, Fruits and fruit products – Sucrose in fruits and fruit products

AOAC 989,05:2000, Fruits and fruit products – Total fat in fruits and fruit products

AOAC 992,15:2000, Fruits and fruit products – Crude proteins in fruits and fruit products

Arnerić, J., Protrka, K. (2019) Modeli analize varijance (ANOVA). *Mat. fiz. list.* 70, 25-32.

Akinci, I., Ozdemir, F., Topuz, A., Kabas, O., Canakci, M., J. (2004) Some physical and nutritional properties of *Juniperus drupacea* fruits. *Food Engg.* 65, 325

Ashokkumar, K., Murugan, M., Dhanya, M. K., Warkentin, T. D. (2020). Botany, traditional uses, phytochemistry and biological activities of cardamom [*Elettaria cardamomum* (L.) Maton] - A critical review. *J Ethnopharmacol.* 246, 112244.

Assessment report on *Juniperus communis* L., pseudofructus (2009) European Medicines Agency, Amsterdam

Aumatell, M.R. (2012) Gin: production and sensory properties. U: Alcoholic beverages, (Piggott, J., ured.), Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition, str. 267-280.

Banerjee, S., Singh, H., Chatterjee, T. K. (2013) Evaluation of anti-diabetic and antihyperlipidemic potential of methanolic extract of *Juniperus Communis* L. in streptozotocin nicotinamide induced diabetic rats. *Int. J. Pharma Bio Sci.* 4, 10-17.

Baytop T. (1999) Therapy with medicinal plants in Turkey (past and present), Nobel Tıp Kitapevleri, Istanbul, str. 152–153.

Hrvatska enciklopedija, mrežno izdanje, <http://www.enciklopedija.hr/Natuknica.aspx?ID=8838>, pristupljeno 23. 09. 2021.

Ciudad-Mulero, M., Fernández-Ruiz, V., Matallana-González, M. C., Morales, P. (2019) Dietary fiber sources and human benefits: The case study of cereal and pseudocereals. *Adv. Food Nutr. Res.* 90, 83-134.

Coffey, D. G., Bell, D. A., Henderson, A. (2006) Cellulose and cellulose derivatives. U: Food Polysaccharides and their Applications, (Stephens, A. M., Phillips, G. P., Williams, P. A., ured.), CRC Press, Boca Raton, Florida, SAD, str. 147-171.

Dahl, W. J., Stewart, M. L. (2015) Position of the Academy of Nutrition and Dietetics: Health Implications of Dietary Fiber. *J. Acad. Nutr. Diet.* **115**, 1861-1870.

Diotte, M., Bergeron, Y. (1989). Fire and the Distribution of *Juniperus communis* L. in the Boreal Forest of Quebec, Canada. *Journal of Biogeography.* **16**, 91-96.

Enescu, C. M., Houston Durrant, T., Caudullo, G., de Rigo, D., (2016) *Juniperus communis* in Europe: distribution, habitat, usage and threats. U: European Atlas of Forest Tree Species, (San-Miguel-Ayanz, J., de Rigo, D., Caudullo, G., Houston Durrant, T., Mauri, A., ured.), Publications Office of the European Union, Luxembourg, str. 104.

EUFORGEN, European forest genetic resources programme, <http://www.euforgen.org/species/juniperus-communis/>, pristupljeno 23.08.2021.

Falcão, S., Bacém, I., Igrejas, G., Rodrigues, P. J., Vilas-Boas M., Amaral, J. S. (2018) Chemical composition and antimicrobial activity of hydrodistilled oil from juniper berries. *Ind. Crops Prod.* **124**, 878-884.

Gaćina, N. (2014) Alternativne sirovine prehrambenih vlakana. *Zbornik radova Veleučilišta u Šibeniku.* **1-2/2014**, 123-130.

Gastler, G. F., Moxon, A.L., McKean, W.T., (1951) Composition of some plants eaten by deer in the Black Hills of South Dakota. *J. Wildl. Manage.* **15**, 352-357.

Glavaš, M. (1985) Koristi od obične borovice (*Juniperus communis* L.). *Šum. List* **109**, 153-158.

Gonny, M., Cavaleiro, C., Salgueiro, L., Casanova, J. (2006) Analysis of *Juniperus communis* subsp. *alpina* needle, berry, wood and root oils by combination of GC, GC/MS and ¹³C-NMR. *Flavour Fragr. J.*, **21**, 99-106.

Gursky Z. (1985) Zlatna knjiga ljekovitog bilja. (Donat, B., ured.), 3 izdanje, Naknadni zavod Matice hrvatske, Zagreb, str. 69-73.

Hajdari, A., Behxhet, M., Dashnor, N., Miftari, E., Quave, C. L., Novak, J. (2015) Chemical Composition of *Juniperus communis* L. Cone Essential Oil and Its Variability among Wild Populations in Kosovo. *Chem. Biodiversity*. **12**, 1706–1717.

Herman, J. (1971) Šumarska dendrologija, Stanbiro., Zagreb, str.470.

Hruškar, M., Vahčić, N. (1999) Udjel suhe tvari u mliječnim proizvodima - uporedba dviju metoda. *Mljekarstvo* **49**, 105-112.

Inci, H., Ozdemir, G., Sengul, A. Y., Sogut, B., Nursoy, H., Sengul, T. (2016) Using juniper berry (*Juniperus communis*) as a supplement in Japanese quail diets. *R. Bras. Zootec.* **45**, 230-235.

Keršek, E. (2004) Ljekovito bilje u vinu i rakiji: kako možete sami pripremiti ljekovite eliksire i travarice, V.B.Z., Zagreb, Stručno popularna biblioteka, Zagreb, str. 40-41.

Ma, Z. F., Zhang, H., Teh, S. S., Wang, C. W., Zhang, Y., Hayford, F., Wang, L., Ma, T., Dong, Z., Zhang, Y., Zhu, Y. (2019). Goji Berries as a Potential Natural Antioxidant Medicine: An Insight into Their Molecular Mechanisms of Action. *Oxid Med Cell Longev.* **2019**, 2437397.

Mastelić, J., Miloš, M., Kuštrak, D., Radonić, A. (2000) Essential Oil and Glycosidically Bound Volatile Compounds from the Needles of Common Juniper (*Juniperus communis* L.). *Croatica Chemica Acta*, **73**, 585-593.

McCabe, M., Gohdes, D., Morgan, F. (2005) Herbal therapies among Navajo Indians. *Diabetes Care* **28**,1534–1535.

Miceli, N., Trovato, A., Dugo, P., Cacciola, F., Donato, P., Marino, A., Bellinghieri, V., Barbera, T., Güvenç, A., Taviano, M. F. (2009) Comparative Analysis of Flavonoid Profile, Antioxidant and Antimicrobial Activity of the Berries of *Juniperus communis* L. var. *communis* and *Juniperus communis* L. var. *saxatilis* Pall. from Turkey. *J. Agric. Food Chem.* **57**, 6570-6577.

Miller, K., Feucht, W., Schmid, M. (2019) Bioactive Compounds of Strawberry and Blueberry and Their Potential Health Effects Based on Human Intervention Studies: A Brief Overview. *Nutrients*, **11**, 1510.

National Biodiversity Network Atlas. NBN Atlas *Juniperus communis* L. <<https://species.nbnatlas.org/species/NBNSYS0000004634>> Pristupljeno 23.08.2021

Nielsen, S. S. (2010) Food analysis, 4. izd., Springer, New York/Dordrecht/Heidelber/London, str. 87-88., 107-109., 119-122., 135-137., 149-160.

- Nikolić, T. (2013) Sistematska botanika - Raznolikost i evolucija biljnog svijeta, Alfa d.d., Zagreb, str. 882.
- Pepeljnjak, S., Kosalec, I., Kalodera, Z., Blažević, N. (2005) Antimikrobni učinak eteričnog ulja borovice (*Juniperus communis* L., *Cupressaceae*). *Acta Pharmaceutica* **55**, 417-422.
- Rezvani S., Rezai M. A., Mahmoodi N. (2009) Analysis and antimicrobial activity of the plant. *Juniperus communis*. *Rasayan J. Chem.* **2**, 257–260.
- Sela, F., Karapandzova, M., Stefkov, G., Kulevanova, S. (2011) Chemical composition of berry essential oils from *Juniperus communis* L. (*Cupressaceae*) growing wild in Republic of Macedonia and assessment of the chemical composition in accordance to European Pharmacopoeia. *Macedonian Pharmaceutical Bulletin.* **57**, 43-51.
- Šilić, Č. (2005) Atlas dendroflora (drveće i grmlje) Bosne i Hercegovine, Matica hrvatska Čitluk Franjevačka kuća Masna Luka, Sarajevo, str. 46.
- Tarawneh, A. H., Salamon, I., Gadetskaya, A. V. (2020) Effect of raw spirit in Borovička beverage on the quality of the product. *Acta Hort.* **1274**, 137-142.
- Thomas, P. A., El-Barghathi, M., Polwart, A. (2007) Biological Flora of the British Isles: *Juniperus communis* L. *J. Ecol.*, **95**, 1404-1440.
- U.S. Department of Agriculture, Natural Resources Conservation Service. USDA Classification for Kingdom Plantae Down to Species *Juniperus communis* L. <<https://plants.usda.gov/home/classification/15168>> Pristupljeno 21.08.2021.
- Uredba (EZ) br. 110/2008 europskog parlamenta i vijeća o definiciji, opisivanju, prezentiranju, označavanju i zaštiti zemljopisnih oznaka jakih alkoholnih pića i stavljanju izvan snage Uredbe Vijeća (EEZ) br. 1576/89, Službeni list Europske unije, 03/Sv. 62
- USDA, National Nutrient Database for Standard Reference Legacy Release, <https://fdc.nal.usda.gov/fdc-app.html>, pristupljeno 10.11.2021.
- Vichi, S., Riu-Aumatell, M., Mora-Pons, M., Guadayol, J., Buxaderas, S., López-Tamames, E. (2007) HS-SPME coupled to GC/MS for quality control of *Juniperus communis* L. berries used for gin aromatization. *Food Chem.* **105**, 1748-1754.

IZJAVA O IZVORNOSTI

Ja Martina Prežigalo izjavljujem da je ovaj diplomski rad izvorni rezultat mojeg rada te da se u njegovoj izradi nisam koristio/la drugim izvorima, osim onih koji su u njemu navedeni.

Martina Prežigalo

Vlastoručni potpis