

Određivanje kupnih ugljikohidrata u plodu kestena

Kovačec, Katarina

Undergraduate thesis / Završni rad

2015

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://um.nsk.hr/um:nbn:hr:159:277452>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-04-25**



Repository / Repozitorij:

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



Sveučilište u Zagrebu
Prehrambeno–biotehnološki fakultet
Preddiplomski studij Biotehnologija

Katarina Kovačec

6242/BT

**ODREĐIVANJE UKUPNIH
UGLJIKOHIDRATA U PLODU KESTENA**
ZAVRŠNI RAD

Modul: Biotehnologija 4

Mentor: Izv. prof. dr.sc. Ivana Radojčić Redovniković

Zagreb, 2015.

DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Završni rad

Sveučilište u Zagrebu
Prehrambeno–biotehnološki fakultet
Preddiplomski studij Biotehnologija
Zavod za biokemijsko inženjerstvo
Laboratorij za tehnologiju i primjenu stanica i biotransformacije

ODREĐIVANJE KUPNIH UGLJIKOHIDRATA U PLODU KESTENA

Katarina Kovačec, 6242/BT

Sažetak: Pitomi kesten (*Castanea sativa* Mill) pripada u skupinu listopadnog drveća, rjeđe grmova iz porodice *Fagaceae*. U ovom radu je analizirano je 7 uzoraka od tri francuska kultivara pitomog kestena: Maraval, Marsol i Bouche de Betizac, sakupljenih na području U.Š. Sisak, s ciljem određivanja ukupnog udjela ugljikohidrata u pojedinom uzorku. Za analizu je korištena spektrofotometrijska metoda određivanja ukupnog udjela ugljikohidrata u plodu kestena temeljena na korištenju Anthrona. Dobiveni rezultati bili su u rasponu od $0,35 \pm 0,03$ do $0,46 \pm 0,04$ g g⁻¹ svj.t., što je sukladno sa literaturnim podacima, a primijenjena se metoda pokazala uspješnom. U svrhu preciznijeg određivanja udjela ugljikohidrata te njihovo razdjeljivanje i identifikaciju, preporuča se korištenje drugih metoda poput metode tekućinske kromatografija visoke djelotvornosti (HPLC).

Ključne riječi: pitomi kesten, ugljikohidrati, spektrofotometar, Anthrone

Rad sadrži: 26 stranica, 9 slika, 2 tablice, 43 literaturna navoda

Jezik izvornika: hrvatski

Rad je u tiskanom i elektroničkom (pdf format) obliku pohranjen u: Knjižnica

Prehrambeno–biotehnološkog fakulteta, Kačićeva 23, Zagreb

Mentor: izv .prof.dr. sc. Ivana Radojčić Redovniković

Rad predan: rujan, 2015.

BASIC DOCUMENTATION CARD

Final work

University of Zagreb
Faculty of Food Technology and Biotechnology
Undergraduate studies Biotechnology
Department of Biochemical Engineering
Laboratory for Cell Technology, Application and Biotransformations

DETERMINATION OF TOTAL CARBOHYDRATES IN SWEET CHESTNUT

Katarina Kovačec, 6242/BT

Abstract: Sweet chestnut (*Castanea sativa* Mill.) belongs to a group of deciduous trees, rarely to bushes from family *Fagaceae*. Aim of the present study was to analyze total content of carbohydrates in seven samples from three French varieties of chestnut: Maraval, Marsol i Bouche de Betizac, collected on territory of Sisak. Spectrofotometric method used for the determination of total content of carbohydrates in the fruit chestnuts was based on the use of Anthrone. Range of total carbohydrates in chestnuts was from 0.35 ± 0.03 to 0.46 ± 0.04 g g⁻¹ of fresh weight, which is consistent with literature data. Applied method was proved to be successful. For the purpose of precise determination of carbohydrates and their identification and quantification, it is recommended to use other methods such as high performance liquid chromatography (HPLC).

Keywords: chestnuts, carbohydrates, spectrofotometric method, Anthrone

Thesis contains: 26 pages, 9 figures, 2 tables, 43 references

Original in: Croatian

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

Mentor: Ph. D. Ivana Radojčić Redovniković, Associate Professor

Thesis delivered: September, 2015.

SADRŽAJ

1. UVOD	1
2. TEORIJSKI DIO	2
2.1. Castanea sativa Mill.....	2
2.1.1. Podjela kestena	3
2.1.2. Uzgoj kestena na teritoriju Republike Hrvatske.....	6
2.1.3. Kemijski sastav ploda kestena.....	8
2.2. Ljekovitost kestena.....	10
2.3. Ugljikohidrati.....	12
2.3.1. Svojstva i podjela ugljikohidrata.....	12
2.3.2. Metode određivanja ugljikohidrata.....	13
3. EKSPERIMENTALNI DIO.....	13
3.1. MATERIJALI.....	16
3.1.1. Uzorci.....	16
3.1.2. Kemikalije.....	16
3.1.3. Oprema.....	16
3.2. Metode rada	16
3.2.1. Priprema otopina za provođenje analize.....	17
3.2.2. Priprema bilnog materijala te ekstrakcija šećera.....	17
3.2.3. Postupak mjerenja.....	18
3.2.4. Izrada baždarnog pravca.....	18
4. REZULTATI I RASPRAVA	19
5. ZAKLJUČAK.....	22
6. LITERATURA	23

1. UVOD

Kesten (*Castanea sativa Mill.*) pripada u skupinu listopadnog drveća, rjeđe grmova iz porodice *Fagaceae*. Obuhvaća desetak vrsta rasprostranjenih na umjerenom području sjeverne hemisfere (južna Europa, zapadna i istočna Azija, sjeverozapadna Afrika, jugoistočni dio Sjeverne Amerike). Kesteni se kultiviraju u mnogo varijeteta uglavnom zbog ploda, koji se upotrebljava kao hrana, no služi i kao ukrasno drvo te je važan i u brodogradnji, vinogradarstvu, stočarstvu, bačvarstvu, stolarstvu itd (Fernandez-Lopez i sur., 2003).

Najveću ulogu kesten ima upravo u prehrambenoj industriji, gdje je istaknuta kao jako vrijedna sirovina, ali i u narodnoj medicini te farmakologiji. Jako je bogat izvor mono-nezasićenih masti kao što su oleinska i palmitinska kiselina, koje pomažu prilikom sniženja kolesterol i preporuča se u dijetama za mršavljenje. Osim toga, sadrži i visoke koncentracije folne kiseline, koja se inače nalazi samo u zelenom, lisnatom povrću, a važna je za sintezu DNA i normalan rad živčanog sustava. Kesten je bogat mineralima te vitaminima B grupe, vitaminima A i C te vitaminom K koji je najviše zastupljen u kestenovom listu, a važan je pri zaustavljanju krvarenja (Anonymous 1, 2015). Međutim, u kemijskom sastavu kesten najviše su zastupljeni ugljikohidrati oko 44 % udjela, a taj sadržaj se može usporediti sa istim kod žitarica poput pšenice. Kesten obiluje mono- i disaharidima poput glukoze, fruktoze, rafinoze i saharoze. Također, kesten sadrži dva puta veći udio škroba u odnosu na krumpir, koji se probavljaju znatno sporije od najjednostavnijih ugljikohidrata, obzirom da se radi o ugljikohidratima složene strukture. Iz tog razloga, prilikom unosa kesten u organizam, razina energije ostaje konstantna te se ne povećava razina ugljikohidrata u krvi kao kod unosa jednostavnih ugljikohidrata poput glukoze i fruktoze. Služi i kao dobar izvor energije stoga se koristi i za jačanje imunološkog sustava pa se uglavnom preporuča sportašima, trudnicama, starijim osobama i djeci (Anonymous 2, 2015).

Cilj ovog rada je bio odrediti udio ukupnih ugljikohidrata u sedam uzoraka kesten, spektrofotometrijskom metodom uporabom Anthrone reagens, sakupljenim na teritoriju Republike Hrvatske.

2. TEORIJSKI DIO

2.1. Pitomi kesten (*Castanea sativa* Mill)

Mnogi agronomi, prvenstveno voćari, ubrajaju pitomi kesten (*Castanea sativa* Mill) u skupinu orašastog voća kao što su bademi, orasi, kikiriki, lješnjaci i mnoge druge vrste. No zbog načina i mjesta rasta, on pripada u skupinu listopadnog drveća, rjeđe grmova iz porodice *Fagaceae* (Potočić, 1987). Plod kestena je oduvijek imao važnu ulogu u prehrambenoj industriji, a ona se danas podjednako očituje i u brodogradnji, vinogradarstvu, stočarstvu, stolarstvu i drugim zanatima.

Pitomi kesten obuhvaća desetak vrsta rasprostranjenih na umjerenom području sjeverne hemisfere (južna Europa, zapadna i istočna Azija, sjeverozapadna Afrika, jugoistočni dio Sjeverne Amerike). Njegov uzgoj se provodi na relativno kiselom tlu (pH 4-5), s mnogo humusa, željeza i kalija, i to u područjima tipične submediteranske klime (topla i suha ljeta, blage i kišovite zime). Sunčani, topli i svijetli položaji potpomažu njegov rast i razvitak. Krošnja je dosta gusta te većinom široko zaobljena, dok je kora debela tanka i u starijoj dobi uzdužno izbrazdana. Lišće je naizmjenično, a plojka je eliptično duguljasta, zaobljene srcolike baze, grubo, ali pravilnog ruba sa mnogo paralelnih žila. Pupove prekrivaju između 3 do 4 ljuske. Cvetovi su jednodomni. Muški se nalaze u dugačkim i uspravnim resama, sadrže 10-20 prašnika i imaju šesterodijelni čašak. Ženski cvjetovi se nalaze pri dnu gonjih muških resa, obično ih je po 3 u bodljikavoj kupoli smješteno, sa 7-9 tučaka i šesterodijelnom plodnicom. Kasno cvjetaju i rađaju gotovo svake godine. Plod im je smeđ, krupan kesten, s time da ih je 1-3 zajedno smješteno u bodljikavoj ovojnici koja u zrelom stanju puca na 2-4 dijela (Potočić, 1987).

2.1.1. Podjela kestena

Kesten možemo podijeliti u dvije grupe, od čega jednoj pripada divlji kesten (*Aesculus hippocastanum*), a drugoj grupi pitomi kesten (*Castanea sativa*). Otprilike 25 vrsta divljeg kestena je rašireno diljem područja Sjeverne Amerike te jugoistočne Europe i Azije, a neke se nastanjuju i suptropska predjela. U pravilu im je lišće nasuprotno, prstoliko, sa 5-9 listića. Pupovi su krupni te prekrivi sa par ljusaka, a cvjetovi su u uspravnim cvjetnim metličastim cvatovima (Potočić, 1987). S druge strane, pitomi kesten je i do 30 m visoko drvo koje je široko rasprostranjeno na svim kontinentima, poglavito u južnoj Europi, zapadnoj

Aziji te sjeverozapadnoj Africi. Razlikujemo japanski kesten (*Castanea crenata*), kineski kesten (*Castanea mollissima*), europski kesten (*Castanea sativa*), te američki kesten (*Castanea dentata*).

Europski kesten (*Castanea sativa* Mill)

Prema povjesničarima se europski kesten (slika 1) počeo širiti po Europi iz Grčke, a rasprostranjena je po Mediteranu, na Balkanu, u kavkaskim zemljama, srednjoj i zapadnoj Europi i u umjerenim dijelovima Afrike, Azije i Sjeverne Amerike. Ono može doseći starost preko 500 godina. Europski pitomi kesten je listopadno drvo visoko do 35 m . Ima veliku i bujnu krošnju, a godišnje može dati preko 200 kg plodova (Tošić, 1967). Kora je u mladosti siva i glatka, a kasnije smeđa s vertikalnim raspuklinama na kori. Listovi su naizmjenični, duguljasti, po obodu grubo nazubljeni, 8-18 cm dugi i 3-6 cm široki, na licu goli a na naličju dlakavi. Cvjetovi su jednospolni, pojavljuju se tek početkom lipnja, kada su listovi već potpuno razvijeni. Muški cvjetovi su skupljeni u cvatove (mace), a ženski cvjetovi stoje pri dnu muških mace, pa je po nekoliko njih (najčešće 2-3) obavijeno kupulom – zajedničkim ovojem. Orašasti plodovi su smeđi, glatke i sjajne površine, a mogu biti zaobljeno plosnati ili polukuglasti. Plod je složen u loptastu,debelu, bodljikavu kupolu, koja se raspukne u jesen kada plod sazrije (Potočić, 1987).



Slika 1. Plod i rodna stabla pitomog kestena u Hrvatskoj (Anonymous 3, 2015)

Američki kesten (*Castanea dentata*)

Na području Sjeverne Amerike postoje tri autohtone vrste pitomog kestena : *C. dentata*, *C. ozarkensis* i *C. pumila*. Najvažnija od svih je upravo *Castanea dentata* (slika 2) koja je raširena na području Apalačke šume SAD-a od Mainea do Georgije i daleko na zapad do Michigana i Louisiane. Američke vrste kestena su početkom 1990-ih godina bile napadnute gljivicom *Eudothia parasitica* (kestenova snijet), što je u sljedećih 40 godina dovelo praktički do nestanka vrste *Castanea dentata*, koja je do tada bila dominantna šumska vrsta, i smatrala se jednom od najvažnijih i najkorisnijih listača Sjeverne Amerike. Drvo ove vrste je izrazito visoko (do 30 m). Listovi su tanji nego listovi europskog kestena. Plodovi su mali, pokriveni debelim i blijedim dlakama. U kupoli se nalaze dva do tri ploda, imaju najviše škroba od svih vrsta kestena te se smatraju najukusnijim i najslađim plodovima (Tošić, 1967).



Slika 2. Plod i rodno stablo američkog pitomog kestena (Anonymous 4, 2015)

Japanski kesten (*Castanea crenata*)

Japanski pitomi kesten (slika 3) se uzgaja više od 2000. godina, a u odnosu na druge vrste ima nešto blaži okus. Ova vrsta kestena je prirodno rasprostranjena na području Japana i Kine. Drvo je jako gusto, zbijeno i tanko te može postići visinu do 15 m. Lisna plojka mu je eliptično duguljasta, u osnovi je zaobljena ili srcolika. Kupola sadrži oko tri , a ponekad i pet do sedam , većih plodova debljine 2-3 cm. Drvo je izrazito otporno prema većini poznatih bolesti. U odnosu na druge vrste kestena, listovi su mu manji kao i kvaliteta ploda (Tošić, 1967).



Slika 3. Plod pitomog japanskog kestena (Anonymous 5, 2015)

Kineski kesten (*Castanea mollissima*)

Kineski pitomi kesten je vrlo važna gospodarska vrsta koja je rasprostranjena u zapadnoj i sjevernoj Kini. Odlične je kvalitete, okusa i mirisa, a i najotpornija je prema bolestima u odnosu na druge vrste kestena. Listovi su svjetliji, kraći i širi nego kod europskog kestena. Dužina listova je do 18 cm, a plojka je eliptično duguljasta. Plodovi su kvalitetni i srednje veličine, a u kupoli se obično nalazi dva do tri ploda (slika 4). U usporedbi sa ostalim vrstama ovog roda, drvo je najmanje visine (Tošić, 1967).

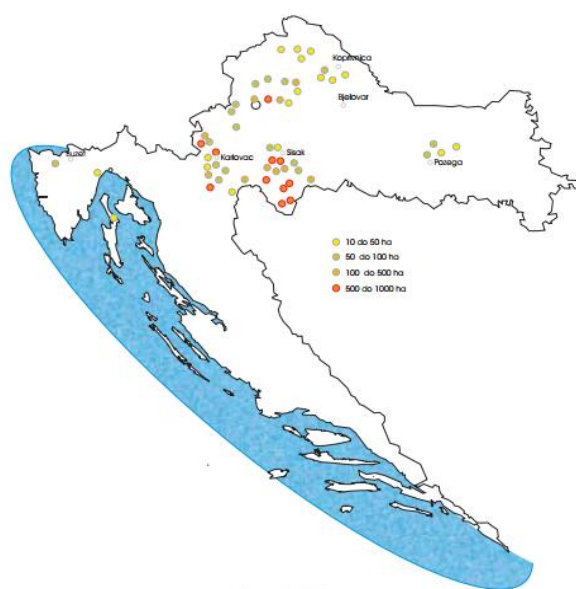


Slika 4. Plod i stablo pitomog kineskog kestena (Hunt i sur, 2012).

2.1.2. UZGOJ KESTENA NA TERITORIJU REPUBLIKE HRVATSKE

Iako ga smatramo plemenitom voćkom, kesten se u Hrvatskoj ne uzgaja u voćnjacima, nego raste samo u šumama na odgovarajućim uvjetima. Naime, kesteni uspijevaju samo na kiselom tlu (pH 4-5) te na umjereno vlažnom i sunčanom području blage klime gdje su jeseni duge i tople, a u proljeće nema smrzavanja. Naime, sve do 2009. godine u Republici Hrvatskoj nije bilo plantaža kestena. Iste godine započelo se sa plantažnim uzgojima na nekim površinama u Istre, da bi se kasnije uzgoj proširio i na područja Sisačko-moslavačke županije (Miličević, 2007).

Pitomi kesten se u Republici Hrvatskoj danas rasprostire na oko 15.000 hektara površine, od čega je 47% u privatnom te 53% u državnom vlasništvu. Pitomi kesten je rasprostranjen u 2 glavna, rascjepkana areala (slika 5). Veći dio areala, čak preko 50 % , prolazi kontinentalnom središnjom Hrvatskom, od slovenske granice do granice s BiH. Kestenove šume se nalaze na Medvednici, Zrinskoj i Petrovoj gori te na ostalom gorju SZ Hrvatske, i to najčešće u mješovitim hrastovim, bukovim ili grabovim šumama. U Sisačko-moslavačkoj županiji ga nalazimo na nešto višim nadmorskim visinama od 200 m/n.m., sve od područja Petrove gore pa preko cijele Banovine. Mjestimično ga možemo naći i u Moslavini te na području Lekenika. Drugi dio areala se prožima submediteranskim područjem koje obuhvaća otoke Krk i Cres te Istru (Novak Agbaba i sur., 2000).



Slika 5. Rasprostranjenost pitomog kestena u Hrvatskoj (Novak Agbaba i sur., 2000).

Mnogo je vrsta kestena koji se razlikuju prema boji ili obliku plodova. Jedan od njih je i marun (maron), oplemenjena sorta pitomog kestena nastala cijepljenjem plemkama kestena dubenca . Manji nasadi maruna za uzgoj ploda se nalaze na područjima Cresa i Učke. Maruni (maroni) se izvozili još u 17. stoljeću te su uz vino i masline predstavljali glavne kulture od kojih je stanovništvo Istre i Cresa živjelo krajem 17. stoljeća. Izvoz maruna je doživio svoj vrhunac u 19. stoljeću, no nakon toga je uslijedilo zapuštanje nasada i stagnacija što je rezultiralo slabim daljnjim uzgojem (Idžojić i sur., 2012). U usporedbi s običnim kestenom, marun je slađi, nešto veći i ima svjetliju ljusku, koja se lako odvaja. Glavna karakteristika maruna je krupan plod. U jažici maruna nalazimo jedan do rijetko dva sjajna, crvenkasta ploda sa gustim i svijetlim prugama. Danas ga u Hrvatskoj najviše nalazimo u okolici Lovrana, Opatije i Mošćeničke Drage, te je u ovim krajevima poznatiji i kao „lovranski marun“. Lovranski marun je nastao križanjem domaćih divljih kestena i sadnica koje su lovranski pomorci donijeli najvjerojatnije iz Japana. U čast marunu se u listopadu u Lovranu svake godine održava poznata Marunada (Idžojić i sur., 2012).

Valja spomenuti kako je kesten u Hrvatskoj bio poprilično raširen sve do 1955., kada se na području Opatije pojavila gljivična bolest, poznatija i kao rak kestenove kore (*Cryphonectria parasitica*). Naime, pojava ove gljivične bolesti uzrokovala je uništenje većine stabala (Novak Agbaba i sur., 2011). Radi se o gljivi koja *uzrokuje tri oblika raka* : aktivni (virulentan – agresivan tip gljive, za stablo najopasniji), površinsku nekrozu kore (hipovirulentan – neagresivan tip gljive) i kalusirajući rak (po virulentnosti između dvaju navedenih). Simptomi ove bolesti su žućenje i gubitak lišća, nekroza, hipertrofija, rak-rana na deblu i granama te kalusirajuće rane na starim i jačim stablima (Novak Agbaba i sur., 2011).



Slika 6. Stabla pitomog kestena zaražena rakom kore (Anonymous 6, 2015)

2.1.3. Kemijski sastav ploda kestena

Kesten se ubraja u jezgrasto voće tj u grupu orašastih plodova (orasi, bademi, lješnjaci, kikiriki, pistacio i rogač). Glavna karakteristika orašastih plodova jest ta da sadrže minimalnu količinu vode (3-8 %), no u usporedbi s njima kesten ima oko 50 % vode u svom sastavu. Orašasti plodovi su nezaobilazni dio ljudske prehrane, važni za srce i krvožilni sustav jer su bogati omega-3-masnim kiselinama, vitaminima i mineralima, a ujedno su i značajan izvor energije obzirom na kaloričnost (Anonymous 7, 2015).

Od svih orašastih plodova, kesten ima najmanji udio masti pri čemu prevladavaju nezasićene masne kiseline, a to ga u kombinaciji sa visokim udjelom vlakana čini dobrim izvorom energije ali i veoma korisnim za zdravlje (Gonçalves i sur., 2010). Ujedno je kesten i dobar izvor kalija, željeza, kalcija, a sadrži i manje količine mangana, bakra te cinka (Borges i sur., 2008). Od vitamina su najzastupljeniji vitamini A, B1, B2, C te vitamin K, kojeg najviše nalazimo u lišću kestena (Perez-Jimenez i sur., 2010). To je jedino orašasto voće s vitaminom C. Osim toga, kesten je neobično bogat folnom kiselinom, koja se inače nalazi u zelenom lisnatom povrću, a potrebna je za rast stanica, sintezu DNA i normalan rad živčanog sustava. Kesten obiluje i ugljikohidratima, osobito monosaharidima i disaharidima poput glukoze, saharoze, fruktoze, rafinoze te je bogat škrobom (Botondi i sur., 2009). Supke ploda su sočne, gorkasta okusa, obavijene tvrdom smeđom ovojnicom i sadrže znatno više škroba (oko 44 % u sirovoj sjemenci) u usporedbi sa ostalim orašastim voćem, te je stoga i teže probavljiv. U kori, drvetu, lišću i ljusci sjemena sadrži i polifenolne spojeve tanine te se ubraja u 100 namirnica koje predstavljaju bogati izvor tanina. 100 g ovog ploda u svom sastavu ima i oko 2 g masti, oko 42 g ugljikohidrata te oko 2,90 g bjelancevina (Künsch i sur., 2001). Kesten ima nizak glikemijski indeks, što upućuje na to da ne sadrži kolesterol niti gluten (Diaz Reinoso i sur., 2012), međutim, sadrži velik udio vitamina C (Gonçalves i sur., 2010) te vitamina E, karotenoida (Barros i sur., 2011) te polifenole, od čega osobito elaginsku i galnu kiselinu (Gonçalves i sur., 2010). Od aminokiselina kesten u svom sastavu sadrži najviše asparaginsku kiselinu, glutaminsku kiselinu, leucin, malanin i naposljetku arginin (Borges i sur., 2008). Prženjem kestena mijenja se kemijski sastav kestena. Pečeni kesten sadrži veću količinu masti, bjelancevina, vitamina, ima veću energetsku vrijednost te čak dvostruko veću količinu ugljikohidrata od kuhanog kestena. S druge strane, u kuhanom kestenu je veća količina minerala (Künsch i sur., 2001).

U tablicama 1 i 2 su vrijednosti za određene kemijske parametre izražene na 100 g sirovog uzorka.

Tablica 1. Kemijski sastav nekih orašastih plodova (Brodarec, 1976)

SASTAV	MJERNA JEDINICA	LJEŠNJAK	ORAH	KESTEN
Energija	kcal	634	651	194
Voda	g	5,8	3,5	52,5
Bjelančevine	g	12,6	14,8	2,9
Mast	g	62,4	64,0	1,5
Ugljikohidrati	g	16,7	15,8	42,1
Minerali uk.	g	2,5	1,9	1,0
Natrij	mg	2	2	6
Kalij	mg	704	450	454
Kalcij	mg	209	99	27
Fosfor	mg	337	380	88
Željezo	mg	3,4	3,1	1,7
Vitamin B1	mg	0,46	0,33	0,22
Vitamin B2	mg	-	0,13	0,22
Vitamin C	mg	tragovi	2	27

Iz prikazanih podataka u tablici 1. možemo vidjeti kako kesten ima najmanji udio masti i bjelančevina te najnižu energetska vrijednost, ali ima najveći udio ugljikohidrata i vode u odnosu na ostale orašaste plodove.

Tablica 2. Kemijski sastav različitih botaničkih vrsta kestena (Kaić-Rak, A., Antić, K., 1990)

SASTAV	MJERNA JEDINICA	EUROPA (C.Sativa)	KINA (C.mollissima)	JAPAN (C.crenata)
Voda	g	52	43,95	61,41
Energija	kcal	196	224	154
Energija	kJ	820	937	644
Bjelančevine	g	1,63	4,20	2,25
Masti	g	1,25	1,11	0,53
Pepeo	g	0,96	1,67	0,91
Ugljikohidrati	g	44,17	49,07	34,91

Iz navedenih podataka u tablici 2. možemo uočiti značajne međusobne razlike, ali i sličnosti u pojedinim parametrima između botaničkih vrsta. Tako je udio vode najveći kod japanskog, a najmanji kod kineskog, dok europski varira između njih s time da je po vrijednost bliže kineskom. Najviše bjelančevina sadrži kineski kesten a europski udio je najmanji. Europski kesten prednjači po udjelu masti, dok japanski kesten ima najmanje masti. Udio ugljikohidrata je najveći kod kineskog kestena dok je najmanji kod japanskog. Udio pepela je najveći kod kineskog kestena, podjednak i nešto manji udio je kod japanskog i europskog kestena.

2.2. LJEKOVITOST KESTENA

Ljekovitost kestena je odavno poznata kako u narodnoj medicini tako i u farmakologiji. O važnosti kestena u prošlosti svjedoči i činjenica da su ga stari Grci prozvali „žirom bogova“ (Anonymous 8, 2015).

Kesteni su zdravi i lako probavljivi. Veoma su bogati ugljikohidratima, čiji se sadržaj može usporediti sa onime kod žitarica poput pšenice, a kesten sadrži i dva puta veći sadržaj škroba nego krumpir. Obzirom da se radi većinom o ugljikohidratima složene strukture, probavljaju se sporije od najjednostavnijih. Upravo zbog toga razina energije ostaje konstantna i ne povećava se razina ugljikohidrata u krvi kao kod unosa jednostavnih ugljikohidrata (Anonymous 9, 2015). Izvrstan je izvor energije i pomaže kod jačanja imunološkog sustava pa se preporuča djeci, sportašima, trudnicama i starijim osobama. Kesten ne sadrži gluten niti kolesterol, pa je koristan za prehranu ljudi osjetljivih na gluten, oboljelih od celijakije (kronična gastroenterološka bolest koju obilježava trajna nepodnošljivost organizma na gluten, pšenicu, ječam, raž) ili alergičnih na pšenicu.

Kesten je isto tako bogat izvor mono-nezasićenih masti kao što su oleinska i palmitinska kiselina, koje štite kardiovaskularni sustav i pomažu prilikom sniženja kolesterola, te se preporuča i u dijetama za mršavljenje. Osim toga, kesten je obogaćen i folnom kiselinom koja se inače nalazi u zelenom, lisnatom povrću. Folna kiselina je potrebna stanicama za njihov rast, te za sintezu DNA i normalno funkcioniranje živčanog sustava. Unos hrane bogate folnom kiselinom tijekom trudnoće osigurava pravilno razvijanje fetusa, a isto tako se njenim unosom povećavaju izgledi za začecje. Bogat je mineralima te vitaminima B grupe, vitaminima K, A i C koji se prilikom kuhanja sačuvaju zahvaljujući debeloj kori koja štiti plod. Vitamin K je značajan jer ubrzava zaustavljanje krvarenja, a nalazi se u kestenovom listu (Anonymous 10, 2015).

Drvo i kora kestena su bogati taninom (sadrže više od 10 % tanina) pa se upotrebljavaju kao adstringensi (sredstva za stezanje površine sluznice i povrijeđene kože) . Ekstrakt lista se u farmaciji miješa sa ostalim antikataralnim sastojcima poput majčine dušice radi dobivanja sirupa protiv kašlja, stoga se primjenjuje protiv kašlja hripavca i upala. Iz plodova se dobiva ulje koje se primjenjuje u farmaciji (Anonymous 11, 2015). Kako je kesten bogat kalijem a siromašan natrijem, preporuča se u dijeti bolesnika s bubrežnim i kardiovaskularnim oboljenjima. Upotreba kestena kao lijeka je odobrena od strane raznih europskih regulatornih agencija poput ESCOP-a, gdje je na temelju 13 kliničkih studija dokazano povoljno djelovanje kestenova ekstrakta kod tegoba s proširenim venama, kod simptoma teških i otečenih nogu te je kesten odobren u službenoj kliničkoj fitoterapiji za liječenje kronične venske insuficijencije (Anonymous 12, 2015).

Jedan od važnijih a i veoma ljekovitih proizvoda kestena je i kestenov med. Karakterizira ga tamna boja koja varira ovisno o podneblju i godini, ima karakteristični gorki okus i prepoznatljiv, oštri miris. Bogat je mineralima, vitaminima (osobito B skupine), aminokiselinama, i jedan je od medova s najvećom količinom peludi. Kestenov med sadrži i do sto puta više peludnih zrnaca u odnosu na npr. bagremov med. Povoljno djeluje na probavni sustav na način da potiče rad crijeva, jetre, žuči, i štiti želučanu i crijevnu sluznicu te se iz tih razloga preporuča kod liječenja bolesti želuca, dvanaesnika, žuči i jetre (Anonymous 13, 2015). Izvanredno djelovanje ima u oporavku poslije operacije žuči i kod žutice. Također liječi i anemiju, jača imunitet i uklanja umor. Čajeve s medom od kestena treba uzimati nekoliko puta na dan i to 1-2 sata nakon jela. Također je koristan kod liječenja slabokrvnosti, kroničnih reumatskih bolesti, kožnih oboljenja, crijevnih oboljenja i hemeroida. Posebno su vrijedni pripravci za poboljšanje krvne cirkulacije, proširenih vena i natečenih nogu (Anonymous 14, 2015).

2.3. UGLJIKOHIDRATI

2.3.1. Svojstva i podjela ugljikohidrata

Ugljikohidrati čine veliku skupinu prirodnih spojeva a prema količini ugljikohidrati čine najveći dio organskih tvari na Zemlji. Pretežno su biljnog podrijetla, a osim toga su i sastavni dio hrane većine životinja te čovjeka. Osim što služe kao hrana i rezervne tvari, ugljikohidrati su ujedno i sastavni dio nukleinskih kiselina, služe kao potporne tvari (celuloza) a i stvaraju specifične grupe glikoproteina i glikolipida stanične membrane (Karlson, 1993). Ugljikohidrati se u prirodi nalaze u različitim oblicima, a dijele se u dvije velike skupine: - jednostavne i - složene ugljikohidrate.

Jednostavni ugljikohidrati su građeni od jedne ili dviju molekula ugljikohidrata. Dijelev se na monosaharide i disaharide. Najpoznatiji monosaharidi su glukoza (krvni šećer, dekstroza) i fruktoza (voćni šećer). Glukoza je, zajedno sa fruktozom, glavni sastojak meda. Slobodnu je, u većim količinama, nalazimo u voću, osobito u grožđu (groždani šećer) i povrću (crveni luk). Najčešći disaharidi su maltoza, saharoza i laktoza. Maltoza nastaje hidrolizom škroba. Obični stolni ugljikohidrat, saharoza (engl. sucrose), dobiva se iz šećerne trske ili šećerne repe. Tzv. „stolni“ ili „kuhinjski“ ugljikohidrat je najčešći i najpoznatiji disaharid koji se koristi u prehrani, a u maloj količini ga nalazimo i u nekom voću i povrću. Laktoza je

disaharid građen od molekule glukoze i galaktoze. Prisutan je samo u mlijeku, a drugdje ga nema u imalo značajnijim količinama (Stryer, 2007). Upravo kesten obiluje monosaharidima i disaharidima poput glukoze, saharoze, fruktoze, rafinoze (Botondi i sur., 2009).

Složeni ugljikohidrati se dijele na oligosaharide i polisaharide. Polisaharide čine dugi lanci jednostavnih povezanih molekula ugljikohidrata, a kraće lance složenih ugljikohidrata, koji su građeni od 3–10 molekula monosaharida (glukoze, fruktoze i galaktoze), nazivamo oligosaharidima. Polisaharidi nemaju sladak okus i ne daju uobičajene reakcije na monosaharide. Poznati prirodni polisaharidi su škrob, glikogen, celuloza i hitin. Celuloza raširena u biljnom svijetu te je praktički neprobavljiva pa je njena metabolička uloga zanemariva, dok je hitin jako srodan celulozi i služi za izgradnju. Škrob je biljna rezervna tvar koja je u većim količinama prisutna u sjemenkama (žito) i gomoljima (krumpir) u obliku škrobnih zrnaca. Građen je od amiloze, koja čini 20-30 % prirodnog škroba, te od amilopektina. Odnos amiloze i amilopektina nije uvijek isti jer zavisi o podrijetlu škroba (Karlson, 1993).

2.3.2. Metode određivanja ugljikohidrata

Obzirom da je maseni udio ugljikohidrata u hrani u nekim slučajevima propisan pravilnicima, kao kod meda, likera i vina, važno je odrediti točnu koncentraciju ugljikohidrata. Prvi koraci kod određivanja ugljikohidrata obuhvaćaju njihovu ekstrakciju iz hrane (ovisno o tipu hrane) i pročišćavanje ekstrakta koje ovisi o tipu analize koja se provodi. Ukoliko imamo čvrste, polučvrste ili npr. kremaste proizvode, nužna je ekstrakcija, dok kod homogenih tekućina (npr. vino, sokovi, mlijeko) ekstrakcija nije potrebna. Ugljikohidrati se u pročišćenom ekstraktu ili tekućem uzorku mogu odrediti fizikalnim, kemijskim, enzimskim, kromatografskim i imunološkim metodama.

U fizikalne metode ubrajaju se određivanje ugljikohidrata u otopinama temeljena na mjerenju gustoće, indeksa refrakcije, zakretanja linije polariziranog svjetla ili spektara u bliskom infracrvenom području. Mjerenje indeksa frakcije je brza i jednostavna metoda koja se najčešće primjenjuje za brzo (ali samo orijentacijsko) određivanje udjela ugljikohidrata u npr. moštu, sirupima, medu (vodena otopina), marmeladi itd. Mjerenje se vrši pomoću ručnih refraktometra, a funkcionira na način da se na optički dio refraktometra stavi par kapi otopine ugljikohidrata a zatim se u vidnom polju traži granična linija između svijetlog i tamnog dijela.

(Koprivnjak, 2014). Mjerenje gustoće otopine se vrši pomoću areometra, čija dubina uranjanja ovisi o temperaturi otopine ali i o koncentraciji ugljikohidrata (što je koncentracija veća, areometar je manje uronjen u otopinu). Mjeri se na način da se na skali areometra očitava vrijednost (iskazana u g L ili drugim jedinicama) do koje je areometar uronjen, a najčešće služi za određivanje ugljikohidrata u moštu, sokovima i pićima. Polarimetrijsko određivanje je metoda kod koje se, u praktičnoj primjeni, koncentracija ugljikohidrata računa na način da se očitane vrijednosti kuta zakretanja na polarimetru podijele sa specifičnim kutom zakretanja ugljikohidrata koji se određuje i duljinom puta zrake svjetlosti (duljina polarimetarske cijevi koja je napunjena otopinom ugljikohidrata). Ova metoda se smije koristiti samo kada imamo otopinu jednog ugljikohidrata čiji identitet znamo. Npr. u praksi se koristi za određivanje laktoze u serumu mlijeka (Koprivnjak, 2014).

Kemijskim metodama se koncentracija ugljikohidrata može odrediti kolorimetrijski, gravimetrijski i titrimetrijski. Kolorimetrijske metode se baziraju na kemijskoj reakciji ugljikohidrata sa različitim reagensima pri čemu se razvija karakteristično obojenje otopine, nakon čega se mjeri apsorbancija spektrofotometrijski. Tu pripada i metoda po Anthronu koju smo koristili u radu. Ona se temelji na reakciji ugljikohidrata iz uzorka sa Anthronovim reagensom čime nastaje kompleks zelenoplavog obojenja, kojemu se mjeri apsorbancija spektrofotometrijski pri 620 nm. Gravimetrijska metoda određivanja, poput one po Munson-Walkeru, temelji se na određivanju mase taloga Cu_2O koji nastaje u reakciji ugljikohidrata s komponentama Fehlingovog reagensa. Primjer titrimetrijskih metoda su metoda po Lane-Eynonu ili jodometrijska metoda po Luff-Schoorlu (Koprivnjak, 2014). Metoda po Lane-Eynonu se primjenjuje kod vina, seruma mlijeka i sličnih otopina reducirajućih ugljikohidrata, a provodi se na način da se npr. vinom titrira točan volumen Fehlingovih otopina A i B uz metilen plavo kao indikator, u stanju ključanja. U metodi po Luff-Schoorlu upotrebljava se Luffov reagens, koji je više specifičan za ugljikohidrate obzirom da reagira samo s aldozama i ketozama. Ono što je bitno je da ioni Cu^{2+} moraju u reakciji biti u suvišku da bi ih mogli odrediti jodometrijski. Isto tako se pomoću metoda po Munson-Walkeru, Lane-Eynonu te Luff-Schoorlu može odrediti udio nereducirajućeg ugljikohidrata saharoze, tako da se provede kiselinska hidroliza (npr. kloridnom kiselinom uz grijanje pri 70 °C) pri čemu nastaje invert.

Enzimske metode određivanja ugljikohidrata imaju visoku specifičnost za supstrat, tj. tvar koju se određuje. Riječ je o metodama koje koriste redukciju koenzima NAD^+ ili NADP^+ u NADH ili NADPH u enzimskoj reakciji. Obzirom da reducirani oblici koenzima pri 340 nm pokazuju jedan od maksimuma apsorpcije, a oksidirani oblici pri istoj valnoj duljini ne

apsorbiraju, možemo odrediti ukupnu količinu supstrata mjerenjem apsorbancije pri 340 nm. Odnos količine supstrata koji je ušao u reakciju i količine nastalog reduciranog oblika koenzima je stehiometrijski (Koprivnjak, 2014) .

Ukoliko želimo dobiti preciznije i više informacija o pojedinačnim ugljikohidratima i njihovim međusobnim interakcijama, koriste se kromatografske metode kao što su plinska, tankoslojna ili tekućinska kromatografija. Kod njih se razdvajanje pojedinih ugljikohidrata iz smjese temelji na njihovim međusobnim razlikama u polarnosti molekule, veličini molekule ili koeficijentu raspodjele između stacionarne i pokretne tekuće faze. Međutim, prilikom korištenja plinske kromatografije, hidroksilne skupine ugljikohidrata iz pročišćenog uzorka treba netom prije derivatizirati silirajućim reagensima, iz razloga što su silirani derivati hlapljiviji i termički stabilniji od ugljikohidrata. Upravo je zato prednost HPLC-a pred plinskom kromatografijom ta što ona ne zahtijeva derivatiziranje prije razdvajanja ugljikohidrata. Detekcija pojedinih ugljikohidrata se nakon provedene plinske kromatografije provodi pomoću plameno-ionizacijskog detektora, a nakon HPLC-a se u pravilu provodi mjerenjem indeksa refrakcije (Koprivnjak, 2014).

3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. MATERIJAL

3.1.1. Uzorci

7 uzoraka od tri francuska kultivara pitomog kestena: Maraval, Marsol i Bouche de Betizac, sakupljenih na području U.Š. Sisak.

3.1.2. Kemikalije

Sve korištene kemikalije bile su analitičke čistoće.

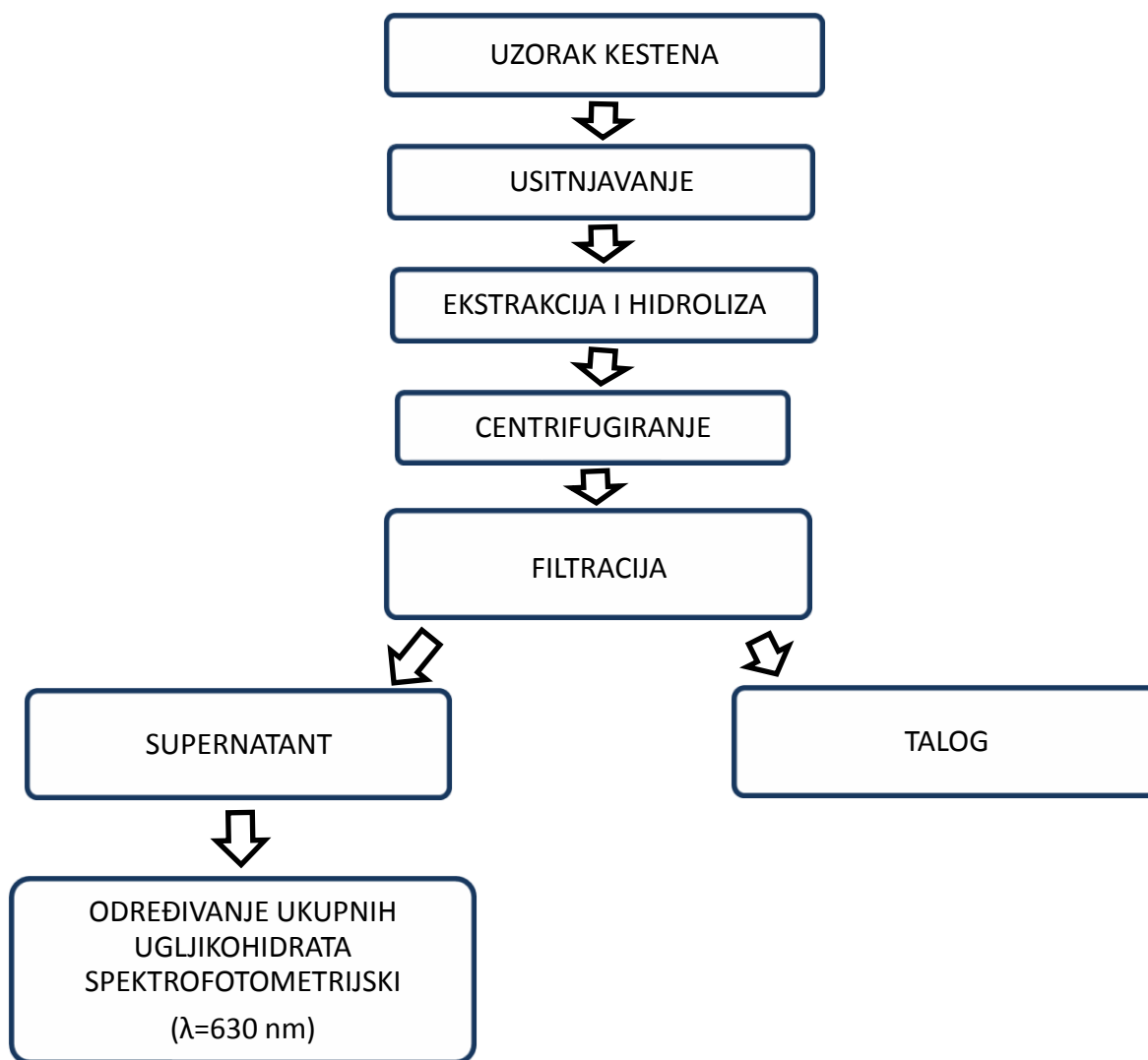
- Anthrone, Sigma
- Destilirana voda, PBF Zagreb
- Klorovodična kiselina, Kemika
- Natrijev karbonat, Sigma
- Sumporna kiselina, Kemika

3.1.3. Oprema

- laboratorijsko posuđe
- laboratorijska centrifuga, Hettich Zentrifugen, ROTOFIX 32
- vodena kupelj, Vamlab Limited, tip SUB 14
- vaga analitička, Kern
- UV/VIS spektrofotometar, Helios γ v 7.03

3.2. Metode rada

Shema eksperimentalnog rada prikazana je na slici 7.



Slika 7. Shema eksperimentalnog rada određivanja ugljikohidrata u plodu kestena

3.2.1. Priprema otopina za provođenje analize

Za pripremu Anthrona potrebno je u tikvici od 50 mL otopiti 100 mg Anthrona u 50 mL 95%-tnoj sulfatne kiseline te nadopuniti do oznake.

3.2.2. Priprema biljnog materijala te ekstrakcija ugljikohidrata

Uzorci kestena (2 g) homogeniziraju se u tarioniku sa 10 mL destilirane vode te se provede ekstrakcija zagrijavanjem uzoraka u vodenoj kupelji pri 85 °C te se provede hidroliza s 5 mL

HCl (2,5 M) i ponovi kuhanje, ali ovaj put u trajanju od 3 sata. Nakon toga ekstrakt se neutralizira dodatkom Na_2CO_3 pri čemu je prestanak pjenjenja označavao kraj reakcije. Ekstrakti se centrifugiraju, a supernatant se oddekantira u odmjernu tikvicu od 10 mL preko filter papira i nadopuni do oznake destiliranom vodom. Prije mjerenja potrebno je uzorke razrijediti 400 puta.

3.2.3. Postupak mjerenja

Dobivenom volumenu ekstrakta uzorka od 0,5 mL se doda 2 mL otopine Anthrona te se zagrijava u vrućoj vodenoj kupelji tijekom 10 min, pri čemu se razvije zelena boja čiji intenzitet ovisi o masenoj koncentraciji topljivih ugljikohidrata. Zatim se provodi hlađenje na ledu i mjeri apsorbancija pri 630 nm.

3.2.4. Izrada baždarnog pravca

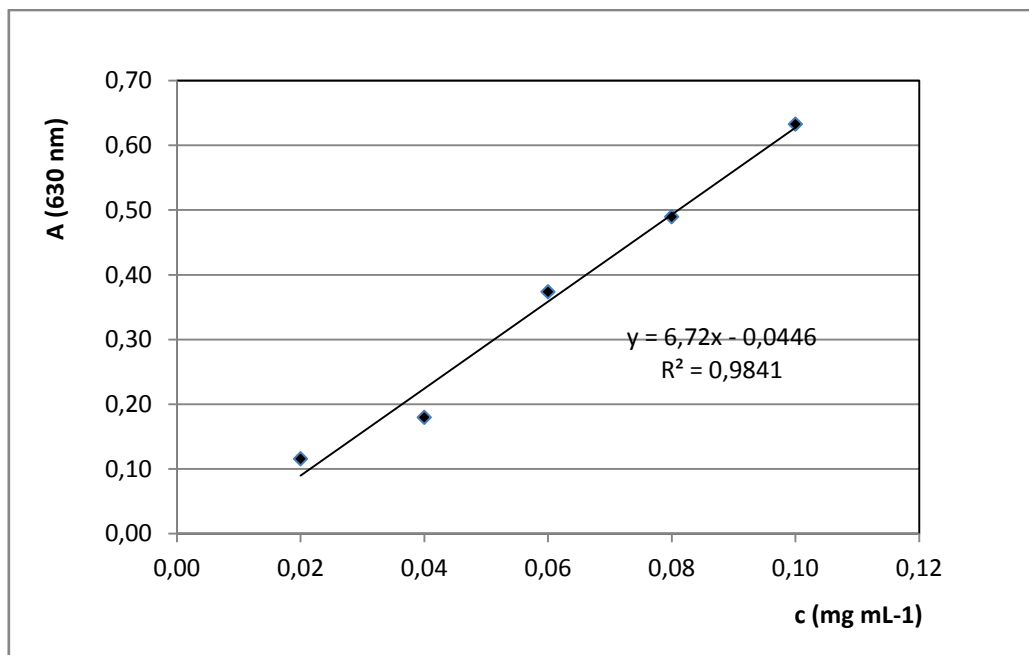
Otopina glukoze mase koncentracije $x \text{ mg mL}^{-1}$ pripremi se otapanjem 100 mg glukoze u 100 mL destilirane vode. Iz tako pripremljene otopine, naprave se razrjeđenja osnovne otopine glukoze do masene koncentracije od 0,02, 0,04, 0,06, 0,08, 0,1 mg mL^{-1} . Slijedi isti postupak kao za mjerenje uzoraka, osim što se umjesto ekstrakta doda pripremljena, razrijeđena otopina. Izmjerene vrijednosti apsorbancije uzoraka nanese se na ordinatu koordinatnog sustava, dok se masene koncentracije glukoze (mg mL^{-1}) nanese na apscisu. Pomoću računala se nacrtava baždarni pravac. Prema dobivenoj jednadžbi pravca izračuna se udio ukupnih ugljikohidrata u uzorcima ploda kestena.

4. REZULTATI I RASPRAVA

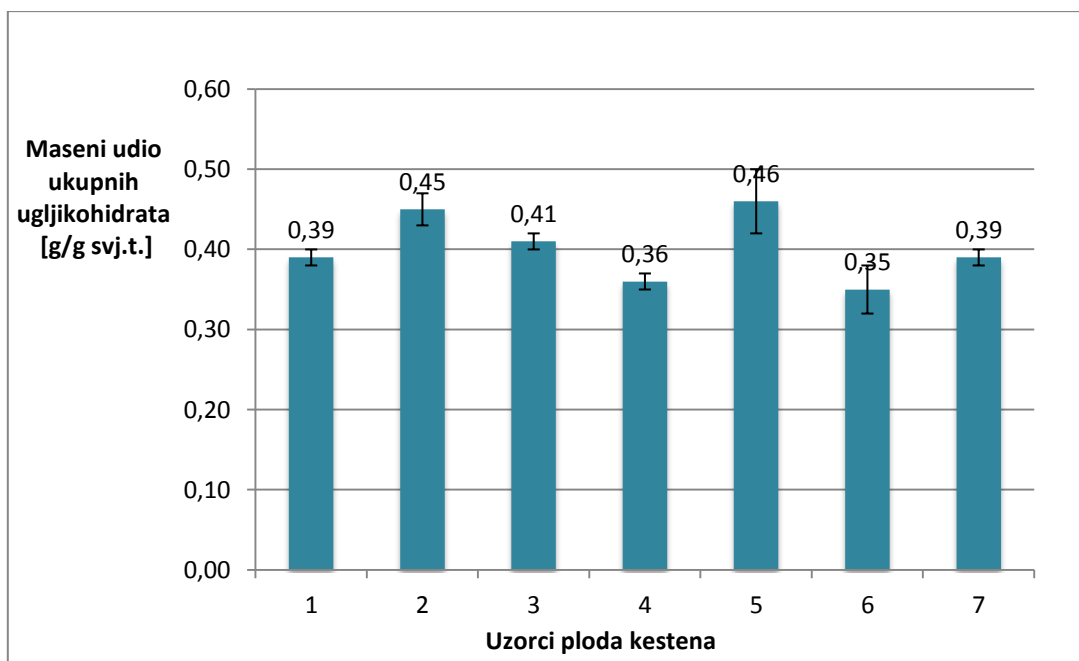
Cilj ovog rada je bila analiza ukupnih ugljikohidrata u 7 uzoraka poloda kestena od tri francuska kultivara pitomog kestena: Maraval, Marsol i Bouche de Betizac sakupljenih na području U.Š. Sisak. Za određivanje koncentracije ukupnih ugljikohidrata u uzorcima, koristili smo kolorimetrijsku metodu po Anthronu.

Metoda po Anthronu je kemijska metoda koja se temelji na reakciji ugljikohidrata iz uzorka sa Anthronovim reagensom kuhanjem u kiseloj sredini (dodatkom H_2SO_4 dolazi do hidrolize složenih ugljikohidrata sve do glukoze), čime nastaje kompleks zelenoplavog obojenja, kojemu se nakon hlađenja mjeri apsorbancija spektrofotometrijski pri 620 nm. Na ovaj način se, zahvaljujući snažnom oksidacijskom učinku H_2SO_4 , mogu obuhvatiti reducirajući i nereducirajući ugljikohidrati (Koprivnjak, 2014). Općenito, reduksijske metode vrlo su nespecifične, a na rezultat može utjecati i niz dodatnih čimbenika (koncentracija reagensa, pH otopine, koncentracija i vrsta ugljikohidrata u uzorku, trajanje reakcije i dr.), u provedbi analize potrebno je striktno se držati propisanog postupka.

Rezultati mjerenja izraženi su u g po gramu svježe tvari uzorka. Standardne otopine glukoze za baždarni pravac pripravljene su otapanjem glukoza monohidrata tako da se dobije željeno područje koncentracija. Na temelju apsorbancija standardnih otopina, izrađen je baždarni pravac za određivanje koncentracije ukupnih topljivih ugljikohidrata u uzorcima, izraženih kao ekvivalent glukoze. Baždarni dijagram glukoze prikazan je na slici 8., dok su rezultati mjerenja prikazani na slici 9.



Slika 8. Baždarni dijagram glukoze



Slika 9. Rezultati analize ukupnih ugljikohidrata u 7 uzorka ploda kestena*

* Rezultati su prosjek četiri usporednih određivanja $\pm$ standardna devijacija

** svj.t. – svježa tvar

Iz dobivenih podataka može se vidjeti da se udio ugljikohidrata kreće se u rasponu od $0,35 \pm 0,03$ do $0,46 \pm 0,04$ g g⁻¹ svj.t., pri čemu je najmanji udio zabilježen kod uzoraka 4 i 6, a najveće koncentracije imaju uzorci 2 i 5 (slika 9). Dobiveni udjeli u skladu su sa literaturnim podacima. Jedan od glavnih sastojaka ploda kestena su ugljikohidrati te čine i do 42 % kemijskog sastava, koji se lako može usporediti sa onim sastavom kod žitarica. Kesten obiluje mono- i disaharidima poput glukoze, fruktoze, saharoze, rafinoze te je bogat škrobom (Botondi i sur., 2009).

Ugljikohidrati se u pročišćenom ekstraktu ili tekućem uzorku mogu odrediti fizikalnim, kemijskim, kromatografskim, enzimskim i imunološkim metodama. Fizikalne i kemijske metode su uglavnom pogodne za određivanje ukupnih ugljikohidrata za razliku od kromatografskih i enzimskih metoda pomoću kojih je moguće dobiti informaciju o pojedinačnim spojevima. Tako enzimске metode određivanja ugljikohidrata imaju visoku specifičnost za supstrat, tj. tvar koju se određuje, kod kromatografskih metoda moguće je razdvojiti smjesu ugljikohidrata te provesti identifikaciju i kvantificirati prisutne spojeve (Koprivnjak, 2014). U ovom radu primijenjena metoda pokazala se relativno uspješnom, no preporuča se korištenje drugih, dodatnih metoda kao što je tekućinska kromatografija visoke djelotvornosti (HPLC) radi preciznijeg određivanja udjela pojedinih ugljikohidrata.

5. ZAKLJUČAK

Određivanje ukupnog udjela ugljikohidrata u plodu kestena provedeno je kemijskom metodom po Anthronu. Nakon provedene analize 7 uzoraka ploda kestena, može se zaključiti:

1. Udio ugljikohidrata u plodovima kestena bio je u rasponu od $0,35 \pm 0,03$ do $0,46 \pm 0,04 \text{ g g}^{-1}$ svj.t., pri čemu je najmanja koncentracija zabilježena kod uzoraka 4 i 6, a najveće koncentracije imaju u uzorci 2 i 5.
2. Dobiveni rezultati su u skladu sa literaturnim podacima, a primijenjena se metoda pokazala uspješnom
3. U svrhu preciznijeg određivanja udjela reducirajućih i nereducirajućih ugljikohidrata te njihovo razdjeljivanje i identifikaciju, preporuča se korištenje drugih metoda poput metode tekućinske kromatografija visoke djelotvornosti (HPLC).

6. LITERATURA

Anonymous 1 (2015) <<http://www.agroklub.com/sortna-lista/voce/kesten-9/>>. Pristupljeno 10. Srpnja 2015.

Anonymous 2 (2015) < <http://www.vasezdravlje.com/izdanje/clanak/1172/>>. Pristupljeno 10. Srpnja 2015.

Anonymous 3 (2015) <http://www.mavmrasadnik.com/pitomi-kesten>>. Pristupljeno 10. Srpnja 2015.

Anonymous 4 (2015)
<https://en.wikipedia.org/wiki/American_chestnut#/media/File:American_Chestnut.JPG>. Pristupljeno 10. Srpnja 2015.

Anonymous 5 (2015) Plod pitomog japanskog kesten, <<http://eol.org/pages/1148515/overview>>. Pristupljeno 10. Srpnja 2015.

Anonymous 6 (2015)
<http://www.eppo.int/QUARANTINE/fungi/Cryphonectria_parasitica/ENDOPA_images.htm>. Pristupljeno 10. Srpnja 2015.

Anonymous 7 (2015) <<https://www.fitness.com.hr/prehrana/nutricionizam/Orasasto-voce.aspx>>. Pristupljeno 14. Srpnja 2015.

Anonymous 8, 2015 <<http://www.agroklub.com/sortna-lista/voce/kesten-9/>>. Pristupljeno 15. Srpnja 2015.

Anonymous 9 (2015) <<http://www.info-ks.net/lifestyle/hrana/37563/pet-razloga-da-pocnete-jesti-kestene>>. Pristupljeno 15. Srpnja 2015.

Anonymous 10 (2015) < <http://alternativa-za-vas.com/index.php/clanak/article/kesten1>>. Pristupljeno 17. Srpnja 2015.

Anonymous 11 (2015) < <http://www.agricola.kapelica.com.hr/?p=104>>. Pristupljeno 15. Srpnja 2015.

Anonymous 12 (2015) <<http://www.vasezdravlje.com/izdanje/clanak/1172/>>. Pristupljeno 15. Srpnja 2015.

Anonymous 13 (2015) <<http://www.pdbistra.hr/proizvodi/med/>>. Pristupljeno 15. Srpnja 2015.

Anonymous 14 (2015).< <http://www.pcelarsko-drustvo-trogir.hr/pcelinji-proizvodi/med/>>. Pristupljeno 15. Srpnja 2015.

- Borges, O., Goncalves, B., Sociro de Carvalho, J.L., Correia, P., Silva, A.P. (2008) Nutritional quality of chestnut (*Castanea sativa* Mill.) cultivars from Portugal. *Food Chem.* **106**, 976-984.
- Botondi, R., Vailati, M., Bellincontro, A., Massantini, R., Forniti, R., Mencarelli, F. (2009) Technological parameters of water curing affect postharvest physiology and storage of marrons (*Castanea sativa* Mill., Marrone fiorentino). *Postharvest Biol. Tec.* **51**, 97-103.
- Brodarec, A. (1967) Tablice o sastavu i prehrabenoj vrijednosti namirnica i pića, 3.izd., Zavod za zaštitu zdravlja SR Hrvatske, Zagreb.
- Diaz Reinoso, B., Couto, D., Moure, A., Fernandes, E., Dominguez, H., Parajó, J.C. (2012) Optimization of antioxidants – Extraction from *Castanea sativa* leaves. *Chem. Eng. J.* **203**, 101-109.
- Fernandez-Lopez J., A Fernandez-Lopez J., Alia, R. (2003). EUFORGEN Technical Guidelines for genetic conservation and use for chestnut (*Castanea sativa*). International Plant Genetic Resources Institute, Rome.
- FAO (2011) Food and Agriculture Organization <<http://www.fao.org/home/en/>>. Pristupljeno 12. Srpnja 2015.
- FAO (2001). Fabio Mencarelli: Postharvest handling and storage of chestnuts. <<http://www.fao.org/docrep/006/AC645E/AC645E00.HTM>>. Pristupljeno 12. Srpnja 2015.
- Franjić, J., Škvorc, Ž. (2010) Šumsko drveće i grmlje Hrvatske, Sveučilište u Zagrebu, Šumarski fakultet, Zagreb.
- Goncalves, B., Borges, O., Soares Costa, H., Bennett, R., Santos, M., Silva, A.P. (2010) Metabolite composition of chestnut (*Castanea sativa* Mill.) upon cooking: Proximate analysis, fibre, organic acids and phenolics. *Food Chem.* **122**, 154-160.
- Hunt K., Michael G., William R., Michele W. (2012) Growing Chinese Chestnuts in Missouri, University of Missouri Center for Agroforestry, Missouri
- Idžojtić, M., J. Medak, I. Poljak, M. Zebec, B. Tutić, 2010: Slijedeći tragove pitomog kestena (*Castanea* spp.) – Uzgoj i kultura, folklor i povijest, tradicija i korištenje. *Šum. list*, **134** (5–6): 294–300.
- Idžojtić M., I. Poljak, M. Zebec, Z. Šatović, Z. Liber (2012) Analiza genetske raznolikosti „Lovranskog maruna“ (*Castanea sativa* Mill.) korištenjem mikrosatelitnih biljega. *Šum. list*. **136**, 11-12.
- Kaić-Rak, A., Antonić, K. (1990) Tablice o sastavu namirnica i pića, Zavod za zaštitu zdravlja SR Hrvatske, Zagreb.

- Karlson, P., (1993) Biokemija, 8.izd., Školska knjiga, Zagreb.
- Koprivnjak, O. (2014) Kvaliteta, sigurnost i konzerviranje hrane, 1.izd., Sveučilište u Rijeci, Rijeka.
- Künsch U, Schärer H, Patrian B, Höhn E, Conedera M, Sassella A, Jermini M, Jelmini G. (2001) Effects of roasting on chemical composition and quality of different chestnut (*Castanea sativa* Mill) varieties. *J. Sci. Food Agr.* **81**, 1106-1112.
- Miličević T. (2007). Bolesti pitomog kestena. *Gosp. list.* **22** (8-10).
- Neri, L., Dimitri, G., Sacchetti, G. (2010) Chemical composition and antioxidant activity of cured chestnuts from three sweet chestnut (*Castanea sativa* Mill.) ecotypes from Italy. *J. Food Compos. Anal.* **23**, 23-29.
- Novak Agbaba S., Čelepirović N., Čurković Perica M. (2011). Zaštita šuma pitomog kestena. *Šumar. list* **202**, 210-17.
- Novak Agbaba S., Liović B., Medak J., Slade D. (2005). Chestnut research in Croatia. *Acta Hort.* **693**, 49-54.
- Novak Agbaba S., Liović B., Pernek M. (2000). Prikaz sastojina pitomog kestena (*Castanea sativa* Mill.) u Hrvatskoj i zastupljenost hipovirulentnih sojeva gljive *Cryphonectria parasitica* (Murr.) Barr. *Rad. Šumar. Inst.* **35**, 91-110
- Pereira-Lorenzo, S., Ramos-Cabrera, A.M., Dian, M.B., Ciordia-Ara, M., Rió, D. (2006) Chemical composition of chestnut cultivars from Spain. *Sci. Hortic.* **107**. 306-314.
- Perez-Jimenez, J., Neveu, V., Vos, F., Scalbert, A. (2010) Identification of the 100 richest dietary sources of polyphenols: An application of the Phenol-Explorer database. *Eur. J. Clin. Nutr.* **64**, 112-120.
- Potočić, Z. (1987) Šumarska enciklopedija, 2.izd., Leksikografski zavod Miroslav Krleža, Zagreb.
- Skupština Istarske županije (2011). Stanje i perspektiva uzgoja pitomog kestena u Istri. [.<http://www.istraistria.hr/fileadmin/dokumenti/novosti/sjednice_skupstine_2009/24/24-06.pdf>](http://www.istraistria.hr/fileadmin/dokumenti/novosti/sjednice_skupstine_2009/24/24-06.pdf). Pristupljeno 10. Srpnja 2015.
- Stryer, L., Jeremy M. Berg, John L. Tymoczko (2007) Biochemistry, 6th ed., W. H. Freeman and Company, New York.

Survase, S.A., Bajaj, I.B., Singhal, R.S. (2006) Biotechnological production of vitamins. *Food Technol. Biotechnol.* **44**, 381-396.

Tomić I. (2010). Pitomi kesten (Castanea). Hrvatske šume. **161**; 23-25.
<<http://www.scribd.com/doc/54265937/Pitomi-kesten>>. Pristupljeno 13. Srpnja 2015.

Tošić, M. (1967) Kesten. Poljoprivredna enciklopedija 1, A-Kre, Leksikografski zavod, Zagreb.