Nutritivni sastav češnjaka (Allium sativum L.) iz ekološkog i konvencionalnog uzgoja

Franjić, Antonija

Master's thesis / Diplomski rad

2017

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

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:204:029465

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-29**

Repository / Repozitorij:

Repository Faculty of Agriculture University of Zagreb

zir.nsk.hr

DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJI

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
AGRONOMSKI FAKULTET

Antonija Franjić

NUTRITIVNI SASTAV ČEŠNJAKA (*Allium sativum* L.) IZ EKOLOŠKOG I KONVENCIONALNOG UZGOJA

Diplomski rad

Zagreb, 2017.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
AGRONOMSKI FAKULTET
Hortikultura – Povrćarstvo

Antonija Franjić

NUTRITIVNI SASTAV ČEŠNJAKA (*Allium sativum* L.) IZ EKOLOŠKOG I KONVENCIONALNOG UZGOJA

Diplomski rad

Mentorica: izv. prof. dr. sc. Sandra Voća
Neposredna voditeljica: doc. dr. sc. Jana Šic Žlabur

Zagreb, 2017.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
AGRONOMSKI FAKULTET

IZJAVA STUDENTA
O AKADEMSKOJ ČESTITOSTI

Ja, **Antonija Franjić**, JMBAG 0178103535, rođena dana 24.08.1992. u Splitu, izjavljujem da sam samostalno izradila diplomski rad pod naslovom:

NUTRITIVNI SASTAV ČEŠNJAKA (ALLIUM SATIVUM L.) IZ EKOLOŠKOG I KONVENCIONALNOG UZGOJA

Svojim potpisom jamčim:

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

U Zagrebu, dana _____ _____

Potpis studenta / studentice

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
AGRONOMSKI FAKULTET

IZVJEŠĆE

O OCJENI I OBRANI DIPLOMSKOG RADA

Diplomski rad studentice **Antonije Franjić**, JMBAG 0178103535, naslova

NUTRITIVNI SASTAV ČEŠNJAKA (ALLIUM SATIVUM L.) IZ EKOLOŠKOG I KONVENCIONALNOG UZGOJA

obranjen je i ocijenjen ocjenom _____ , dana _____ .

Povjerenstvo:			potpisi:
1.	izv. prof. dr. sc. Sandra Voća	mentor	_____
	doc. dr. sc. Jana Šic Žlabur	neposredni voditelj	_____
2.	prof. dr. sc. Nadica Dobričević	član	_____
3.	doc. dr. sc. Sanja Fabek Uher	član	_____

ZAHVALA

Za bezuvjetnu podršku i oslonac tijekom svih godina studiranja zahvaljujem se majci Kati, ocu Ivanu, sestrama Ilijani, Katarini i Mariji, bratu Anti, baki Kati, tetki Ruži i mojoj Mihaeli.

Zahvaljujem svim prijateljima i kolegama koji su bili uz mene i omogućili lakše i zabavnije studiranje.

Zahvaljujem se mentorici izv. prof. dr. sc. Sandri Voća. Posebno hvala doc. dr. sc. Jani Šic Žlabur na stručnom vođenju, mnogobrojnim savjetima, razumijevanju, iznimnom strpljenju i predanosti te davanju smjernica i pomoći prilikom izrade Diplomskog rada.

Zahvaljujem svim suradnicima i zaposlenicima Zavoda za poljoprivrednu tehnologiju, skladištenje i transport na nesebičnoj i stručnoj pomoći.

Najveća hvala i slava Gospodinu za sve što mi je u životu pružio.

Sadržaj

Sažetak 1

Summary 2

1. UVOD 3

2. PREGLED LITERATURE 4

2.1. Povijest i podrijetlo češnjaka 4

2.2. Morfološka i biološka svojstva 5

2.3. Kultivari češnjaka 7

2.4. Tlo, klima i proizvodna područja 7

2.5. Uzgoj češnjaka 8

2.6. Bolesti i štetnici češnjaka 10

2.7. Prehrambena vrijednost i ljekovita svojstva češnjaka 11

2.8. Bioaktivne komponente češnjaka 12

2.8.1. Fenolni spojevi 12

2.8.2. Askorbinska kiselina 14

2.8.3. Antioksidacijski kapacitet 15

3. MATERIJAL I METODE ISTRAŽIVANJA 17

3.1. Materijali rada 17

3.2. Metode rada 19

3.2.1. Određivanje ukupne suhe tvari 19

3.2.2. Određivanje topljive suhe tvari 20

3.2.3. Određivanje ukupnih kiselina 20

3.2.4. Određivanje pH vrijednosti 21

3.2.5. Određivanje L-askrobinske kiseline 21

3.2.6. Određivanje ukupnih fenola 22

3.2.7. Određivanje flavonoida i neflavonoida 24

3.2.8. Određivanje antioksidacijskog kapaciteta ABTS metodom 25

3.2.9. Statistička obrada podataka 27

4. REZULTATI RADA I RASPRAVA 28

4.1. Osnovni kemijski sastav češnjaka 28

4.2. Sadržaj vitamina C u češnjaku 29
4.3. Sadržaj ukupnih fenola, flavonoida i neflavonoida u češnjaku 30
4.4. Antioksidacijski kapacitet češnjaka 31
5. ZAKLJUČAK 32
6. POPIS LITERATURE 33
ŽIVOTOPIS AUTORA 38

Sažetak

Diplomskog rada studenice **Antonije Franjić**, naslova

NUTRITIVNI SASTAV ČEŠNJAKA (ALLIUM SATIVUM L.) IZ EKOLOŠKOG I KONVENCIONALNOG UZGOJA

Češnjak (*Allium sativum* L.) je jedna od najpopularnijih vrsta iz porodice lukova koja sadrži brojne biološki aktivne tvari, uključujući minerale, vitamine, aminokiseline i polifenolne spojeve koji pokazuju značajnu antioksidacijsku aktivnost. Na nutritivna svojstva i sadržaj bioaktivnih komponenata utječu klimatski uvjeti, ekotip i način uzgoja, a češnjak iz ekološkog uzgoja smatra se nutritivno kvalitetnijim u odnosu na češnjak iz konvencionalnog uzgoja.

Glavni cilj ovog diplomskog rada bio je utvrditi razlike u kemijskom i nutritivnom sastavu lukovica češnjaka porijeklom iz ekološkog i konvencionalnog uzgoja. U svrhu utvrđivanja nutritivnog sastava provedene su sljedeće analize: sadržaj suhe tvari (%), sadržaj topljive suhe tvari (%), sadržaj ukupnih kiselina (%), pH- vrijednost, sadržaj vitamina C (mg/100 g svježe tvari), sadržaj ukupnih fenola: flavonoida i neflavonoida (mg GAE/100 g svježe tvari) i antioksidacijski kapacitet.

Temeljem dobivenih rezultata može se zaključiti kako češnjak iz ekološkog uzgoja pokazuje značajno veću nutirtivnu kvalitetu posebice u sadržaju fenolnih spojeva i vitamina C.

Ključne riječi: češnjak, ekološki uzgoj, vitamin C, polifenoli, antioksidacijski kapacitet

Summary

Of the master's thesis – student **Antonija Franjić,** entitled

NUTRIENT COMPOSITION OF GARLIC FROM ORGANIC AND CONVENTIONAL BREEDING

Garlic (*Allium sativum L.*) is one of the most popular species of onions which contains many biologically active substances including minerals, vitamins, amino acids, and polyphenolic compounds that exhibit significant antioxidant activity. The nutritional properties and the content of bioactive components are influenced by climatic conditions, ecotype and production method, and ecological garlic is considered nutritionally superior than garlic from conventional production.

The main objective of this thesis was to analyze the nutritional composition of garlic bulbs which is orginating from ecological and conventionalproduction. Following chemical analysis, in purpose of determining nutritional composition, was conducted: dry matter content (%), soluble dry matter content (%), total acidity content (%), pH-value, vitamin C content (mg/100g), total phenols content: flavonoids and noflavonoids (mgGAE/100 g) and antioxidant capacity.

Based on the obtained results it can be concluded that garlic which is orginating from ecological breeding shows a significantly higher nutritional quality, especially in the content of phenolic compounds and vitamin C.

Key words: garlic, ecological production, vitamin C, polyphenol, antioxidant capacity

1. UVOD

Češnjak (*Allium sativum* L.) je jedna od najpopularnijih vrsta iz porodice lukova. Ističe se mnogobrojnim ljekovitim svojstvima te blagotvorno djeluje kod brojnih oboljenja. Sadrži brojne biološki aktivne tvari, uključujući minerale, vitamine, aminokiseline i polifenolne spojeve značajne antioksidacijske aktivnosti (Lešić i sur., 2004).

Svoju veliku popularnost češnjak je stekao prvenstveno zbog snažnih ljekovitih svojstava koja se najviše pripisuju alicinu. Alicin, spoj iz skupine organskih sumpornih spojeva odgovoran je za snažan, oštar miris češnjaka, izraženih je antioksidativnih, antibakterijskih i antifungalnih svojstava te je učinkovit u inhibiciji rasta stanica tumora (Amagase i sur., 2001; Bianchini i Vainio, 2001; Rainy i sur., 2014).

Osim alicina, češnjak se ističe po bogatom sadržaju ostalih biološki aktivnih tvari od minerala (posebice magnezija, cinka, selena), vitamina (C, A, B- kompleksa), polifenolnih spojeva uključujući fenolne kiseline i flavonoide do polisaharida i proteina (Amagase i sur., 2001; Parađiković, 2009; Drozd i sur., 2011; Rainy i sur., 2014).

Na nutritivna svojstva i sadržaj bioaktivnih komponenata utječu klimatski uvjeti, ekotip i način uzgoja. S toga je glavni cilj ovog rada bio utvrditi razlike u kemijskom i nutritivnom sastavu lukovica češnjaka porijeklom iz ekološkog i konvencionalnog uzgoja. Način uzgoja uključuje niz agrotehničkih mjera (gnojidbu, rok berbe, opskrbu vodom i ostale), a koje se značajno razlikuju u konvencionalnom i ekološkom uzgoju. Naime, ekološki uzgoj pretpostavlja zabranu uporabe kemijskih pesticida kao i razumno, umjereno korištenje gnojiva uz izbjegavanje mineralnih gnojiva i njihovu zamjenu gnojivom organskog podrijetla. Znanstvena istraživanja dokazala su kako sirovina iz organskog uzgoja pokazuje značajno bolji nutritivni sastav od one koja je proizvedena u konvencionalnom uzgoju (Worthington, 2001).

2. PREGLED LITERATURE

2.1. Povijest i podrijetlo češnjaka

Češnjak (*Allium sativum* L.) poznat i pod nazivom bijeli luk, uzgaja se u kulturi već više od 4000 godina. Začinska je biljka iz porodice *Alliaceae* te je srodan luku, poriluku i vlascu (Tablica 1). Svoje latinsko ime dobio je po najznačajnijem sastojku, alicinu. Stručnjaci smatraju da se sorte češnjaka koje se danas uzgajaju ne razlikuju bitno od primitivnih oblika iz daleke prošlosti (Lešić i sur., 2004).

Tablica 1. Sistematika češnjaka (*Allium sativum* L.) (Parađiković, 2009)

TAKSONOMIJA	
CARSTVO	*Plantae*
PODCARSTVO	*Magnoliophyta*
RAZRED	*Liliopsida*
RED	*Asparagales*
PORODICA	*Alliaceae*
ROD	*Allium*
VRSTA	*Allium sativum* L.

Kao i većina kultiviranih lukovica, češnjak potječe iz središnje Azije, odakle se proširio po cijelom svijetu. U ostalim dijelovima svijeta, u Egiptu, zemljama Bliskog istoka i u južnoj Europi također je bio poznat još prije Krista. Do nedavna se smatralo da je već u davnoj prošlosti izgubio sposobnost generativnog umnažanja (Lešić i sur., 2004).

Sumerani su aktivno iskorištavali ljekovita svojstva češnjaka (2600 - 2100. pr. Kr.) i vjeruje se da su oni donijeli češnjak u Kinu odakle se kasnije proširio po Japanu i Koreji. Egipatske grobnice su najstariji vidljivi zapisi korištenja češnjaka. Arheolozi su otkrili lukovice češnjaka u piramidama te je i najmlađi faraon Tutankamon (1320. godine pr. Kr.) bio poslan u svoj zagrobni život u pratnji češnjaka kao zaštitnika duše i bogatstva (Parađiković i sur., 2009).

Češnjak se u svijetu uzgaja na površini od gotovo milijun hektara. Polovica ukupnih površina nalazi se u Kini. Godišnje se u svijetu proizvede oko 10 milijuna tona češnjaka od čega gotovo dvije trećine u Kini. U Europi, češnjak se proizvodi na 125 tisuća ha uz prosječni prinos od 5,7 t/ha. Najveći proizvođač je Španjolska s 26 tisuća hektara. U Republici Hrvatskoj

u 2015. godini češnjak se uzgajao na površini od 1.174 ha s ukupnom proizvodnjom od 30 838 tona i prinosom od 26,3 t/ha (Statistički ljetopis, 2016). Zahvaljujući velikoj prilagodljivosti, češnjak se proizvodi u cijeloj zemlji, ali pretežno na malim površinama za vlastite potrebe i lokalna tržišta. U Slavoniji i Baranji i na kraškim poljima u dalmatinskom zaleđu, uzgoj češnjaka ima dugogodišnju tradiciju, a uvođenjem boljih bezvirusnih kultivara, ta bi se proizvodnja mogla povećati i predstavljati značajan izvor prihoda domicilnog stanovništva te prerađivačkih kapaciteta za sušenje i farmaceutsku industriju (Lešić i sur., 2004; Parađiković i sur., 2009).

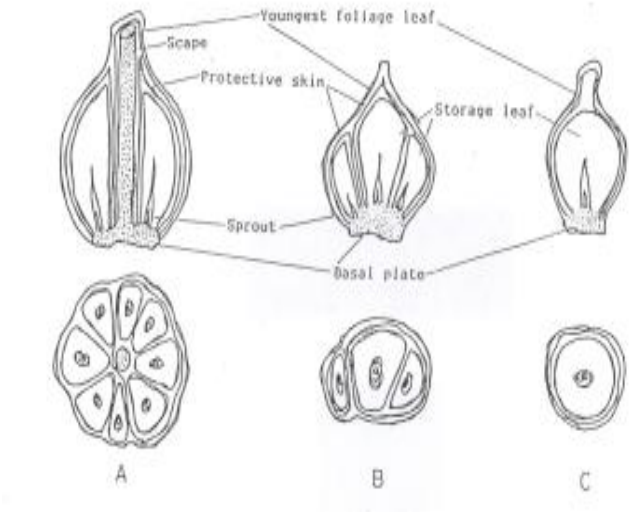
2.2. Morfološka i biološka svojstva

Češnjak je povrtna kultura visine od 35 do 90 cm (Slika 1). Velika većina ekotipova i kultivara češnjaka koji se uzgajaju diljem svijeta ne cvatu i ne donose sjeme. Razmnožavaju se isključivo vegetativno, stoga oni predstavljaju klonove. Korijen češnjaka je žiličast, pretežno se razvija adventivno korijenje koje se nalazi u sloju do 30 cm dubine. Lukovica češnjaka po svojoj građi je reproduktivni organ. Lukovica je jajastog ili spljoštenog oblika, sastavljena od 10 do 20 češnjeva, koji su obavijeni čvrstom bijelom ili zelenkastom ljuskom, a svaki češanj posebnom bjelkastom, crvenkastom ili ljubičastom opnom. Nakon sadnje iz zametka stabljike razvije se slabo adventivno korijenje, koje se prostire u površinskom sloju tla (Lešić i sur., 2004; Parađiković, 2009).



Slika 1. Prikaz biljke češnjaka (Parađiković, 2009)

Stabljika je uspravna, a u donjoj polovici nosi dugačke, linearne listove. Na vrhu stabljike razvija se okruglast cvat, sastavljen od malog broja cvjetova i 20 do 35 rasplodnih pupova. Unutar češnja nalazi se klica koja je sačinjena od 2 do 3 zametnuta lista. Prvi je list bez plojke, dok se sljedeći sastoje od lisnog rukavca i linearne plojke. Lisni rukavci formiraju „lažnu stabljiku“ (Lešić i sur., 2004; Parađiković, 2009). Biljka tijekom rasta razvije 10 do 12 listova. Pri završetku rasta listova, u pazuhu najmlađeg lista, zametne se jedan pup, a na listovima ispod njega do 4. lista po 1 do 6 pupova, a zatim se broj zametnutih pupova smanjuje što su listovi stariji. Najstariji listovi nemaju pupova. Premještanjem asimilata iz lišća pupovi sve više rastu i formiraju češnjeve (Slika 2). Češnjevi se sastoje od vanjske čvrste ovojnice, parenhimskog tkiva i klice. U standardnoj lukovici može biti 12 do 20 češnjeva koji oblikom podsjećaju na polumjesec. Ako se sade vrlo sitni češnjevi, može se razviti samo jedan pup, odnosno češanj okruglog oblika (Block, 1985).



Slika 2. Građa lukovice i češnja (Izvor: Parađiković, 2009)

Neki ekotipovi češnjaka razviju cvjetnu stabljiku koja može narasti od 70 do 100 cm i na vrhu nosi zračne češnjiće, te po nekoliko sterilnih cvjetova koji su u početku obavijeni ovojnim listom. Iz zračnih češnjića mogu se razviti nove biljke, ali one razviju sitnu lukovicu sa samo jednim češnjem ili nekoliko sitnih češnjeva (Lešić i sur., 2004; Parađiković, 2009). Biljka češnjaka otporna je na niske temperature, stoga može dobro prezimiti i u kontinentalnom području. Ipak, postoje kultivari koji su osjetljivi i na niske temperature. Tijekom vegetacije rast lukovice pospješuju više temperature i duži dan. Za zriobu lukovice najpovoljnije su temperature više od 25 °C (Lešić i sur., 2004).

2.3. Kultivari češnjaka

Većina kultivara češnjaka dobivena je klonskom selekcijom lokalnih ekotipova. Kultivari se mogu podijeliti u 3 osnovne grupe:

- JESENSKI (OZIMI) – sadi se u jesen, prezimljuje, te u sljedećoj godini razvije vegetativnu masu i lukovicu. Razdoblje mirovanja je kraće stoga se ne može čuvati do proljeća. Ovaj ekotip ima krupnije i šire listove, krupniju lukovicu, te manji broj češnjeva u lukovici.
- PROLJETNI - sadi se u proljeće. Kultivari imaju duže razdoblje mirovanja, te se mogu čuvati do proljeća. Osjetljivi su na niske temperature. Listovi i stabljika su tanji i uži, glavice sitnije, ali s većim brojem sitnijih češnjeva u glavici.
- ALTERNATIVNI - mogu se saditi i u proljeće i u jesen. Po morfološkim i biološkim svojstvima su bliži proljetnim kultivarima. Imaju krupniju glavicu i veći prinos nego pri sadnji u proljeće (Lešić i sur., 2004).

2.4. Tlo, klima i proizvodna područja

Za uzgoj češnjaka na većim površinama prikladnija su ravna, duboka, lakša aluvijalna tla, dobre strukture, blago kisele ili neutralne reakcije na kojima nema opasnosti od stagnirajućih voda. Češnjak je osjetljiv na zaslanjena tla. U slučaju dužeg sušnog razdoblja navodnjavanjem se može izbjeći stres od suše i osigurati planirani prinos (Lešić i sur., 2004; Parađiković, 2009).

Za zriobu lukovice poželjno je suho i toplo vrijeme. Ako za vrijeme zriobe padne više oborina, često pucaju vanjski ovojni listovi ili lukovica poprimi sivu boju od saprofitskih gljivica (Lešić i sur., 2004).

Češnjak se obavezno uzgaja u plodoredu i na istoj površini proizvodnje može se ponoviti svake tri do četiri godine što je najsigurnija i ekološki najprihvatljivija mjera protiv lukove nematode koja može učiniti neke štete u nasadu. Zbog istog razloga preporučuje se organsku gnojidbu primijeniti za pretkulturu. Češnjak se obično uzgaja nakon kultura koje su gnojene stajskim gnojem i ostavljaju razrahljeno i nezakorovljeno tlo. Od povrtnih kultura to su najčešće rajčica, krastavac i paprika (Lešić i sur., 2004).

2.5. Uzgoj češnjaka

Češnjak se može saditi u proljeće ili u jesen. Za proljetnu sadnju se tlo priprema oranjem u jesen ili zimu kad se pripreme grubo uzdignute gredice koje omogućuju raniju pripremu za sadnju. Tlo se za jesensku sadnju priprema također oranjem, krajem ljeta ili početkom jeseni na 25 do 30 cm dubine, uz prikladnu gnojidbu kalijem i fosforom. Prije sadnje pripreme se uzdignute gredice, da bi se izbjegla prevelika vlaga u zoni sadnje u slučaju obilnijih oborina tijekom zime, ali također treba izbjegavati i previše usitnjeni površinski sloj da se ne stvori jača pokorica (Parađiković, 2009).

Za sadnju se koriste krupnije, neoštećene i zdrave lukovice, pravilnog oblika koje se do početka sadnje čuvaju u zračnom skladištu na prikladnoj temperaturi. Za jesensku sadnju preporučuje se skladištenje na temperaturi od 15 do 16 °C koja uzrokuje dormantnost, a pred sadnju skladištenjem na 5 do 6 °C čime se prekida dormantnost (Lešić i sur., 2004; Parađiković, 2009).

Priprema sadnog materijala se sastoji od izbora i dezinfekcije češnjeva. Nekoliko dana prije sadnje odvajaju se češnjevi, a za sadnju se preporučuje odabrati krupnije jer daju krupnije lukovice (Lammerink, 1988). Češnjevi veće mase imaju veći početni kapacitet za rast i razvoj biljke (Kazakova, 1978; Gvozdanović-Varga i sur., 2009) jer je u početnom stadiju razvoja klijanac heterotrofan te koristi rezervne hranjive tvari iz češnja tako dugo dok se ne formiraju prvi zeleni listovi i uspostavi proces fotosinteze. Stoga je, ovisno o krupnoći, količina rezervnih tvari različita (Aleksejeva, 1960). Ustaljeno je mišljenje da samo periferni češnjevi daju najkrupnije lukovice, a odnosi se na raspored češnjeva na stabljici. Pri složenom grananju češnjevi su spiralno raspoređeni te su unutarnji češnjevi najsitniji. Kod sorata gdje je kružni raspored češnjeva, svi češnjevi su približno iste krupnoće kao sadni materijal (Gvozdanović-Varga i sur., 2001; Parađiković i sur., 2014). Nakon raščešnjavanja najsitniji češnjevi se odbacuju. Dezinfekcija sadnog materijala se obavlja nekoliko dana prije sadnje ako je sadnja strojna ili pred samu sadnju ako je ručna. Dezinfekcija se provodi potapanjem češnjeva u pripremljen otopinu fungicida, a nakon toga se cijedi i suši. Ovim postupkom se sprječava razvoj i širenje bolesti (Parađiković, 2009).

Češnjak se sadi ručno ili strojno. Strojna sadnja se obavlja sadilicama namijenjenim za češnjak ili adaptiranim za sadnju crvenog luka. Strojna sadnja ima svoje prednosti u smanjenju troškova proizvodnje. Nedostaci kod strojne sadnje su nepravilan položaj češnjeva, koji zbog svog oblika zauzima nepovoljan položaj u tlu. Ovakav položaj usporava klijanje i početni porast što se kasnije odražava na formiranje sitnijih i neujednačenih lukovica, što za

posljedicu ima smanjen prinos i do 30 %. Ručnom sadnjom se postiže pravilno polaganje češnjeva u tlo što će olakšati brže i pravilno nicanje biljaka (Parađiković, 2009).

U kontinentalnim uvjetima Hrvatske jesenska sadnja češnjaka se provodi tijekom listopada. Vrijeme sadnje jesenskog češnjaka značajno utječe na prinos lukovica (Poldma i sur., 2005). Razmak sadnje kod češnjaka uvjetovan je sortom, krupnoćom češnjeva i načinom sadnje (ručno ili strojno). Razmakom sadnje potrebno je osigurati optimalan vegetacijski prostor za razvoj biljke i potrebno je proizvesti lukovice krupnoće karakteristične za sortu (Parađiković, 2009; Milošević i Kobiljski, 2011). Kod jesenske sadnje krupnijih češnjeva, međuredni razmak je 45 - 50 cm, a razmak u redu 6 - 10 cm što ovisi o tipu tla kao i o načinu sadnje (ručna ili strojna). Sve to može značajno utjecati u nepovoljnoj godini na kvalitetu i prinos lukovice češnjaka. Količina sadnog materijala ovisi o planiranom broju biljaka i krupnoći češnjeva za sadnju te se kod jesenskog češnjaka kreće od 900 – 1 000 kg/ha (Parađiković, 2009).

Češnjak je spreman za vađenje kad lažna stabljika omekša i nadzemni dio počne polijegati jer tada u rezervnom tkivu češnjeva ima najviše šećera, što se može kontrolirati refraktometrom i po tome odrediti vrijeme vađenja. Izvađeni češnjak se ostavlja u gredici 8 do 10 dana pokriven lišćem dok se ne osuši.

Dorada obuhvaća čišćenje, odstranjivanje dijelova korijena i suhog nadzemnog dijela, gdje se tijekom ovog procesa vrši odstranjivanje lukovica koje nemaju ovojne listove, sa šturim češnjevima, kao i onih koje nemaju određenu veličinu lukovica, koja se najčešće kreće od 40 - 85 mm u ovisnosti od sorte ili ekotipa. Pakira se u mrežaste vreće (30 - 40 kg) ili manja pakiranja (1 kg) na kojima stoji deklaracija o kvaliteti sadnog materijala. U skladištu je najvažnije održavati relativnu vlagu zraka manju od 70 %, da se izbjegne formiranje korjenčica i pojava površinskih plijesni. Održivost u skladištu najbolja je pri temperaturi od -1 do -3 °C. U Hrvatskoj se češnjak raščešnjava, sadi i vadi uglavnom ručno na manjim površinama, a za veće površine koriste se različiti strojevi čija cijena može biti visoka (Lešić i sur., 2004; Parađiković 2009).

Češnjak I. klase mora biti cjelovit, pretežno pravilnog oblika, te češnjevi moraju biti čvrsto priljubljeni, dok češnjak II. klase smije imati nepravilan oblik lukovice, dopušteno je pucanje vanjskih ljuski, a glavici smije nedostajati najviše 3 češnja. Za obje klase najmanji je promjer 30 mm, a razlika između najmanje i najveće lukovice u pakiranju 15 mm (Lešić i sur., 2004; Parađiković, 2009).

2.6. Bolesti i štetnici češnjaka

U područjima uzgoja češnjaka gotovo se svake godine pojavljuje plamenjača čiji je uzročnik *Peronospora destructor*, hrđa (*Puccinia allii* i *Puccinia porri*) te plijesni ili truleži koje uzrokuju vrste iz roda *Botrytis* i *Sclerotium cepivorum* (Dumičić i sur., 2015).

Ekonomski najznačajnija bolest češnjaka jest plamenjača. Simptomi plamenjače se lako prepoznaju, a za povoljnih uvjeta bolest u vrlo kratkom razdoblju može potpuno uništiti listove. Za vlažnog vremena cijeli listovi su presvučeni sivoljubičastom prevlakom koju čine sporonosni organi gljive. Zaražene lukovice se teško čuvaju i lako trunu (Dumičić i sur., 2015). Sivu trulež izazivaju gljive iz roda *Botrytis*, a bolest se u jačem intenzitetu može pojaviti u vlažnim godinama, dok u sušnim godinama problema neće biti. Zaraženi biljni dijelovi (osobito listovi) su za vlažnog vremena prekriveni gustom sivom prevlakom koju čine sporonosni organi gljive. Zaraženi češnjak se teško čuva (Dumičić i sur., 2015).Fuzarijsku trulež češnjaka izaziva nekoliko vrsta gljiva iz roda *Fusarium*. Zaražene biljke imaju slabo razvijen korijen i manje lukovice koje često trunu (Dumičić i sur., 2015). Bijelu trulež izaziva gljiva *Sclerotium cepivorum* kojoj je najvažniji domaćin češnjak. Osnovni izvor zaraze su sklerociji koji u tlu ostaju vitalni nekoliko godina. Mjere zaštite su višegodišnji plodored, sadnja zdravih češnjeva, ukoliko se uoče bolesne biljke u polju treba ih uništiti prije nego se formiraju sklerocije. Hrđu izazivaju gljive *Puccinia allii* i *Puccinia porri*. Mjere zaštite su pokupiti i uništiti ili duboko zaorati zaražene biljne ostatke (Dumičić i sur., 2015).

Od štetnika najveće ekonomske štete čini muha češnjaka (*Suilia lurida*) i lukova muha (*Chortophila antiqua*), javljaju se rano u proljeće iz čijih se jaja izlegu ličinke i u samom prijelazu s glavice na stabljiku tj. u zoni korjenovog vrata ubušuju i hraneći se prave štetu. Mjere zaštite usjeva češnjaka se provode rano u proljeće za vrijeme leta imaga. Smatra se da je primjena lovnih žutih posuda te biološke mjere suzbijanja, jedino pravo rješenje za uzgoj. Isto tako potrebno je pratiti let odrasle muhe i postupati prema savjetima prognozne i savjetodavne službe (Parađiković i sur., 2015).

Češnjak je također izložen i velikom broju virusa, od kojih je najčešći OYDV (Onion yellow dwarf virus), kojeg prenose kukci. Jedan je od velikih uzročnika smanjenog prinosa (do 40%). Za smanjeni prinos češnjaka također su odgovorni i korovi. Korovi u poljoprivrednim kulturama, pa tako i u češnjaku, smanjuju prinos i poskupljuju proizvodnju zbog troškova njihova suzbijanja (Parađiković i sur., 2015).

2.7. Prehrambena vrijednost i ljekovita svojstva češnjaka

Zbog intenzivnog mirisa i ljutog okusa češnjak se ne koristi kao povrće u užem smislu, nego prvenstveno kao dodatak brojnim jelima. Prema svojem kemijskom sastavu ima veliku prehrambenu vrijednost u odnosu na drugo povrće. Glavni kemijski sastojci češnjaka prikazani su u Tablici 2 (Lešić i sur., 2004).

Tablica 2. Glavni kemijski sastojci (%) lukovice češnjaka (Lešić i sur., 2004)

Voda	63,0-75,0
Sirove bjelančevine	4,0-76
Sirove masti	0,06-0,20
Ugljikohidrati	20,0-27,9
Vlakna	0,77-1,10
Minerali	1,4-1,44

Za oštar, karakterističan miris i okus češnjaka zaslužan je spoj iz skupine sumpornih spojeva, alicin (Block, 1985). Češnjak sadrži više od 200 biološki aktivnih tvari, dok se većina ljekovitih nalazi u lukovici. Od ljekovitih tvari zastupljena su eterična ulja, minerali (natrij, kalij, magnezij, kalcij, fosfor, željezo, sumpor), aminokiseline, enzimi i vitamini (Parađiković, 2009). Za zdravstvenu vrijednost od veće su važnosti: eterično ulje, koje sadrži sumpor i daje mu okus i miris (2 do 18 mg/100 g), alilpropilsulfid i biljni antibiotik fitoncid alicin, koji nastaje iz alina djelovanjem alinize. Nakon upotrebe češnjaka preko kože i dišnih organa izlučuju se alilsulfid koji daje neugodan miris (Block, 1985).

Voće i povrće, pa tako i češnjak, ima značajnu ulogu u obrani ljudskog organizma od različitih bolesti i to zahvaljujući visokom sadržaju antioksidacijskih tvari (Kim i sur., 1997; Diplock i sur., 1998). Češnjak ima izrazito visok sadržaj fenolnog spoja kvercetina i njegovih derivata, askorbinske kiseline i sumpornih spojeva zbog čega mu se pripisuje velika antioksidacijska aktivnost (Kim i sur., 1997; Lampe, 1999). Na antioksidacijska svojstva češnjaka u vrlo maloj koncentraciji utječe i alicin (Lawson, 1998). Fenolni spojevi češnjaka zbog svoje antioksidacijske aktivnosti sudjeluju u obrani stanica od vodikovog peroksida i nitrozamina kako ne bi došlo do oksidativnog oštećenja (Tsai i sur., 2005; Fabiani i sur., 2008).

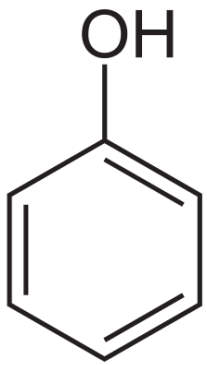
Češnjak se od davnina upotrebljava kao dodatak prehrani, a suvremena znanost to je i potvrdila. Posjeduje antioksidativna, protuupalna i antimikrobna svojstva (Choi i sur., 2007), a njegova ljekovitost te snažan i djelotvoran učinak na ljudsko zdravlje, poznat je od davnina.

Aminokiseline iz češnjaka utječu na sniženje razine štetnog kolesterola u plazmi, a organske komponente iz češnjaka, koje sadrže sumpor, smanjuju razinu kolesterola i djeluju preventivno na razvoj malignih bolesti. Koristi se kod prehlada i gripe, pomaže pri izlučivanju žuči, te normalizira djelovanje jetre. Najviše se koristi protiv prehlade i gripe, a koristan je i za smanjenje bronhitisa i astme (Lešić i sur., 2004; Parađiković, 2009).

2.8. Bioaktivne komponente češnjaka

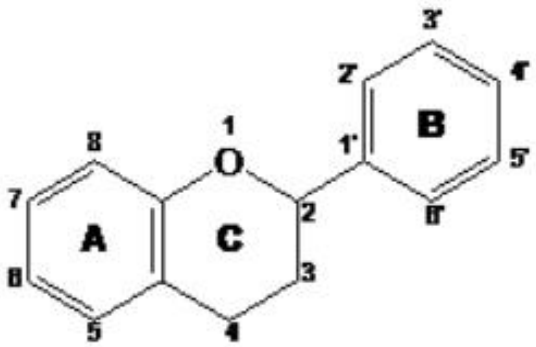
2.8.1. Fenolni spojevi

Fenolni spojevi ili polifenoli, su najvažnija grupa sekundarnih biljnih metabolita koji se nalaze u mnogim biljkama, koncentrirani u sjemenkama, pokožici i mezokarpu voća i povrća, žitaricama, kori drveća, lišću i cvijeću. Do danas je poznato više od 8000 različitih struktura fenolnih spojeva, a osnovnu strukturu fenolnih spojeva čini aromatski prsten (Slika 3) na koji može biti vezana jedna ili više hidroksilnih skupina (Šic Žlabur i sur., 2016 b).

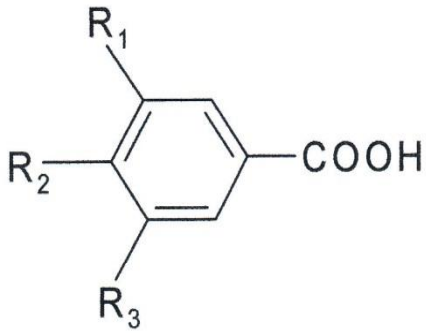


Slika 3. Kemijska struktura fenolnog spoja
(Izvor: https://bs.wikipedia.org/wiki/Fenoli)

Prema osnovnoj kemijskoj strukturi fenolni spojevi dijele se na: flavonoide (Slika 4) i neflavonoide (fenolne kiseline i srodni spojevi; Slika 5).



Slika 4. Kemijska struktura flavonoida
(Izvor: https://bs.wikipedia.org/wiki/Flavanoidi)



Slika 5. Kemijska struktura hidroksibenzojeve kiseline
(Izvor: https://bs.wikipedia.org/wiki/Hidroksibenzoj)

Glavna funkcija fenolnih spojeva prisutnih u voću, povrću i žitaricama je smanjenje štetnih učinaka oksidativnog stresa (Lee i sur., 2002). Iako se sintetiziraju u biljkama, nemaju ulogu u rastu i razvoju (Rodney i sur., 2000).

Flavonoidi (kvercetin, miricetin i kemferol) i flavoni (apigenin, luteolin) pokazuju antioksidacijska i antibakterijska svojstva. Flavonoidi mogu inhibirati enzime kao što su prostaglandini, lipoksigenaze i ciklooksigenaze, te enzime vezane za tumorogenezu. Jedna od negativnih funkcija fenolnih spojeva je i da mogu narušiti strukturu i funkciju citoplazmatske membrane stanica bakterija mliječne kiseline, sniziti pH vrijednosti i denaturirati proteine u citoplazmi stanice (Andlar, 2011).

Uloga fenolnih spojeva i njihova važnost tema je brojnih istraživanja diljem svijeta. U literaturi postoji dosta podataka o fenolnim spojevima češnjaka. Češnjak sadrži fenolne spojeve koji imaju farmakološko značenje i prisutni su u vrlo velikim količinama. Češnjak je na drugom mjestu u poretku po sadržaju ukupnih fenola, od 23 vrste povrća koja se najčešće konzumiraju (Vinson i sur., 1998). Neki produkti češnjaka, kao što su ekstrakti i crni češnjak, sadrže

povećanu koncentraciju polifenola u odnosu na svježi češnjak (Sato i sur., 2006; Park i sur., 2009). Fenolne spojeve u češnjaku i luku kvantificirali su Gorinstein i sur. (2008). Dokazali su da je zbroj hidroksicimetnih kiselina (*p*-kumarinska, ferulinska, sinapinska i kafeinska kiselina) dva puta veći u češnjaku nego u luku.

Povrće iz roda *Allium* (luk, vlasac i češnjak) jedan je od glavnih izvora flavonoida koji se koriste u prehrani. Od flavonoida u češnjaku su pronađeni miricetin, kvercetin, apigenin i kemferol (Miean i Mohamed, 2001; Gorinstein i sur., 2008), dok antocijanini nisu pronađeni (Gorinstein i sur., 2008).

2.8.2. Askorbinska kiselina

Askorbinska kiselina ili vitamin C je jedan od najviše proučavanih i prvi sintetski proizvedenih vitamina. Prvi put su je sintetizirali Haworth i Hirst. Otkrivena je još u 17.stoljeću, ali točna uloga za ljudsko zdravlje još uvijek nije otkrivena (Lee i sur., 2002).

Vitamin C je najvažniji u vodi topljiv vitamin s najznačajnijom funkcijom u ljudskom organizmu, a to je njegova antioksidacijska aktivnost. U namirnicama, točnije voću i povrću, askorbinska kiselina je stabilna samo u suhom obliku, dok je u vodenom mediju stabilna samo u odsustvu kisika, u suprotnom vrlo brzo dolazi do njene oksidacije. Oksidaciju i razgradnju askorbinske kiseline potiče i niz faktora: utjecaj svjetlosti, povišena temperatura, enzimi, teški metali i alkalni medij (Šic Žlabur i sur., 2016 b).

Također, važno je naglasiti da vitamin C pripada skupini esencijalnih vitamina odnosno vitamina koje ljudski organizam ne može samostalno sintetizirati što ukazuje na značajnu potrebu unošenja navedenog vitamina. Najznačajniji izvori vitamina C su svježe voće i povrće poput: paprike, brokule, agruma, jabuke, šipka, bobičastog voća itd. Pravilnom prehranom potrebno je osigurati dovoljnu količinu vitamina C koji će zadovoljiti potrebe s obzirom na sve funkcije organizma ovisne o ovom vitaminu, te je tako određeno da odrastao organizam dnevno mora uzimati 100 mg vitamina C (Šic Žlabur i sur., 2016 b).

Doprinos vitamina C u ukupnoj antioksidacijskoj aktivnosti voća i povrća općenito iznosi oko 10 % (Slinkard i Singleton, 1977). Jedan je od najpopularnijih i najmanje toksičnih antioksidansa, te se većinom koristi kao dodatak prehrani kako bi neutralizirao štetne učinke oksidativnog stresa (Gardner i sur., 2000). Osim u voćnim kulturama, povrtne kulture također su bogate askorbinskom kiselinom što je prikazano u Tablici 4 (Parađiković, 2009).

Tablica 4. Sadržaj vitamina C u svježem povrću i voću (Parađiković, 2009)

POVRĆE I VOĆE	mg/100 g svježe tvari
Luk	6
Češnjak	18
Rajčica	28
Kelj pupčar	121
Paprika	252
Peršin-list	257
Jabuka	3-30
Banana	8-16
Višnja	15-30
Naranča	30-40
Limun	40-50
Jagoda	40-70

2.8.3. Antioksidacijski kapacitet

Antioksidansi su spojevi koji mogu odgoditi ili spriječiti oksidaciju lipida ili drugih molekula inhibirajući inicijaciju ili širenje lančanih reakcija (Velioglu i sur., 1998). Imaju veliku važnost u sprječavanju oksidativnog stresa i štite metabolizam od visoko reaktivnih kisikovih jedinki koje mogu uzrokovati degenerativne bolesti ili oštetiti stanice u ljudskom organizmu (Helen i sur., 2000).

Reaktivni oblici kisika (Reactive oxygen species, ROS) su vrlo male molekule, koje uključuju hidroksilne ($\cdot OH$) ili superoksidne radikale (O^{2-}), vodikov peroksid (H_2O_2) i singletni kisik ($^1O_2$). Prisutnost nesparenih elektrona čini ih vrlo reaktivnima. Nastaju uslijed nekompletne redukcije kisika ili oksidacijom vode u lancu transporta elektrona. Reaktivni oblici kisika mogu oštetiti biljne stanice, membrane i DNA, mogu dovesti do pojave karcinoma, ubrzati proces starenja ili dovesti do oksidativnog stresa. Oksidativni stres uzrokuje svako stanje u kojem se narušava homeostaza (Kawanishi i sur., 2001).

Antioksidacijska aktivnost češnjaka ponajprije se pripisuje sumpornim spojevima i njegovim pretečama (Kim i sur., 1997; Lampe, 1999). Veza između ukupnih fenola i

antioksidacijske aktivnosti u biljkama vrlo je specifična (Stratil i sur., 2006). Kod nekih biljaka (bijelo i crveno grožđe, crna i zelena maslina, đumbir, šipak) pronađena je pozitivna veza između antioksidacijske aktivnosti i fenolnih komponenti nakon mjerenja svježih uzoraka, jer su dobivene vrijednosti antioksidacijske aktivnosti i ukupnih fenola bile u oba mjerenja visoke, dok je kod nekih biljaka (češnjak) nakon mjerenja antioksidacijske aktivnosti i ukupnih fenola svježeg uzorka, koncentracija fenola bila puno veća od antioksidacijske aktivnosti (Quisti i sur., 2010). Flavonoidi imaju veću antioksidacijsku aktivnost prema peroksidnim radikalima od vitamina C, vitamina E i glutationa (Cao i sur., 1996).

3. MATERIJAL I METODE ISTRAŽIVANJA

3.1. Materijali rada

U ovom istraživanju korištena su tri uzorka češnjaka: jedan iz konvencionalnog i dva iz ekološkog uzgoja. Uzorak lukovica češnjaka iz konvencionalnog uzgoja (K) uzgajan je na pokušalištu Zavoda za povrćarstvo Agronomskog fakulteta u Zagrebu. Češnjak je uzgajan iz češnjeva, a sadni materijal porijeklom je iz Lučkog (Zagreb). Sadnja češnjaka je provedena 28. listopada 2015., a gustoća sklopa (19,0 biljaka/m^2) je ostvarena razmacima između redova (35 cm) i unutar reda (15 cm). Prije sadnje, provedena je organska gnojidba kompostom i mineralnim NPK gnojivom 5-20-30. Prihrana ureom (46 % N) provedena je 21. ožujka 2016. uz međurednu kultivaciju. Tijekom uzgoja nisu korištena kemijska sredstva za suzbijanje bolesti i štetnika. Berba češnjaka bila je 29. lipnja 2016. (Slika 8).



Slika 8. Češnjak iz konvencionalnog uzgoja (foto: Fabek, 2016)

Drugi uzorak češnjaka u pokusu (E 1) kupljen je u dućanu „Bio&bio“ (Zagreb), a deklaracija proizvoda s eko certifikatom dokazuje kako se radi o češnjaku iz ekološkog uzgoja. Podrijetlom je iz Italije.

Za treći uzorak (E 2) korišten je češnjak s eko imanja „Bio Zrno“ u Habjanovcu (Slika 9). Od 2002. godine imanje je u sustavu kontrole prema hrvatskom Zakonu o ekološkoj poljoprivrednoj proizvodnji. Upisano je u Upisnik eko-proizvođača pod rednim brojem 40 i ima potvrdnicu za svoje proizvode. Češnjak na ovom imanju posađen je u rujnu 2015. godine, a tijekom uzgoja od agrotehničkih mjera primjenjivana je isključivo jednokratna gnojidba kompostom organskog porijekla. Berba lukovica obavljena je početkom kolovoza 2016. godine.



Slika 9. Prikaz lokacije imanja „Bio Zrno“ (Izvor: https://www.google.hr/maps/)

Analize kemijskog i nutritivnog sastava lukovica češnjaka provedene su u laboratoriju Zavoda za poljoprivrednu tehnologiju, skladištenje i transport na Agronomskom fakultetu u Zagrebu. Sve laboratorijske analize napravljene su u tri ponavljanja. Uključivale su: određivanje suhe tvari (%), ukupnih kiselina (%), pH vrijednosti, topljive suhe tvari (%) standardnim metodama (AOAC, 1995), sadržaj vitamina C (mg/100 g svježe tvari) titracijom s 2,6- diklorfenolindofenol (AOAC, 2002), sadržaj ukupnih fenola (mg/L) (flavonoida i neflavonoida) spektrofotometrijski prema metodi Ough i Amerine (1988) te antioksidacijski kapacitet ABTS metodom (Miller i sur., 1993; Re i sur., 1999).

3.2. Metode rada

3.2.1. Određivanje ukupne suhe tvari

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

Ovim se postupkom određuje ostatak uzorka nakon sušenja na 105 ºC do konstantne mase.

Aparatura i pribor:

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

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

U ohlađenu i izvaganu posudicu s pijeskom stavi se oko 2,5 g pripremljenog uzorka, koji se dobro izmiješa staklenim štapićem i sve zajedno izvaže točnošću 0,0002 g.

Staklena posudica u kojoj se nalazi pijesak i ispitivana količina uzorka stavi se u laboratorijski sušionik zagrijan na 105 ºC ± 0,5 ºC u kojem se zagrijava jedan sat sa skinutim poklopcem. Nakon hlađenja i vaganja, sušenje se nastavlja sve dok razlika nakon dva uzastopna sušenja u razmaku od pola sata ne bude manja od 0,001 g. Iznova se važe s točnošću ± 0,0002 g.

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

Prema kojoj je:

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

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

m_2 (g) – masa posudice s ostatkom nakon sušenja

3.2.2. Određivanje topljive suhe tvari

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

Aparatura i pribor:

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

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

3.2.3. Određivanje ukupnih kiselina

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

Aparatura i pribor:

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

Reagensi:

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

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

Formula:

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

Prema kojoj je:

V (mL) - volumen utrošene NaOH pri titraciji

F - faktor normaliteta NaOH

G (g/mL) - gramekvivalent najzastupljenije kiseline u uzorku

D (g) - masa uzorka u titriranoj tekućini

3.2.4. Određivanje pH vrijednosti

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

Aparatura i pribor:

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

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

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

3.2.5. Određivanje L-askrobinske kiseline

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

Aparatura i pribor:

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

- čaše volumena 100 mL
- bireta 50 mL

Reagensi:

- 2,6-p-diklorfenolindofenol
- 2 %-tna oksalna kiselina

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

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

Prema kojoj je:

V (mL) - volumen utrošenog 2,6-p-diklorfenolindofenola pri titraciji

F - faktor normaliteta 2,6-p-diklorfenolindofenola

D (g) - masa uzorka u titriranoj tekućini

3.2.6. Određivanje ukupnih fenola

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

Aparatura i pribor:

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

Kemikalije:

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

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

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

Izrada baždarnog pravca: Za pripremu baždarnog pravca odvaže se 500 mg galne kiseline koja se otopi u 80 %-tnom etanolu i nadopuni u odmjernoj tikvici od 100 mL do oznake. Od pripremljene otopine galne kiseline prirede se razrjeđenja u odmjernim tikvicama od 100 mL, tako da se otpipetira redom 0, 1, 2, 3, 5 i 10 mL alikvota standarda u svaku tikvicu i potom se nadopunjavaju do oznake 80 % etanolom.

Koncentracije galne kiseline u tikvicama iznose 0, 50, 100, 150, 250 i 500 mg/L. Iz svake tikvice otpipetira se 0,5 mL uzorka u odmjerne tikvice od 50 mL. Potom se dodaje redom 30 mL destilirane vode, 2,5 mL F.C. reagensa i 7,5 mL zasićene otopine natrijevog karbonata. Dobro se izmiješa i nadopunjava destiliranom vodom do oznake. Uzorci se ostave dva sata na sobnoj temperaturi.

Nakon toga mjeri se apsorbancija pri valnoj duljini 750 nm uz destiliranu vodu kao slijepu probu. Iz izmjerenih vrijednosti apsorbancija nacrta se baždarni pravac tako da se na apscisi nanese koncentracija galne kiseline (mg/L), a na ordinati izmjerene vrijednosti apsorbancije.

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

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

Prema kojoj je

y – apsorbancija na 750 nm

x – koncentracija galne kiseline (mg/ L)

3.2.7. Određivanje flavonoida i neflavonoida

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

Aparatura i pribor:

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

Kemikalije:

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

Priprema uzorka: Ekstrakt ukupnih fenola (opisan u poglavlju 3.3.11.) koristi se i za određivanje flavonoida i neflavonoida.

Postupak određivanja: Otpipetira se 10 mL ekstrakta u tikvicu od 25 mL i doda 5 mL otopine HCl (1:4) te 5 mL formaldehida. Smjesa se propuše dušikom, zatvori i ostavi stajati 24

sata na sobnoj temperaturi u mraku. Sljedeći dan se profiltrira preko filter papira i slijedi isti postupak kao za određivanje ukupnih fenola.

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

3.2.8. Određivanje antioksidacijskog kapaciteta ABTS metodom

Metoda se temelji na gašenju stabilnog plavo-zelenog radikal-kationa 2,2′-azinobis (3-etilbenzotiazolin-6-sulfonska kiselina) ($ABTS^{\cdot+}$ radikal-kationa) koji se oblikuje bilo kemijskom ili enzimskom oksidacijom otopine ABTS-a čiji je karakterističan adsorpcijski maksimum pri valnoj duljini od 734 nm (Miller i sur., 1993; Re i sur., 1999).

U prisutnosti antioksidansa $ABTS^{\cdot+}$ kation se reducira u ABTS, a reakcija se očituje obezbojenjem plavo-zelene otopine. Udio uklonjenih ABTS radikala koji „gase“ različiti antioksidansi mjeri se praćenjem smanjenja apsorbancije ABTS radikala te se uspoređuje sa smanjenjem apsorbancije koju uzrokuje dodatak određene količine Troloxa (6-hidroksi-2,5,6,7,8-tetrametilkroman-2-karbonska kiseline) pri istim uvjetima.

Priprema reagensa:

1.dan:

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

2.dan:

Na dan provođenja svih analiza priprema se 1%-na otopina $ABTS^{\cdot+}$ (1 mL $ABTS^{\cdot+}$ otopine otpipetira se u odmjernu tikvicu od 100 mL i nadopuni 96%-im etanolom do oznake. Nakon toga mjeri se apsorbanca 1%-ne otopine $ABTS^{\cdot+}$ pri 734 nm koja mora iznositi 0,70 ± 0,02. Ako apsorbanca otopine ne iznosi 0,734 onda ju je potrebno namjestiti, odnosno ako je apsorbanca premala u tikvicu od 100 mL pripremljene 1%-ne otopine $ABTS^{\cdot+}$ treba dodati još

par kapi stabilne $ABTS^{\cdot+}$ otopine, a ako je apsorbanca prevelika onda treba razrijediti odnosno u tikvicu (100 mL) dodati još 96 %-og etanola.

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

Priprema uzoraka za analizu: Procedura ekstrakcije iz uzoraka ista je kao i u protokolu određivanja fenola Folin-Ciocalteu metodom. ABTS metodu najbolje je provesti kada se rade i fenoli te iz pripremljenih fenolnih ekstrakata napraviti analizu i za fenole i za ABTS tako da se poslije rezultati sadržaja fenola i ABTS-a mogu korelirati.

10 g uzorka izvaže se izravno u Erlenmeyerovu tikvicu sa šlifom (300 mL) i doda se 40 mL 80 %-og etanola te se kuha uz povratno hladilo 10 minuta. Nakon kuhanja sadržaj se profiltrira u odmjernu tikvicu od 100 mL. Ostatak taloga zajedno s filtar papirom prebaci se u Erlenmeyerovu tikvicu (istu, 300 mL), doda se 50 mL etanola i ponovno kuha 10 min uz hladilo. Nakon toga sadržaj se profitrira u istu tikvicu od 100 mL odnosno ekstrakti se spoje, ohlade, nakon čega se odmjerna tikvica od 100 mL nadopuni 80 %-im etanolom do oznake. Ako je potrebno ekstrakte treba razrijediti 80 %-im etanolom (u slučaju prevelike apsorbance).

Postupak određivanja (spektrofotometrijski): 160 µL uzorka (ekstrakta) pomiješa se s 2 mL 1%-ne otopine $ABTS^{\cdot+}$ te se nakon 1 min mjeri apsorbanca na 734 nm. Za slijepu probu se koristi 96 % etanol.

Izrada baždarnog pravca: Za izradu baždarnog pravca u ABTS metodi koristi se Trolox koji uzrokuje smanjenje boje $ABTS^{\cdot+}$ otopine. Točke određene za izradu baždarnog pravca su sljedeće: 0, 100, 200, 400, 1000, 2000 i 2500 µmol/dm^3. Najprije se pripremi *stock* otopina i to tako da se u odmjernu tikvicu od 25 mL izvaže 0,0156 Trolox-a, a tikvica se 80 %-im etanolom nadopuni do oznake. Iz *stock* otopine uzimaju se sljedeći volumeni Trolox-a za pripremu daljnjih razrjeđenja koja se pripremaju u odmjernim tikvicama od 25 mL[1]:

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

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

3.2.9. Statistička obrada podataka

Podaci su statistički obrađeni u programskom sustavu SAS, verzija 9.3 (SAS/STAT, 2010). Sve laboratorijske analize kemijskih parametara provedene u tri ponavljanja. Rezultati su bili podvrgnuti analizi varijance (ANOVA).

Srednje vrijednosti uspoređene su t-testom (LSD), a smatraju se značajno različitim prema $p \leq 0,0001$. U tablicama su uz rezultate u eksponentima prikazana različita slova koja označavaju grupe uzoraka.

Također, izražena je i standardna devijacija, a njome je prikazano prosječno odstupanje rezultata od srednje vrijednosti za pojedini kemijski parametar.

4. REZULTATI RADA I RASPRAVA

4.1. Osnovni kemijski sastav češnjaka

Rezultati osnovnog kemijskog sastava češnjaka iz konvencionalnog i ekološkog uzgoja prikazani su u Tablici 5, a obuhvaćaju sadržaj ukupne suhe tvari (%), ukupne kiselosti (%), pH vrijednosti te sadržaj ukupne topljive suhe tvari (%). Statističkom obradom podataka utvrđena je visoko signifikantna razlika ($p \leq 0,01$ i $p \leq 0,0001$) u svim istraživanim parametrima kemijskog sastava između lukovica češnjaka iz konvencionalnog uzgoja (K), ekološkog češnjaka iz „Bio&bio“ dućana (E 1) te češnjaka s eko imanja „Bio Zrno“ (E 2). Prema dobivenim rezultatima sadržaj suhe tvari kretao se u rasponu od 34,46% (E 1) do 42,49% (E 2). Razlike između ova dva uzorka mogu se objasniti time što je uzorak (E 2) analiziran neposredno nakon berbe dok je uzorak (E 1) bio duže vrijeme skladišten. Suha tvar uzorka K iznosila je 37,49 %. Prema literaturnim navodima drugih autora sadržaj suhe tvari lukovice češnjaka kreće se od 34 do 42%, a značajan utjecaj na sadržaj suhe tvari ima niz čimbenika od ekotipa, roka sadnje kao i vremena berbe, odnosno dozrelosti češnjaka, kao i druge agrotehničke mjere (Dumičić i sur., 2013).

Sadržaj ukupnih kiselina analiziranih uzoraka češnjaka izrazito je nizak, a kretao se u rasponu od 0,087 (E 2) do 0,150 % (E 1). Dobiveni rezultati za sadržaj ukupnih kiselina uglavnom se podudaraju s literaturnim navodima drugih autora (Lešić i sur., 2004; Katalinić, 2006) prema kojima povrtne kulture nisu bogate organskim kiselinama. Prema navedenim autorima prosječni udio kiselina u povrtnim kulturama ne prelazi 0,1%. Nizak sadržaj ukupnih kiselina u skladu je s relativno visokim prosječnim pH vrijednostima koje su se kretale u rasponu od 5,96 (E 1) do 6,13 (K). Statističkom analizom podataka svi istraživani uzorci češnjaka značajno se razlikuju u sadržaju ukupnih kiselina i pH vrijednosti. Rezultati ovog istraživanja pokazali su visok sadržaj topljive suhe tvari u sva tri ispitivana uzorka. Raspon se kretao od 10,00 (K) do 11,67 % (E 1). Dobiveni rezultati podudaraju se sa literaturnim navodima Amagase i sur. 2001. prema kojima češnjak sadrži visok sadržaj polisaharida, tako da je visok sadržaj topljive suhe tvari u ovom istraživanju i očekivan. Također su utvrđene visoko signifikantne statističke razlike ($p \leq 0,0001$) između istraživanih uzoraka češnjaka.

Tablica 5. Osnovni kemijski sastav testiranog češnjaka

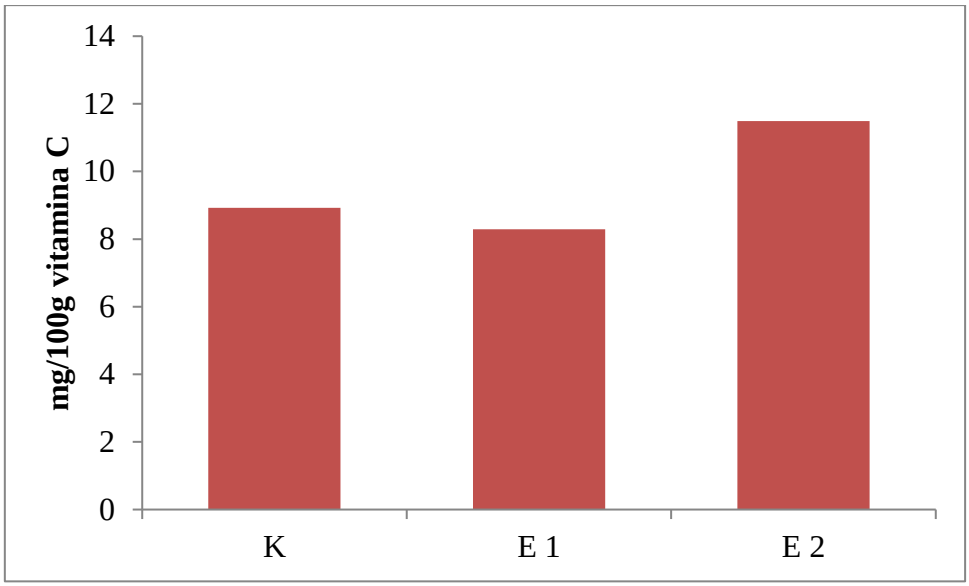
Uzorak	ST (%)	UK (%)	pH	TSS (%)
	p≤0,0001	p≤0,0001	p≤0,0001	p≤0,0001
K	37,49 b ±0,47	0,089b ±0,01	6,13 a± 0,006	10,00a ± 1,00
E 1	34,46 c ±0,25	0,15 a ±0,01	5,96 b± 0,02	11,67 a ±1,53
E 2	42,49 a±0,35	0,087b ±0,01	6,10 a± 0,04	11,33 a ±0,29

K – češnjak iz konvencionalnog uzgoja; E 1- češnjak iz ekološkog uzgoja Bio&bio dućan; E 2- češnjak iz ekološkog uzgoja Bio Zrno; ST- suha tvar; UK- ukupne kiseline; TSS- topljiva suha tvar. Različita slova prikazuju signifikantne razlike između srednjih vrijednosti.

4.2. Sadržaj vitamina C u češnjaku

Raspon sadržaja vitamina C u ispitivanim uzorcima češnjaka prikazan je u Grafikonu 1. Najveći sadržaj vitamina C (11,49 mg/100 g svježe tvari) utvrđen je u uzorku E 2, dok je najmanji sadržaj (8,29 mg/100 g svježe tvari) utvrđen u uzorku E 1. Vrijednost češnjaka uzorka K iznosila je 8,92 mg/100 g svježe tvari. Značajna razlika sadržaja vitamina C utvrđena je između češnjaka iz konvencionalnog uzgoja (K) i uzorka E 2 odnosno češnjaka s eko imanja „Bio Zrno“.

Sadržaj vitamina C u voću i povrću ovisi o različitim faktorima kao što su razlike u genotipu, klimatski uvjeti tijekom uzgoja, različiti načini berbe i uvjeti skladištenja (Lee i Kader, 2000). Visok intenzitet svjetla i sušni uvjeti također uzrokuju povećanje sadržaja vitamina C. Dobivene vrijednosti sadržaja vitamina C nešto su više od navoda Parađiković i sur. (2012), a to se posebno odnosi na uzorak češnjaka E 2.

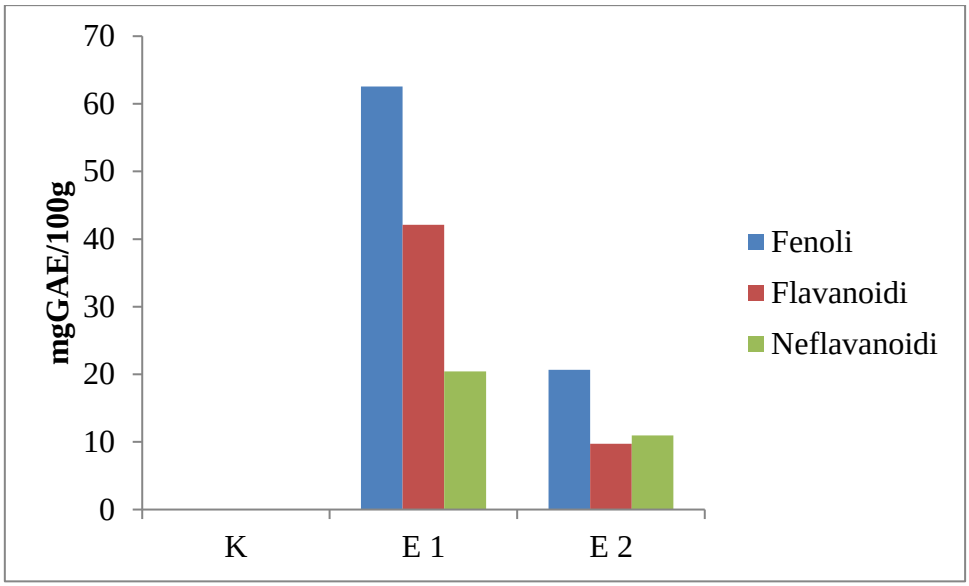


Grafikon 1. Sadržaj vitamina C (mg/100 g svježe tvari) u češnjaku

4.3. Sadržaj ukupnih fenola, flavonoida i neflavonoida u češnjaku

Sadržaj ukupnih fenola, flavonoida i neflavonoida prikazan je u Grafikonu 2. Fenolni spojevi su najvažnija grupa sekundarnih biljnih metabolita kojima je glavna funkcija smanjenje štetnih učinaka oksidativnog stresa (Lee i sur., 2002). Brojna istraživanja dokazala su prisutnost dviju glavnih skupina antioksidacijskih spojeva u češnjaku, od kojih su najzastupljeniji flavonoidi, te nekoliko sumpornih spojeva (Kim i sur., 1997; Lampe, 1999). Sadržaj fenolnih spojeva u biljkama ovisi o unutarnjim-genetskim i vanjskim (agronomski, okolišni, uvjeti skladištenja) faktorima (Rapisarda, 1999; Tómas-Barberán i Espin, 2001).

U ovom istraživanju sadržaj ukupnih fenola uključivao je ukupne flavonoide i neflavonoide, a utvrđen je samo u uzorcima češnjaka iz ekološkog uzgoja. Sadržaj ukupnih fenola za uzorak češnjaka E 1 iznosio je 20,68 mg/L, a za uzorak češnjaka E 2 iznosio je 62,57 mg/L. U uzorku E 2 utvrđena je čak 33 % veća od one utvrđene u uzorku E 1.



Grafikon 2. Sadržaj ukupnih fenola, flavonoida i neflavonoida (mgGAE/100 g svježe tvari) u češnjaku

4.4. Antioksidacijski kapacitet češnjaka

Češnjak i druge vrste iz roda Allium imaju značajnu ulogu u obrani ljudskog organizma od različitih bolesti, zahvaljujući visokom sadržaju antioksidacijskih tvari (Hertog, 1995; Velioglu i sur., 1998; Yin i Cheng, 1998; Miller i sur., 2000). Dosadašnja istraživanja su pokazala proturječne podatke o povezanosti ukupne antioksidacijske aktivnosti i koncentracije fenolnih spojeva. Stratil i sur. (2006) dokazali su da je veza između fenolnih spojeva i antioksidacijske aktivnosti u biljkama vrlo značajna i pozitivna. Tkiva koja sadrže veće količine vitamina i fenolnih spojeva pokazuju i veći antioksidacijski kapacitet (Šic Žlabur i sur., 2016 a).

U ovom istraživanju uzorak češnjaka iz ekološkog uzgoja E 2 jedini je pokazao antioksidacijsko djelovanje, odnosno jedino je za navedeni uzorak utvrđen antioksidacijski kapacitet vrijednosti 341,84 µmolTE/L. Dobivena vrijednost je očekivana s obzirom da je za ovaj uzorak utvrđena i veća vrijednost ukupnih fenolnih spojeva u usporedbi s druga dva analizirana uzorka. Antioksidacijski kapacitet za druga dva uzorka koji su analizirani nije determiniran.

5. ZAKLJUČAK

Prema dobivenim rezultatima istraživanja može se zaključiti da se uzorci češnjaka značajno nutritivno razlikuju s obzirom na način uzgoja, konvencionalni i ekološki. Uzorci češnjaka iz ekološkog uzgoja pokazuju značajno veće vrijednosti ukupne suhe tvari i ukupne topljive suhe tvari u usporedbi s uzorkom češnjaka iz konvencionalnog uzgoja.

Parametri koji nisu pod snažnim utjecajem načina uzgoja i kod kojih nije utvrđena značajna razlika su sadržaj ukupnih kiselina i pH vrijednost.

Ovim istraživanjem utvrđene su značajne razlike između uzoraka iz ekološkog i konvencionalnog uzgoja u sadržaju vitamina C, ukupnih fenolnih spojeva (flavonoida i neflavonoida) te antioksidacijskom kapacitetu. Najveći sadržaj vitamina C (11,49 mg/100 g svježe tvari) utvrđen je u uzorku E 2, dok je najmanji sadržaj (8,29 mg/100 g svježe tvari) utvrđen u uzorku E 1. U uzorku češnjaka sa većim sadržajem ukupnih fenolnih spojeva (E 2) utvrđen je i značajnije viši antioksidacijski kapacitet.

6. POPIS LITERATURE

1. Aleksejeva, M.V. (1960). Cultural onions. Moscow, 170-177.
2. Amagase, H., Petesch, B.L., Matsuura, H,. Kasuga, S., Itakura, Y. (2001): Intake of garlic and its bioactive components, Journal of Agricultural and Food Chemistry, 131 (3s), 955S-9562S.
3. Andlar, M. (2011). Utjecaj fenolnih spojeva na rast i aktivnost bakterija mliječne kiseline. Završni rad, Prehrambeno-biotehnološki fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Zagreb.
4. AOAC (1995). Official methods of Analysis (16th ed.). Washington, DC: Association of Official Analytical Chemists.
5. AOAC (2002). Official methods of Analysis (17th ed.). Washington, DC: Association of Official Analytical Chemists
6. Bianchini, F., Vainio, H. (2001). Allium vegetables and organosulphur compounds: do they help prevent cancer. Environmental Health Perspectives, 109(9): 893-902.
7. Block, E., (1985). The chemistry of garlic and onion. Scientific American, 252:114-119.
8. Cao, G., Sofic, E., Prior, RL. (1996). Antioxidant capacity of tea and common vegetables. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 44: 3426-3431.
9. Choi, M.K., Chae K. Y., Lee, J.Y., Kyung, K.H., (2007). Antimicrobial activity of chemical substances derived from *S*-alk (en)yl-L-cysteine sulfoxide (alliin) in garlic (*Allium sativum* L.). Food Science and Biotechnology, 16(1): 1-7.
10. Diplock, A.T, Charleux J.L., Crozier-Willi, G., Kok, F., Rice-Evans, C., Roberfroid, M., (1998). Functional food science and defence against reactive oxygen species. British Journal od Nutrition, 80:77-112
11. Drozd, M., Thomas, M., Nowak, R. (2011). Determination of phenolic acids in raw garlic (Allium sativum L.) and onion (*Allium cepa* L.). Annales Universitatis Mariae Curie SkŁodowska, 24(1): 121-127.
12. Dumičić, G., Miloš, B., Žanić, K., Urlić, B., Jukić Špika, M., Čagalj, M., (2015). Jadranski češnjak. , Institut za jadranske kulture i melioraciju krša, Split, pp: 30-37.
13. Dumičić, G., Čagal, M., Urlić, B., Runjić, M., Goreta Ban, S. (2013). Komponente prinosa češnjaka (*Allium sativum* L.). U: 48. hrvatski i 8. međunarodni simpozij agronoma, Marić, S., Lončarić, Z. (ur.), Osijek, HR, pp: 349-352.
14. Fabiani, R., Rosignoli, P., Bartolomeo, A.D., Fuccelli, R., Servili, M., Montedoro, G.F., Morrozzi, G. (2008). Oxidative DNA damage is prevented by extracts of olive oil, hydroxytyrosol, and other olive phenolic compounds in human blood mononuclear cells and HL60 cells. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 138:1411-1416.

15. Gardner, PT., White, T.A.C., McPhail, D.B., Duthie, G.G. (2000), The relative contributions of vitamin C, carotenoid and phenolics to the antioxidant potential of fruit juices. Food Chemistry, 68:471-474.
16. Gorinstein, S., Leontowicz, H., Leontowicz, M., Namiesnik, J., Najman, K., Drzewiecki, J., Cvikrovă, M., Martincova, O., Katrich, E., Trakhtenberg, S. (2008). Comparison of the main bioactive compounds and antioxidant activities in garlic and white and red onions after Treatment Protocols. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 56: 4418–4426.
17. Gvozdanović-Varga, J., Vasić, M., Červenski, J. (2001). Prinos prolećnog belog luka u zavisnosti od krupnoće čenova. Savremena poljoprivreda, 50(1-2): 141-144.
18. Gvozdanović-Varga, J., Vasić, M., Takač, A., Bugarski, D., Jovićević, D., Červenski, J., Stojšin, V. (2009). Proizvodnja belog luka sa aspekta sadnog materijala. Zbornik radova Instituta za ratarstvo i povrtarstvo, 46(1): 99-109.
19. Helen, A., Rajasree, C.R., Krishnakumar, K.., Augusti, K.T., (2000). Antioxidant effect of onion oil (Allium cepa. Linn) on the damages induced by nicotine in rats as compared to alpha-tocopherol. Toxicology Letters, 116(1-2): 61 68.
20. Katalinić, V. (2006). Kemija mediteranskog voća i tehnologija prerade. Kemijsko-tehnološki fakultet, Split.
21. Kawanishi, S., Hiraku, Y., Oikawa, S. (2001). Mechanism of guanine-specific DNA damage by oxidative stress and its role in carcinogenesis and aging. Mutation Research, 488: 65-76.
22. Kazakova, A.A. (1978). Onion. Cultural flora of the USSR. Leningrad.
23. Kim, S.M., Kubota, K., Kobayashi, A. (1997). Antioxidative activity of sulfur-containing flavor componuds in garlic. Bioscience, Biotechnology and Biochemistry, 61:1482-1485.
24. Knekt, P., Järvinen, R., Reunanen, A., Maatela, J. (1996). Flavonoid intake and coronary mortality in Finland: a cohort study. British Medicial Journal, 312: 478-481.
25. Lammerink, J. (1988). Better garlic yields through selection and seed clove granding. New Zeeland Commercial Grower, 43(3): 16-17.
26. Lampe, J.W. (1999). Health effects of vegetable and fruit:assessing mechanisms of action in human experimental studies. American Journal of Chemistry and Nutrition, 70: 475-490.
27. Lawson, L.D., (1998): Garlic: A review of its medicinal effects and indicated active compounds. Washington, D.C.: ASC Press., 176-209 pp.
28. Lee, S. K., Kader, A. A. (2000): Preharvest and postharvet factors influencing vitamin C content of horticultural crops. Postharvest Biology and Technology. 20:207–220.

29. Lee, J.C., Kim, H.R., Kim, J., Jang, Y.S. (2002). Antioxidant property of an ethanol extract of the stem of Opuntia ficus-indica var. Saboten. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 50: 6490-6496.
30. Lešić, R., Borošić J., Buturac I., Ćustić M., Poljak M., Romić D. (2004). Povrćarstvo, Zrinski, Čakovec.
31. Miean, K.H., Mohamed, S. (2001). Flavonoid (myricetin, quercetin, kaempferol, luteolin, and apigenin) content of edible tropical plants. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 49: 3106–3112.
32. Miller, H. E., Rigelhof, F., Marquart, L., Prakash, A., Kanter, M. (2000): Antioxidant content of whole grain breakfast cereals, fruits and vegetables. The Journal of the American College of Nutrition. 19:1-8.
33. Miller, N.J., Diplock, A.T., Rice-Evans, C., Davies, M.J., Gopinathan, V., Milner, A. (1993). A novel method for measuring antioxidant capacity and its application to monitoring the antioxidant status in premature neonates, Clinical Science, 84(4): 407–412.
34. Milošević, M., Kobiljski, B. (2011). Semenarstvo III, Institut za ratarstvo i povrtarstvo, Novi Sad.
35. Ough, C.S., Amerine, M.A. (1988). Methods for Analysis of Musts and Wines, Washington, USA: John Wiley & Sons.
36. Parađiković, N. (2009). Opće i specijalno povrćarstvo, Poljoprivredni fakultet u Osijeku, Tipo, Osijek, pp: 189-193.
37. Parađiković, N., Vinković, T., Štolfa, I., Tkalec, M., Has-Schön, E., Andračić, I., Parađiković, L., Kraljičak, J. (2012). Antioksidacijska aktivnost Ozimoga slavonskoga češnjaka (*Allium sativum* L.). Poljoprivreda, 18(2): 44-49.
38. Parađiković, N., Vinković, T., Tkalec, M., Kraljičak, J. (2014). Morfološki pokazatelji ozimog slavonskog češnjaka u različitim uvjetima uzgoja. Zbornik radova 49. hrvatskog i 9. međunarodnog simpozija agronoma Osijek, Poljoprivredni fakultet u Osijeku, Osijek, pp:106-107.
39. Parađiković, N., Vinković, T., Tkalec, M., Kraljičak, J.,Vinković-Vrček, I., Teklić, T., Ćosić, J., Lončarević, R., Štolfa, I. (2015). Uzgoj i njega autohtonog češnjaka (Znanost i praksa), Poljoprivredni fakultet u Osijeku, Osijek, pp: 32-39.
40. Park, J. H., Park, Y. K., Park, E. (2009). Antioxidative and antigenotoxic effects of garlic (*Allium sativum* L.) prepared by different processing methods. Plant Foods for Human Nutrition, 64: 244-249.

41. Poldma, P., Merivee, A., Pae, A., Justus, K. (2005). Influence of planting time on the development, yield and quality of garlic (*Allium sativum* L.) in Estonia. Acta Horticulturae, 688: 333-338.
42. Qusti, S.Y., Abo–Khatwa, A.N., Lahwa, M.A. (2010). Screening of antioxidant and phenolic content of selected food items cited in the Holly Quran. International Journal of Biological Sciences, 2(1): 40-51.
43. Rainy, G., Amita, S. Preeti, M., Shukla, R.N. (2014): Study of Chemical Composition of Garlic Oil and Comparative Analysis of co-trimoxazole in Response to In Vitro Antibacterial Activity, Int. Res. J. Phar. 5 (2), 97-101.
44. Rapisarda, P. (1999). Antioxidant effectivenes as influnced by phenolic content of fresh orange juices. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 47:4718-4723.
45. Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., Rice-Evans, C.A. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay, Free Radical and Bioogy Medicine, 26 (9-10), 1231-1237.
46. Rodney, C., Kutchan, T.M., Lewis, N.G. (2000). Biochemistry and Molecular Biology of Plants. Chapter 24, American Society of Plant Physiologists, pp:1250-1318.
47. SAS/STAT (2010). Version 9.3, Cary, NC, USA: SAS Institute.
48. Sato, E., Kohno, M., Hamano, H., Niwano, Y. (2006). Increased anti-oxidative potency of garlic by spontaneous short-term fermentation. Plant Foods for Human Nutrition, 61: 157-160.
49. Slinkard, K., Singleton, V.L. (1977). Total phenol analysis; automation and comparison with manual methods. American Journal of Enology and Viticulture, 28:49-55.
50. Statistički ljetopis Republike Hrvatske (2016). Državni zavod za statistiku Republike Hrvatske, ISSN 1333-3305, pp: 270-275.
51. Stratil, P., Klejdus, B., Kuban, V. (2006). Determination of total content of phenolic compounds and their antioxidant activity in vegetables evaluation of spectrophotometric methods. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 54: 607–616.
52. Šic Žlabur, J., Voća, S., Dobričević, N., Pliestić, S., Galić, A., Boričević, A., Borić, N. (2016): Ultrasound-assisted extraction of bioactive compounds from lemon balmand peppermint leaves, *Int. Agrophys*. 30 (1), 95-104. 46. (a)
53. Šic Žlabur, J., Voća, S., Dobričević, N. (2016.): Kvaliteta voća, povrća i prerađevina – priručnik za vježbe, Agronomski fakultet Sveučilišta u Zagrebu 133-138. (b)
54. Tomás-Barberán, F.A., Espín, C.J. (2001). Phenolic compounds and related enzymes as determinants of quality in fruits and vegetables. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 81: 853-876.

55. Tsai, T.H., Tsai, P.J., Ho, S.C. (2005), Antioxidant and anti-inflammatory activities of several commonly used spices. Journal of Food Science, 70(1): C93-97.
56. Vinson, J.A., Hao, Y., Su, X., Zubik, L., (1998), Phenol antioxidant quantity and quality in foods: Vegetables. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 46:3630–3634.
57. Velioglu, Y. S., Mazza, G., Gao, L., Oomah, B. D. (1998). Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits, vegetables, and grain products. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 46:4113-4117.
58. Yin, M. C., Cheng, W. S. (1998): Antioxidant activity of several Allium members. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 46:4097-4101.
59. Worthington, V. (2001). Nutritional Quality of Organic Versus Conventional Fruits, Vegetables, and Grains. Journal of Alternative and Complementary Medicine, 7(2): 161-173.

ŽIVOTOPIS AUTORA

Antonija Franjić rođena je 24. kolovoza 1992. godine u Splitu. Završila je opću gimaziju u Srednjoj školi Prozor (BiH) 2011. godine, te iste godine upisala Agronomski fakultet Sveučilišta u Mostaru. U srpnju 2014. godine završava preddiplomski studij i upisuje se na diplomski studij Hortikulture, usmjerenje Povrćarstvo na Agronomskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu gdje izrađuje diplomski rad Nutritivni sastav češnjaka (*Allium sativum* L.) iz ekološkog i konvencionalnog uzgoja.