

UNIVERZITET U BEOGRADU

HEMIJSKI FAKULTET

Aleksandra M. Dramićanin

**FITOHEMIJSKI PROFIL KRTOLA KAO POKAZATELJ
POREKLA I NAČINA PROIZVODNJE KROMPIRA**

Doktorska disertacija

Beograd, 2022.

UNIVERSITY OF BELGRADE

FACULTY OF CHEMISTRY

Aleksandra M. Dramićanin

**PHYTOCHEMICAL PROFILE OF TUBERS AS AN
INDICATOR OF ORIGIN AND METHOD OF POTATO
PRODUCTION**

Doctoral dissertation

Belgrade, 2022

Mentor:

dr Dušanka Milojković-Opsenica, redovni profesor

Univerzitet u Beogradu - Hemijski fakultet

Članovi komisije:

dr Filip Andrić, vanredni profesor

Univerzitet u Beogradu – Hemijski fakultet

dr Jelena Mutić, vanredni profesor

Univerzitet u Beogradu – Hemijski fakultet

dr Nebojša Momirović, redovni profesor

Univerzitet u Beogradu – Poljoprivredni fakultet

Datum odbrane:

U Beogradu, _____2022.

ZAHVALNICA

Ova doktorska disertacija je urađena na Katedri za analitičku hemiju Univerziteta u Beogradu - Hemijskog fakulteta, pod mentorstvom dr Dušanke Milojković-Opsenice, redovnog profesora Hemijskog fakulteta u Beogradu. Ovom prilikom želim da joj se najiskrenije zahvalim na svestranoj podršci i razumevanju u toku celokupnog rada, kao i na stručnoj pomoći i sugestijama koje mi je pružila prilikom izrade i pisanja ove doktorske disertacije.

Veliku zahvalnost dugujem dr Nebojši Momiroviću, redovnom profesoru Univerziteta u Beogradu – Poljoprivrednog fakulteta na divnoj saradnji i učestvovanju u osmišljavanju ogleđa. Hvala na nesebičnom prenošenju znanja iz oblasti koncepta održivog razvoja poljoprivrede i sistema biljne proizvodnje ratarskih i povrtnarskih useva.

Posebno veliku zahvalnost dugujem dr Filipu Andriću, vanrednom profesoru Univerziteta u Beogradu - Hemijskog fakulteta, na nesebičnoj pomoći tokom realizacije, pisanja, oko statističke obrade i tumačenja rezultata proisteklih iz ove doktorske disertacije, kao i na korisnim sugestijama koje su doprinele kvalitetu ove doktorske disertacije.

Srdačno se zahvaljujem dr Jeleni Mutić vanrednom profesoru Univerziteta u Beogradu - Hemijskog fakulteta, na korisnim sugestijama i smernicama pri završnoj izradi doktorske disertacije.

Posebno se zahvaljujem dragim kolegama sa Poljoprivrednog fakulteta, prof. dr Mirjani Pešić na ukazanom poverenju, dr Aleksandru Kostiću i Danijelu Milinčiću na podršci i druženju iz kojeg je proizašla divna saradnja.

Ogromnu zahvalnost dugujem svojim prijateljima na безусловnoj podršci i dragim kolegama sa Hemijskog fakulteta koji su smehom i dobrom radnom atmosferom učinili da izrada ove disertacije ostane lepa uspomena. Hvala!

Na kraju, ali ne i najmanje važno, beskrajnu zahvalnost dugujem porodici i suprugu na svemu što su činili i čine za mene. Hvala na безусловnoj podršci, strpljenju, razumevanju i ljubavi.

FITOHEMIJSKI PROFIL KRTOLA KAO POKAZATELJ POREKLA I NAČINA PROIZVODNJE KROMPIRA

Predmet ove doktorske disertacije je ispitivanje hemijskog sastava krompira u cilju definisanja specifičnih fitohemijskih markera njegovog porekla (sorte) i sistema gajenja (konvencionalni, organski i integralni). Analiziran je statistički značajan broj uzoraka četiri sorte krompira iz tri godine proizvodnje. Određeni su fizičko-hemijski parametri i sadržaj vode. Optimizovan je postupak ekstrakcije polifenola. Spektrofotometrijski je određen ukupan sadržaj polifenola i antioksidativni kapacitet i određen je polifenolni profil primenom metoda tačne hromatografije UHPLC-LTQ OrbiTrap XL i UHPLC-DAD MS/MS. Na osnovu dobijenih rezultata, ekstrakcija 80% metanolom je odabrana kao najbolja metoda ekstrakcije, dok je polifenolni profil ukazao na razdvajanje uzoraka na osnovu sorte krompira, kao i na osnovu dužine vegetacije. Sadržaj vitamina C je određen HPLC metodom i proverena je mogućnost korišćenja ovog parametra kao potencijalnog fitohemijskog markera. Šećerni profil je dobijen primenom HPAEC-PAD, dok je sadržaj makro- i mikroelemenata određen primenom ICP-OES i ICP-QMS metoda. Rezultati ukazuju na to da skrob, kao i šećerne makro i mikrokomponente mogu da se koriste kao indikatori razlika između sistema gajenja, godina proizvodnje, botaničkog porekla i dužine vegetacije krtola. Rezultati elementarne analize ukazuju na to da Ca, Mg i K i mikroelementi Co, Cd i Cr, Mn, Pb i Ni mogu da se koriste kao potencijalni fitohemijski markeri porekla i načina proizvodnje, dok upotreba Fe, Zn, Na i Cu kao indikatora načina proizvodnje nije adekvatna. Ukupan sadržaj rastvorljivih proteina u uzorcima je određen spektrofotometrijski, dok je za definisanje proteinskog profila krtola primenjena SDS elektroforetska analiza. Rezultati ukazuju da se proteinski profil može koristiti za razlikovanje sorti krompira i uzoraka različite dužine vegetacije, ali ne i načina gajenja.

Ključne reči: Krompir; konvencionalni, integralni i organski sistem gajenja; UHPLC-LTQ OrbiTrap XL; UHPLC-DAD MS/MS; vitamin C; šećerni profil; makro- i mikroelementi; Bradfordova metoda; SDS elektroforeza

Naučna oblast: Hemija

Uža naučna oblast: Analitička hemija

PHYTOCHEMICAL PROFILE OF TUBERS AS AN INDICATOR OF ORIGIN AND METHOD OF POTATO PRODUCTION

The subject of this doctoral dissertation is the examination of the chemical composition of potatoes in order to define specific phytochemical markers of its origin (variety) and cultivation system (conventional, organic, and integral). A statistically significant number of samples of four potato varieties from three years of production was analyzed. Physico-chemical parameters and water content were determined. The polyphenol extraction process was optimized. The total polyphenol content and antioxidant capacity were determined spectrophotometrically and the polyphenolic profile was determined using UHPLC-LTQ OrbiTrap XL and UHPLC-DAD MS/MS methods. Based on the obtained results, extraction with 80% methanol was selected as the best extraction method, while the polyphenolic profile indicated the separation of samples based on potato variety, as well as on ripening time. The content of vitamin C was determined by the HPLC method and the possibility of using this parameter as a potential phytochemical marker was tested. The sugar profile was obtained using HPAEC-PAD, while the content of macro- and microelements was determined using ICP-OES and ICP-QMS methods. The results indicate that starch, as well as sugar macro- and microcomponents can be used as indicators of differences between cultivation systems, year of production, botanical origin, tuber ripening time, and climatic conditions. The results of the elemental analysis indicate that Ca, Mg and K and trace elements Co, Cd, and Cr, Mn, Pb and Ni can be used as potential phytochemical markers of origin and type of production, while the use of Fe, Zn, Na, and Cu as indicators of the type of production is not adequate. The total content of soluble proteins in the samples was determined spectrophotometrically, while SDS electrophoresis was used to define the protein profile of tubers. The results indicate that the protein profile can be used to distinguish potato varieties and samples of different ripening times, but not the method of cultivation.

Keywords: Potato; conventional, integral and organic type of production; UHPLC-LTQ OrbiTrap XL; UHPLC-DAD MS/MS; vitamin C; sugar profile; macro- and trace elements; Bradford method; SDS electrophoresis

Scientific area: Chemistry

Field of Academic Expertise: Analytical Chemistry

SADRŽAJ

1. UVOD	1
2. OPŠTI DEO	3
2.1. Poreklo i nutritivna vrednost krompira.....	3
2.2. Sistemi gajenja krompira – način proizvodnje.....	4
2.3. Hemijski sastav krompira i analitičke metode za ispitivanje	5
2.3.1 Fenolna jedinjenja.....	5
2.3.1.1 Metode za određivanje polifenolnih jedinjenja	7
2.3.2 Askorbinska kiselina.....	10
2.3.2.1 Metode za određivanje sadržaja vitamina C.....	11
2.3.3 Šćerni profil krtola krompira	12
2.3.3.1 Metode za određivanje sadržaja šećera	13
2.3.4 Mineralni sastav krtola krompira.....	15
2.3.4.1 Metode za određivanje sadržaja makro- i mikroelemenata	16
2.3.5 Proteini.....	18
2.3.5.1 Metode za određivanje sadržaja proteina	19
2.4. Statistička obrada rezultata	23
2.4.1 Fridmanov test.....	24
2.4.2 Vilkoksonov test.....	25
2.4.3 Analiza glavnih komponenata (Principal Component Analysis – PCA)	25
2.4.4 Multivarijantna analiza varijanse (Multivariate Analysis of Variance - MANOVA).....	26
3. EKSPERIMENTALNI DEO	27
3.1. Priprema uzoraka - fizičke (morfološke) karakteristike krtola krompira i određivanje sadržaja vode (vlage) 27	
3.2. Određivanje hemijskih karakteristika krtola krompira	28
3.2.1 Reagensi i standardi.....	28
3.2.2 Optimizacija postupka ekstrakcije polifenolnih jedinjenja	30
3.2.3 Određivanje ukupnog sadržaja polifenola i antioksidativnog kapaciteta krtola krompira	31
3.2.4 Identifikacija i kvantifikacija polifenola u uzorcima krtola krompira	32
3.2.5 Analiza askorbinske kiseline – određivanje sadržaja vitamina C.....	33
3.2.6 Šćerni profil krtola krompira	34
3.2.7 Elementalna analiza – određivanje sadržaja makro- i mikroelemenata	37
3.2.8 Određivanje sadržaja ukupnih ekstraktibilnih (rastvorljivih) proteina i SDS poliakrilamidna gel elektroforeza	39
3.3. Statistička obrada rezultata	40
4. REZULTATI I DISKUSIJA	42
4.1. Fizičke (morfološke) karakteristike krtola krompira i određivanje sadržaja vode (vlage)	42

4.2.	Određivanje ukupnog sadržaja polifenola i antioksidativnog kapaciteta krtola krompira u cilju optimizacije postupka ekstrakcije.....	48
4.3.	Kvantitativna analiza fenolnih jedinjenja u uzorcima krompira	50
4.4.	Identifikacija polifenolnih jedinjenja - određivanje polifenolnog profila	58
4.5.	Analiza askorbinske kiseline – određivanje sadržaja vitamina C.....	63
4.6.	Šećerni profil krtola krompira.....	67
4.7.	Elementalna analiza – određivanje sadržaja makro- i mikroelemenata.....	74
4.8.	Određivanje sadržaja ukupnih ekstraktibilnih (rastvorljivih) proteina i SDS poliakrilamidna gel elektroforeza (SDS-page).....	81
5.	ZAKLJUČAK	91
6.	LITERATURA	94
7.	PRILOG	106

1. UVOD

Uspostavljanje održivih prehrambenih sistema je strateški interes svake zemlje uslovljen pre svega porastom populacije, promenama navika u ishrani i smanjenjem dostupnosti hrane. S obzirom da nova naučna i stručna saznanja o hrani, posebno tzv. zdravoj (funkcionalnoj) hrani značajno menjaju navike u ishrani, zahtevi za proizvodnjom kvalitetnije hrane određene nutritivne vrednosti se stalno uvećavaju. Uprkos nedostatku pouzdanih podataka koji podržavaju tvrdnje da je kvalitet organski proizvedene hrane superiorniji od kvaliteta konvencionalno i integralno proizvedenih namirnica, interesovanje potrošača za hranom organskog porekla raste (Lombardo, Pandino, and Mauromicale 2012; 2017). S obzirom na činjenicu da su rezultati dosadašnjih studija potencijalnih indikatora načina proizvodnje kontradiktorni, predmet i naučni cilj ove disertacije je da se upoređivanjem hemijskog sastava statistički značajnog broja krtola krompira, proizvedenih u sva tri sistema gajenja, identifikuju specifični hemijski markeri koji se mogu koristiti kao indikatori načina proizvodnje (konvencionalni, organski ili integralni sistem gajenja) i genotipa krompira u cilju definisanja njegovog porekla. U skladu sa tim, definisanje fitohemijskog profila krompira je značajno i sa aspekta procene njegove autentičnosti i zaštite geografskog porekla.

Krompir (*Solanum tuberosum* L.) je peta po redu namirnica po rasprostranjenosti u Svetu posle pirinča, kukuruza, kasave i pšenice (Pinhero et al. 2016; Chung et al. 2016). Zahvaljujući dobroj nutritivnoj vrednosti krtola i blagotvornom dejstvu na zdravlje ljudi, ubraja se u red najvažnijih prehrambenih proizvoda (Oruna-Concha, Duckham, and Ames 2001), a zahvaljujući širokim adaptivnim mogućnostima može se proizvoditi u konvencionalnom, integralnom i organskom sistemu gajenja. S obzirom na to da do sada u literaturi nisu navedeni indikatori načina proizvodnje, predmet ove disertacije je da se ispita hemijski sastav krtola krompira proizvedenih u sva tri sistema gajenja u cilju pronalaženja pouzdanih hemijskih markera za procenu načina proizvodnje i definisanja njegovog porekla (sorte), kao i autentičnosti u pogledu biološkog porekla različitih genotipova krompira. Ispitivanje autentičnosti krompira je sprovedeno kroz identifikaciju specifičnih fitohemijskih markera za procenu porekla krompira i načina njegove proizvodnje u trogodišnjem periodu (2013 - 2015).

Pronalaženje pouzdanih fitohemijskih markera određene sorte i načina proizvodnje krompira je izuzetno zahtevno zbog činjenice da hemijski sastav krompira zavisi ne samo od sorte odnosno genotipa, već i od drugih faktora kao što su: agroekološki uslovi (tip zemljišta, karakteristike klime i meteorološki uslovi), fenofaze razvoja, geografski region, dužine vegetacije, uslovi prikupljanja i uslovi skladištenja krtola krompira. Zbog toga je predmet ove doktorske disertacije detaljna analiza sadržaja fitohemikalija u statistički značajnom broju uzoraka četiri različite sorte krompira primenom modernih analitičkih metoda. Akcenat je na identifikaciji i kvantifikaciji fitohemikalija sa potencijalnim antioksidativnim svojstvima. Posebna pažnja je posvećena ispitivanju različitih postupaka ekstrakcije u cilju razvoja optimalne procedure za izolovanje antioksidanasa iz krtola krompira. Određen je ukupan sadržaj polifenola i antioksidativna aktivnost uzoraka kore i jezgra krompira, kao i sadržaj pojedinačnih šećera, sadržaj vlage, vitamina C, makro- i mikroelemenata i proteinski profil uzoraka četiri sorte krompira proizvedene u tri sistema gajenja – organski, konvencionalni i integralni, u periodu od tri godine.

S obzirom da do sada nije izvršena sveobuhvatna analiza fitohemijskog profila krtola krompira i da prema literaturnim podacima nije objavljena nijedna studija koja ispituje mogućnost korišćenja ovog profila kao potencijalnog pokazatelja porekla i načina proizvodnje krompira, cilj ovog rada je da istraži da li se pomenuti parametri koji se određuju u okviru ove disertacije, mogu koristiti kao indikatori sorte (porekla) krompira i načina njegove proizvodnje (konvencionalni, integralni i organski sistem gajenja). Takođe, uzimajući u obzir činjenicu da je ispitivanje hemijskog sastava krompira u pivoju i da je priroda dosadašnjih zaključaka različitih studija na temu načina proizvodnje krompira kontradiktorna, treba istaći značaj i doprinos rezultata ove

disertacije. Naime, podaci dobijeni u okviru ovog istraživanja su analizirani primenom naprednih statističkih metoda za obradu rezultata. Kombinovanje analitičke metodologije sa hemometrijskim pristupom olakšalo je procenu i definisanje specifičnih markera genotipa krompira i načina njegove proizvodnje sa značajnim nivoom pouzdanosti. Klasifikacija ispitivanih uzoraka prema sorti, načinu i godini proizvodnje je izvršena na osnovu matematičkih modela konstruisanih tako da omogućavaju određivanje pripadnosti pojedinog uzorka određenoj klasi na osnovu njegovih hemijskih karakteristika. U tom smislu, urađena je optimizacija i modifikacija u literaturi opisanih sofisticiranih analitičkih metoda, a dobijeni rezultati su iskorišćeni za konstruisanje pomenutih matematičkih modela za određivanje potencijalnih markera genotipa krompira i načina njegove proizvodnje. Na taj način su po prvi put predloženi modeli koji bi mogli biti korišćeni i za predviđanje porekla i načina proizvodnje novih uzoraka na osnovu odgovarajućeg hemijskog sastava, odnosno fitohemijskog profila.

2. OPŠTI DEO

2.1. Poreklo i nutritivna vrednost krompira

Krompir (*Solanum tuberosum*) spada u grupu skrivenosemenica i peta je najrasprostranjenija kultura posle pirinča, kukuruza, manioke i pšenice (Pinhero et al. 2016; Yuan et al. 2016). Prvi krompir je kultivisan pre oko 8000 godina u Južnoj Americi, tačnije u centralnim Andima Perua i Bolivije, gde su razvijene četiri priznate vrste krompira i 5000 sorti koje se još uvek uzgajaju. Autohtoni krompir i dalje ima višestruku ulogu u svakodnevnom životu andskih naroda i u njihovoj tradicionalnoj medicini. Mnoge divlje vrste krompira su pronađene u Meksiku i Centralnoj Americi (Lutaladio and Castaldi 2009).

Domaći nazivi za biljku krompir su se potpuno razlikovali u glavnim indijanskim jezicima korišćenim u oblastima gde je krompir uzgajan. Uobičajeno ime za krompir u jeziku carstva Inka je bilo *papa*. U Evropu krompir je prenet u dva navrata, prvo u Španiju oko 1570. godine, a potom u Englesku nešto kasnije, u periodu između 1588. i 1593. godine. Španci su tada usvojili naziv *papa* za krompir u svojim zapadnoameričkim kolonijama, a druga imena, kao i sami jezici su u velikoj meri izumrli. I pored toga, stari nazivi za krompir u raznim krajevima još uvek postoje u kombinacijama sorti ili u dijalekatskim frazama. U Evropi naziv *papa* nikada nije usvojen. Naprotiv, naša reč potiče od batata, indijske reči za *Ipomoea*, slatki krompir. To je zato što su se Španci prvi susreli sa slatkim krompirom, a kako nisu imali ime za gomolju te vrste koristili su indijsku reč batata. Kasnije su i druge gomoljaste biljke koje su pronašli u svojim američkim kolonijama dobile isto ime. *Patata* i krompir su očigledno srodni oblici batata, pa se reč *papa*, koja je još uvek u širokoj upotrebi u celoj španskoj Latinskoj Americi, nikada nije proširila van ovog područja, iako se sama biljka danas uzgaja u većini drugih delova sveta (Paul M. Harris 2012).

U Evropi u 16. veku krtole krompira su smatrane pogodnim samo za ishranu siromašnog stanovništva i stoke. Međutim, u 18. veku, kada je veći deo kontinentalne Evrope bio desetkovan glađu, vrednost krompira kao useva za ishranu ljudi i životinja naglo raste i evropski farmeri počinju da ga uzgajaju. Krtole genetski sličnih sorti su tada klonirane i kultivisane širom Severne Amerike i Evrope. Irska katastrofa dovela je do toga da se uloži veliki napor da se razviju produktivnije sorte otporne na bolesti, jer je 1845. godine plamenjača krompira uništila rod u Irskoj, uzrokujući glad koja je dovela do smrti najmanje milion ljudi i primorala isto toliko da emigrira. Nakon te katastrofe, uzgajivači u Evropi i Severnoj Americi, selekcionisali su mnoge današnje moderne sorte krompira oslanjajući se na germplazmu krompira iz Čilea (Lutaladio and Castaldi 2009).

Zahvaljujući izvrsnoj prilagodljivosti, visokoj produktivnosti i dobroj hranljivoj vrednosti krtola (Oruna-Concha, Duckham, and Ames 2001), krompir se danas gaji u više od 165 zemalja na oko 19 miliona hektara poljoprivrednog zemljišta širom sveta (Devaux et al. 2020) sa godišnjom produkcijom od oko 477 miliona tona (FAOSTAT, 2014). Najveće površine poljoprivrednog zemljišta iskorišćene za uzgajanje krompira se nalaze u umerenoj zoni severne hemisfere gde se usev gaji leti tokom perioda bez mraza. U subtropskim područjima, kao što su mediteranski region, severna Indija i južna Kina, usev se uzgaja kao ozimi usev, u periodu niskih temperatura. U tropskim nizijama krompir nije glavni usev, uglavnom zato što su temperature u ovim oblastima previsoke za razvoj krtola i rast tradicionalnih sorti krompira (Devaux et al. 2020). U Srbiji se, u zavisnosti od vremenskih prilika, krompir sadi od početka marta u ravničarskim, do početka juna u planinskim krajevima. Ne zahteva prekomernu obradu pre upotrebe i konzumiranja, kao što je to slučaj sa sojom i drugim žitaricama, a ukoliko se pospeši njegov rast, indeks prinosa krtola krompira može biti veći od 80%, što je gotovo dvostruko više od žitarica (Wheeler 2009). Na osnovu produktivnosti, hranljive i biološke vrednosti krtola, krompir je među najisplativijim poljoprivrednim kulturama. Pored toga, više od 85% ukupne proizvodnje krompira koristi se u

ishrani ljudi (Gvozden 2016). Uzgaja se kao povrće za direktnu ishranu i kao sirovina za preradu u oplemenjene proizvode, jela od krompira (pire, pomfrit, čips), skrob i derivate skroba, i špiritus (Alvani et al. 2011). Koristi se za proizvodnju alkohola koji se potom primenjuje u prehrambenoj, farmaceutskoj i hemijskoj industriji. Takođe, krompir ima široku primenu u proizvodnji stočne hrane. Potrošnja svežeg krompira čini otprilike dve trećine svetske berbe, a oko 1,3 milijarde ljudi jede krompir kao osnovnu hranu (više od 50 kg po osobi godišnje), uključujući regione Indije i Kine (Devaux et al. 2020).

Zahvaljujući širokim adaptivnim mogućnostima krompir se može proizvoditi i u konvencionalnom, i u integralnom i u organskom sistemu gajenja. Imajući u vidu značaj i površine pod krompirom, naročita pažnja se posvećuje ispitivanju ispoljavanja varijabilnosti produktivnih osobina, kvaliteta i biološke vrednosti krtola različitih sorti krompira u zavisnosti od različitih sistema gajenja, odnosno oblika poljoprivredne proizvodnje. Krajnji cilj svih oblika poljoprivrede je efikasna proizvodnja, povećanje prinosa i dobijanje kvalitetne sirovine dobre biološke vrednosti koja se može koristiti u različite svrhe, a sve to uz minimalno narušavanje životne sredine.

2.2. Sistemi gajenja krompira – način proizvodnje

U sistemu konvencionalne poljoprivrede cilj je da se obezbedi maksimalna proizvodnja prinosa po jedinici poljoprivredne površine (Kovačević, Lazić, and Milić 2011; Momirović, Kovačević, and Dolijanović 2021). To se postiže upotrebom različitih agrotehničkih mera (intenzivna obrada zemljišta, instaliranje sistema za navodnjavanje, primena mineralnih đubriva, primena pesticida u zaštiti bilja od korova, bolesti i štetočina, i genetička manipulacija gajenim biljkama). Ipak, primena tih mera dovodi do negativnih, dugoročnih efekata u agroekosistemima. Kao odgovor na pomenute poljoprivredne aktivnosti, dolazi do narušavanja biodiverziteta, iscrpljivanja neobnovljivih prirodnih resursa kao i opasnih ekoloških problema, od kojih je zagađenje površinskih i podzemnih voda među najozbiljnijim (Kovačević, Lazić, and Milić 2011; Farooq and Siddique 2015; Momirović, Kovačević, and Dolijanović 2021). U pokušajima da se reše problemi povezani sa pogoršanjem kvaliteta vode i da se smanje negativni uticaji na životnu sredinu, uvodi se koncept organske poljoprivrede čija primena raste u mnogim zemljama tokom nekoliko poslednjih godina (Aronsson, Torstensson, and Bergström 2007).

Agronomske prakse koje se koriste u sistemima konvencionalne i organske proizvodnje hrane se značajno razlikuju. Ovo se posebno odnosi na:

(1) *upravljanje plodnošću* gde se za dominantni unos azota i fosfora u konvencionalnim sistemima koriste hemosintetička mineralna N i P đubriva, dok se organski sistemi oslanjaju uglavnom na supstance organskog porekla kao što su stajnjak, različite vrste komposta, zelenišno đubrivo, biološki azot – simbiozna i nesimbiozna azotifikacija;

(2) *protokole zaštite useva* koji se kod konvencionalnih sistema odnose na primenu hemosintetičkih pesticida (fungicida i herbicida) i sredstava za defolijaciju, dok je primena istih zabranjena u organskim sistemima; i

(3) *dizajn rotacije* – pod ovim se podrazumeva da se svake godine menja lokacija na kojoj se gaje vrste iz botanički srodnih porodica, tako da nijedna vrsta ne bude ponovo zasađena na istom mestu. Ovo omogućava zemljištu da se regeneriše i sprečava da štetočine i bolesti zaraze biljke. U tom smislu standardi organske poljoprivrede propisuju veoma različite plodoredne i jasno definišu trajanje rotacije i redosled smenjivanja useva, dok konvencionalni sistemi teže da koriste što manje raznovrsne plodoredne ili monokulturne sisteme (Lehesranta et al. 2007).

Organska poljoprivreda se popularno definiše kao poljoprivreda koja ne koristi sintetička đubriva, pesticide i genetski modifikovane organizme čime se minimizira njihov štetan uticaj na životnu

sredinu (Behera et al. 2012). Zasniva se na upotrebi sredstava i tehnologija koji vode ekološkoj ravnoteži prirodnih sistema (očuvanje zemljišta, vode, energije i biodiverziteta). Za đubrenje se koriste isključivo organska đubriva, a od mera nege biljaka, naročito za zaštitu od korova i bolesti, primenjuju se biopreparati, čime se ujedno smanjuje zavisnost od hemijske industrije (upotreba mineralnih đubriva i pesticida). Organski prinosi su globalno u proseku 25% niži od konvencionalnih prinosa, ali ipak treba imati u vidu da to varira u zavisnosti od vrste useva i od uporedivosti poljoprivrednih sistema (Gabriel et al. 2013).

Treći koncept poljoprivrede je integralna biljna proizvodnja koja ima sve elemente konvencionalnih sistema, ali se hemijske mere zaštite preporučuju tek kada u borbi protiv biljnih bolesti, korova i štetočina, ne postoji drugo rešenje. Drugim rečima, integralna zemljoradnja predstavlja, manje ili više, poboljšanu konvencionalnu poljoprivredu sa restriktivnom primenom đubriva i pesticida i sa manje ili više zastupljenom biološkom komponentom u programu zaštite bilja. Neki od integralnih sistema gajenja povrća, zasnovani su na korišćenju predatora i na značajnom smanjenju, ili izostavljanju hemijskih zaštitnih sredstava (Aronsson, Torstensson, and Bergström 2007).

2.3. Hemijski sastav krompira i analitičke metode za ispitivanje

Krompir ima veliku nutritivnu vrednost. Sadrži ugljene hidrate i minerale kao što su gvožđe, kalijum, fosfor i magnezijum. Dobar je izvor vitamina C, B1, B3 i B6 (Camire, Kubow, and Donnelly 2009), a sadržaj proteina u krtolama krompira je uporediv sa onim u žitaricama (Burlingame, Mouillé, and Charrondiere 2009). Krompir sadrži i značajnu količinu fenolnih kiselina i polifenola te je stoga dobar izvor antioksidanasa koji mogu doprineti sprečavanju degenerativnih i bolesti povezanih sa starenjem. Koncentracija polifenola, skroba, proteina, lipida, dijetetskih vlakana, minerala i vitamina zavisi od sorte odnosno boje jezgra krtola. Primera radi, karotenoidi poput luteina i zeaksantina su prisutni u većoj koncentraciji u belim sortama (Burgos et al. 2009) u odnosu na bele sorte, dok je koncentracija antocijanina, koji su prisutni u ljubičastim i crvenim sortama (Burgos et al. 2013), veća u ljubičastim sortama krompira. Krompir takođe sadrži glikoalkaloide, koji u visokim koncentracijama mogu biti toksični za ljude, ali u niskim koncentracijama mogu imati korisne efekte kao što je inhibicija rasta ćelija raka (Friedman 2015). Na hemijski sastav krtola krompira utiču različiti uslovi pre žetve (životna sredina, zrelost u berbi, biotički i abiotički stres, itd.) i posle berbe (prerada, skladištenje, transport, itd.). Sama adaptacija useva zavisi od genotipa, ali i od praksi upravljanja usevima koje treba da se razvijaju u skladu sa specifičnim agroekološkim uslovima i lokalnim proizvodnim sistemima.

2.3.1 Fenolna jedinjenja

Fenolna jedinjenja, poznata i kao polifenoli, čine jednu od najrasprostranjenije grupe antioksidanasa u biljnom svetu, sa više od 10.000 različitih struktura, u rasponu od relativno jednostavnih fenola do složenih polimera kao što su lignani i suberini. To su sekundarni metaboliti biljaka koncentrisani u tkivu lista, epidermisu, slojevima kore, cvetovima i plodovima biljke (Abdel and Mansour 2017). Sintetišu se pri normalnim uslovima razvoja biljaka i u uslovima stresa (infekcije, povrede, izlaganje ultra-ljubičastom zračenju, ekstremnim temperaturama i kontaminantima). Fenolna jedinjenja se proizvode u citoplazmi i zatim se transportuju u vakuoli ili deponuju u ćelijskom zidu, a mogu delovati kao signalni molekuli. Vršu hormonsku regulaciju rasta i učestvuju u pigmentaciji biljaka, privlače oprašivače, dok u namirnicama doprinose boji, ukusu, mirisu, gorčini i oksidativnoj stabilnosti (Manach et al. 2004). Biosinteza fenolnih jedinjenja uključuje: (1) sintezu aktiviranog derivata (hidroksi)cimetne kiseline, kao i specifične grane za formiranje (2) jednostavnih fenolnih kiselina, lignina i lignana, (3) flavonoida, (4) tanina i (5) stilbena (André et al. 2009). Početni korak u biosintezi je neoksidativna dezaminacija fenilalanina, dejstvom enzima fenilamonija-liaza (PAL). Dejstvom cinamat-4-hidroksilaze (C4H), hidroksilacijom cimetne kiseline, dobija se *p*-kumarinska kiselina. Dobijanje *p*-kumarinske kiseline je moguće i

dezaminacijom tirozina, dejstvom tirozinamonija-liaze (TAL). Sinteza ostalih jedinjenja fenilpropanoidnog puta polazi od *p*-kumaril-CoA, čije dobijanje katalizuje *p*-kumaril-CoA ligaza, kao i malonil-CoA. Bisinteza C6-C1 derivata je moguća β -oksidacijom *p*-kumaril-CoA ili neoksidativnim putem iz benzoil-CoA. Obično više puteva sinteze C6-C1 fenolnih kiselina koegzistira kod jedne biljne vrste. Fenolne kiseline karakteriše sličnost strukturne osnove, koju čini C6-C1 ili C6-C3 (fenil-bočni niz) struktura. U bočnom nizu se nalazi terminalni segment ugljenik-kiseonik različitog oksidacionog stanja (karboksilna, keto- ili metilen-hidroksi grupa). Fenolne kiseline se mogu podeliti u dve podgrupe: hidroksibenzojeve i hidroksicimetne kiseline. Hidroksibenzojeve kiseline karakteriše C6-C1 struktura, odnosno strukturni skelet fenil-grupa/karboksilna grupa. Hidroksicimetne kiseline za benzenov prsten imaju vezan bočni niz od tri atoma ugljenika, odnosno C6-C3 strukturu. U biljnom materijalu, ova jedinjenja su prisutna u slobodnom ili vezanom obliku, kao estar, etar ili acetal. Fenolne kiseline uključuju hlorogenu, kofeinsku, ferulnu i sinapinsku kiselinu.

Dejstvom kalkan sintaze (CHS) sintetiše se tetrahidroksikalkon (naringenin kalkon), prekursor većine flavonoida, a ukoliko dođe do reduktivne varijacije pomenute reakcije, uz dejstvo kalkan reduktaze (CHR) pored CHS-a, dobija se trihidroksikalkon, od koga se dalje sintetišu izo-flavonoidi (Winkel-Shirley 2001). Flavonidi su najproučavanija grupa polifenola i postoji više od 4000 flavonoida za koje se smatra da su odgovorni za boju cveća, voća i lišća. Imaju nizak redoks potencijal, zahvaljujući kojem mogu redukovati radikale sa visokim redoks potencijalom (npr. hidroksi radikal). Učestvuju u zaštiti od gljivičnih infekcija, odbiljanju biljojeda, heliraju metalne jone. Strukturu flavonoida čine dva fenolna jezgra povezana segmentom sačinjenim od tri ugljenikova atoma (C6-C3-C6 struktura). U zavisnosti od forme segmenta, flavonoidi se mogu podeliti na kalkone, aurone i derivate fenilhromana. Pomenuti strukturni segment kod kalkona nije ciklizovan, dok je kod aurona ciklizovan i formira petočlani prsten. Kod ostalih klasa flavonoida strukturna osnova je benzo- γ -piron (2-fenilhroman) koji se sastoji od tri prstena, odnosno dva fenolna jezgra i segmenta od tri ugljenikova atoma koji je ciklizovan i formira šestočlani piranski prsten. Zavisno od supstitucije prstena odnosno stepena oksidacije piranskog prstena definisane su sledeće klase flavonoida sa fenilhromanskim jezgrom: flavoni, flavanoni, flavanonoli, flavani, flavanoli, leukoantocijanidini i antocijanidini, izoflavonoidi i antocijanini. Među flavonoidima, antocijanini su prirodni pigmenti, odgovorni za crveno-plavu boju plodova voća i povrća i utiču na organoleptičke karakteristike namirnica (de Pascual-Teresa and Sanchez-Ballesta 2008). Flavonoli predstavljaju jednu od najrasprostranjenijih klasa flavonoida u biljci i uključuju jedinjenja poput kvercetina i kempferola koja se najčešće nalaze u svom glikozilovanom obliku, tj. povezana sa glukozom ili rutinozom. U poređenju sa drugim fenolnim jedinjenjima, poznato je da na koncentracije flavonola u velikoj meri utiču uslovi okoline tokom rasta biljaka (Lancaster et al. 2000). Fenolna jedinjenja se smatraju fitohemikalijama koje promovisu zdravlje jer su pokazale *in vitro* antioksidativnu aktivnost i prijavljeno je da pokazuju korisna antibakterijska, hipoglikemijska, antivirusna, antikancerogena, antiinflamatorna i vazodilatatorna svojstva (Mattila and Hellström 2007).

Krompir akumulira veliki broj sekundarnih metabolita, uključujući fenolna jedinjenja kao i mnoge druge fitokemikalije, kao zaštitu od štetnih efekata mehaničkih modrica, svetlosti i povreda od strane predatora kao što su bakterije, gljive, virusi i insekti (Shakya and Navarre 2006; Im et al. 2008). Kao takav, krompir je jedan od najvažnijih izvora antioksidanasa u ljudskoj ishrani. Učestvuje u sprečavanju oštećenja proteina, lipida, ugljenih hidrata i DNK izazvanih slobodnim radikalima (Andre, Larondelle, and Evers 2010). Na ovaj način, antioksidansi iz krompira mogu smanjiti rizik od raka, kardiovaskularnih bolesti i dijabetesa tipa 2. Na osnovu metaboličkih odnosa i strukturnog sastava, postoje tri glavne grupe antioksidanasa prisutnih u krompiru (Burgos et al. 2020). Prvu grupu čine aromatična fenolna jedinjenja, koja obuhvataju flavonoide uključujući antocijanine i flavonole, i aminokiseline tirozin, fenilalanin i triptofan proizvedene metaboličkim putem šikimata. Druga grupa obuhvata izoprenoidne antioksidanse kao što su karotenoidi i

tokoferoli; a treća grupa uključuje antioksidanse koji se odnose na funkcije askorbata i glutaciona u redoks sistemu uključujući askorbinsku kiselinu (Lovat et al. 2016).

Krompir je glavni izvor flavonoida, uključujući jedinjenja kao što su flavonoli, kemferol, kvercetin, miricetin, i karotenoida (Shakya and Navarre 2006). Takođe se navodi da su u krtolima krompira u relevantnim koncentracijama prisutna fenolna jedinjenja poput hlorogene kiseline, katehina, *p*-kumarinske kiseline, ferulne kiseline, kofeinske i protokatehuinske kiseline (Leo et al. 2008).

Osim što doprinose pigmentaciji i senzornim karakteristikama ove biljne kulture (Ignat, Volf, and Popa 2011) fenolna jedinjenja koja se nalaze u krompiru imaju antioksidativni kapacitet i mogu da zaštite ćelije od oksidativnog oštećenja i povezanih hroničnih bolesti izazvanih endogenim i egzogenim faktorima (Liao et al. 2011). U zavisnosti od sorte krompira, postoji i širok spektar fenolnih kiselina (hlorogena kiselina, kofeinska kiselina, feri kiselina, kumarinska kiselina i kininska kiselina) i antocijana čija koncentracija zavisi od genotipa krompira. Krtole crvenih sorti sadrže uglavnom pelagonidin-3-(*p*-kumaroil-rutinozid)-5-glukozid (200-2000 mg/g svežeg uzorka) i manje količine peonidin-3-(*p*-kumaroil-rutinozida)-5-glukozida (20-400 mg/g svežeg uzorka). Svetlo do srednje ljubičaste krtole sadrže petunidin-3-(*p*-kumaroil-rutinozid)-5-glukozid (1000-2000 mg/g svežeg uzorka) i male količine malvidina-3-(*p*-kumaroil-rutinozida)-5-glukozida (20-200 mg/g svežeg uzorka) dok krtole tamno ljubičasto-crne sorte sadrže petunidin-3-(*p*-kumaroil-rutinozida)-5-glukozida i malvidina-3-(*p*-kumaroil-rutinozid)-5-glukozid (2000-5000 mg/g svežeg uzorka) (Shiroma-Kian et al. 2008; Vinson et al. 2012). Shodno tome, može se zaključiti da koncentracije fenola uključujući antocijanine u krompiru utiču na boju, masu i koru, pri čemu jezgro ili kora krompira mogu biti potpuno ili delimično pigmentisani (Burgos et al. 2013). Kora krompira je takođe privukla pažnju kao prirodni antioksidans u ishrani zbog visokog sadržaja polifenola, za koji se smatra da je deset puta veći od njegovog nivoa u jezgru i čini oko 50% svih polifenola u krtoli krompira (Al-Weshahy and Rao 2012).

2.3.1.1 Metode za određivanje polifenolnih jedinjenja

U literaturi su opisane različite analitičke metode, kao što su spektroskopske, hromatografske, elektroseparatorne i kombinovane tehnike koje mogu biti primenjene za kvalitativnu i kvantitativnu analizu fenolnih jedinjenja koja su prisutna u krtolima krompira (Hurtado-Fernández et al. 2010; Falcão et al. 2010).

Spektrofotometrijske metode

Spektrofotometrija spada u grupu apsorpcionih metoda. Zasniva se na praćenju zavisnosti apsorpcije od talasne dužine zračenja koje prolazi kroz supstancu. Apsorpcija se može pratiti u ultraljubičastoj (UV), vidljivoj (VIS), infracrvenoj (IC), mikrotalasnoj i radiofrekventnoj oblasti (Heldt and Heldt 2005). To su brze i jednostavne metode koje se mogu primeniti za određivanje ukupnog sadržaja polifenola, flavonoida, antocijana i antioksidativne aktivnosti nekog uzorka. Omogućavaju kvalitativnu analizu koja se zasniva na činjenici da apsorpcioni spektar supstance zavisi od njenog sastava i strukture, i kvantitativnu analizu zasnovanu na Berovom zakonu - *Apsorbancija nekog rastvora srazmerna je koncentraciji ispitivanog rastvora, debljini sloja kroz koji svetlost prolazi i apsorptivnosti rastvorene supstance*. Ipak, najveća mana primene spektrofotometrijskih metoda za određivanje sadržaja polifenola je što metode nisu specifične samo za fenolna jedinjenja te mogu lako dovesti do pogrešne interpretacije rezultata (Everette et al. 2010).

Za merenje apsorpcije (ili transparentije) uzorka u funkciji od talasne dužine upotrebljenog elektromagnetnog zračenja koristi se spektrofotometar koji se sastoji od (1) izvora zračenja, (2) disperzionog elementa i (3) detektora. Kao izvor zračenja mogu se koristiti volframova lampa (300

- 2500 nm), deuterijumska lampa koja pokriva i ultraljubičastu oblast (190 - 400 nm) i ksenonska lampa (160 - 2000 nm) koja daje dobar kontinuum talasnih dužina u celoj oblasti UV-VIS spektra. Prizma i difrakciona rešetka se najčešće koriste kao disperzioni element i imaju funkciju da snop polihromatskog zračenja razlože na pojedinačne talasne dužine, odnosno uske oblasti talasnih dužina. Kao detektor, čija je uloga da pretvara svetlosni signal u električni, koristi se fotomultiplikator ili fotodiodni niz jer ima dobru osetljivost u celom UV-VIS području pri malom intenzitetu svetlosti. Time je omogućeno određivanje malih količina uzoraka. S obzirom da se UV-VIS sprektrofotometrom najčešće analiziraju uzorci tečnog agregatnog stanja neophodno je da kiveta, koja se koristi prilikom snimanja, bude transparentna za UV-VIS zračenje. Kivete su obično izrađene ili od silicijuma ili od kvarca, pravougaonog oblika širine 1cm.

Određivanje ukupnog sadržaja polifenola (Total Phenolic Content – TPC)

Ukupan sadržaj polifenola (engl. *Total Phenolic Content – TPC*) najčešće se određuje primenom Folin-Čikalteu (Folin-Ciocalteu) eseja (Abdel and Mansour 2017) zasnovanim na reakciji fenolnih jedinjenja sa kolorimetrijskim reagensom - smešom fosfomolibdenske i fosfovolframove kiseline (engl. *Folin-Ciocalteu reagens - FC*) i omogućava merenja u vidljivom delu spektra. Hemijska priroda same reakcije FC reagensa sa fenolnim jedinjenjima nije potpuno poznata ali pretpostavka je da se sastoji od niza reverzibilnih reakcija koje uključuju transfer jednog ili dva elektrona sa fenolnih jedinjenja na kompleks fosfomolibdenske/fosfovolframove kiseline u baznoj sredini (pH = 10) do pojave plavog obojenja čiji se intenzitet meri spektrofotometrijski na talasnoj dužini od 765 nm (Abdel and Mansour 2017). Na mehanizam reakcije polifenola sa FC reagensom, a samim tim i na interpretaciju rezultata mogu uticati drugi oksidansi tj. supstrati (aromatični amini, sumpordioksid, vitamin C, Cu(I), Fe(II)) tako da inhibiraju, pokazuju sinergističko delovanje ili pojačavaju učinak reagensa, što metodu čini nedovoljno selektivnom (Huang, Ou, and Prior 2005). Prilikom određivanja ukupnog sadržaja polifenola kao standard se koristi rastvor galne kiseline, a rezultati se prikazuju kao miligram ekvivalenta galne kiseline (GAE) po kg i/ili L ispitivanog uzorka.

Određivanje antioksidativnog kapaciteta

Na osnovu mehanizma reakcije koja se odigrava između slobodnih radikala i jedinjenja čiji se antioksidativni kapacitet određuje i na osnovu primenjenog reagensa, metode za određivanje antioksidativne aktivnosti se klasifikuju na: ABTS (2,2'-azino-bis-(3-etilbenzotiazolin-6-sulfonska kiselina), FRAP (redukcija antioksidativne moći gvožđa – Ferric Reducing Antioxidant Power), ORAC (kapacitet apsorbcije kiseoničnog radikala - Oxygen Radical Absorbance Capacity) i DPPH• metoda (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil radikal) (Aruoma 2003). U reakciji reaktivnih vrsta kiseonika sa primenjenim reagensom nastaju kompleksi koji se mogu kasnije spektrofotometrijski detektovati i odrediti (Karadag, Ozcelik, and Saner 2009). Jedna od najčešće korišćenih metoda, prvenstveno zbog svoje brzine izvođenja i jednostavnosti, jeste metoda sa DPPH• reagensom - RSA metoda (engl. *Radical scavenging activity*). Metoda se zasniva na sposobnosti prirodnih antioksidanasa da uklanjaju 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil slobodne radikale (DPPH•). U pitanju je stabilan slobodni radikal jer ne podleže dimerizaciji usled delokalizacije nesporenog elektrona u celom molekulu. Rastvor DPPH• ima tamnoljubičastu boju koja prilikom reakcije antioksidansa sa DPPH• prelazi u žutu, što je posledica prisustva pikril grupe, ili se u potpunosti obezbojava. Do promene boje dolazi usled prenosa elektrona sa antioksidansa na DPPH•, pri čemu se DPPH• redukuje u DPPH. Step en obezbojavanja je proporcionalan koncentraciji jedinjenja sa antioksidativnim svojstvom, a određuje se merenjem smanjenja intenziteta apsorbcije na 517 nm. Dobijeni rezultati se najčešće izražavaju kao mM TE (ekvivalent troloksa)/kg suvog uzorka ili mM TE/L uzorka (Karadag, Ozcelik, and Saner 2009).

Hromatografske metode

Ultra-efikasna tečna hromatografija sa masenim detektorom visoke rezolucije (UHPLC-LTQ OrbiTrap XL)

Poslednjih godina, masena spektrometrija visoke rezolucije (engl. *High Resolution Mass Spectrometry* - HRMS) i hibridni maseni spektrometar sa linearnom jonskom zamkom i Orbitrapom (LTQ-Orbitrap) pokazuju odlične performanse (J. Zhang et al. 2015; Yu et al. 2013). Zbog svoje brzine, širokog dinamičkog opsega signala, kvantitativne sposobnosti i mogućnosti povezivanja sa metodama hromatografskog odvajanja sve više se koriste u oblastima naučnih istraživanja (Perry, Cooks, and Noll 2008). Prvi korak tokom analize molekula masenom spektrometrijom je jonizacija kada se pod dejstvom spoljašnje energije molekuli prevode u jone dajući fragment najveće molekulske mase, koji odgovara „molekulskom jonu“ i može poticati od M-H, ili M+H jonizacije. Sledeći korak pri analizi molekula masenom spektroskopijom je razdvajanje nastalih jona ili fragmenata u analizatoru na osnovu odnosa mase i naelektrisanja (m/z). Orbitrap se pokazao kao robustan maseni analizator koji može rutinski da pruži visoku rezoluciju i preciznost u određivanju mase (Perry, Cooks, and Noll 2008). Maseni analizator se sastoji od tri elektrode – unutrašnje, centralne oko koje se kreću joni i dve spoljašnje, cilindrične elektrode koje imaju oblik čašica koje su okrenute jedna prema drugoj (Zubarev and Makarov 2013). Joni se tangencijalno ubrizgavaju u prostor između centralne i spoljašnje elektrode. Sa naponom primenjenim između ove dve elektrode, radijalno električno polje savija putanju jona ka centralnoj elektrodi, dok tangencijalna brzina stvara suprotnu centrifugalnu silu. Na taj način se sa ispravnim izborom parametara postiže kružno kretanje jona oko unutrašnje elektrode. Istovremeno, aksijalno električno polje izazvano posebnim konusnim oblikom elektroda gura jone ka najširem delu zamke inicirajući harmonijske aksijalne oscilacije. Spoljašnje elektrode se zatim koriste kao prijemne ploče za detekciju struje ovih aksijalnih oscilacija. Joni različitih masa osciluju različitim frekvencijama (Hu et al. 2005), a Furijeovim (Fourier) transformacijama (FT) se signal u vremenskom domenu konvertuje u oscilatorni signal, na taj način dolazi do razdvajanja jona po m/z vrednostima, razdvojeni fragmenti dalje odlaze na detektor i dobija se maseni spektar (Zubarev and Makarov 2013).

UHPLC-LTQ OrbiTrap XL je prihvaćena kao visoko osetljiva i selektivna tehnika za određivanje polifenola jer omogućava postizanje visoke rezolucije, a samim tim i visoke tačnosti merenja mase (Lucci, Saurina, and Núñez 2017). Povećava mogućnost da se nedvosmisleno odredi elementalni sastav poznatih i novih komponenata sa visokim nivoom tačnosti, obično ispod 5 ppm, na osnovu čega se onda može jasno napraviti razlika između ciljanih analita i drugih jedinjenja koja se koeluiraju (Y. Li et al. 2015; Q.-Q. Zhang et al. 2016). U pitanju je osetljiv uređaj koji predstavlja kombinaciju brze ultra-visokoefikasne tečne hromatografije (UHPLC) kao tehnike razdvajanja i hibridnog analizatora mase visoke rezolucije, koji se pokazao pouzdanim za preciznu detekciju različitih fenolnih jedinjenja. Detekcija velikog broja flavonoida, fenolnih kiselina i njihovih derivata zasnovana je na karakterističnom UHPLC retencionom vremenu (t_R) i strukturnim informacijama o molekulskim masama i MS/MS obrascu fragmentacije (Kečkeš et al. 2013; Mudrić et al. 2017). UHPLC LTQ-Orbitrap omogućava efikasno formiranje velike baze podataka o hemijskim komponentama, uključujući njihove tačne mase, elementalni sastav, puteve fragmentacije (Lv et al. 2018), a pored toga, njegova relativno niska cena, jednostavan dizajn i veliki kapacitet punjenja čine ga pogodnim za široku primenu u oblastima naučnih istraživanja (Perry, Cooks, and Noll 2008).

Ultra-efikasna tečna hromatografija sa ultravioletnim detektorom sa više dioda i masenim detektorom sa tri analizatora – trostruki kvadrupol (UHPLC-DAD MS/MS)

Reverzno-fazni sistemi visoko-efikasne tečne hromatografije sa ultravioletnim detektorom sa više dioda (Diode Array Detector - DAD) i masenim detektorom sa tri analizatora - trostruki kvadrupol

(*QqQ*, *triple quadrupol*, *UHPLC-DAD MS/MS*) je najčešće korišćene tehnike za analizu, odnosno kvantifikaciju fenolnih jedinjenja (Arceusz, Wesolowski, and Konieczynski 2013; Vukadinović 2021). UV detektor sa sistemom dioda (DAD) se zasniva na merenju UV apsorpcije (Silva et al. 2013; X.-H. Zhang et al. 2013; Gašić 2017) i obično se koristi za određivanje polifenolnog profila, jer većina fenolnih jedinjenja (fenolne kiseline) apsorbuju u UV oblasti (220 - 450 nm). U cilju povećanja osetljivosti metode, pogotovo kada je reč o analizi jedinjenja od značaja koja nemaju specifične hromofore, odabir odgovarajućih talasnih dužina je od presudnog značaja. Kvalitativna i kvantitativna analiza polifenola visoko-efikasnom tečnom hromatografijom sa ultravioletnim detektorom je moguća primenom metode internog standarda i poređenjem retencionih vremena uzoraka sa retencionim vremenima standarda. Činjenica da spektrofotometrijski detektori ne mogu da omoguće karakterizaciju jedinjenja, jer ne daju strukturne informacije, je njihov glavni nedostatak. Stoga se veliki značaj pridaje razvoju HPLC metoda koje uključuju masenu spektrometriju kao vid detekcije (Ciulu et al. 2016) čime je omogućena selektivnija i pouzdanija identifikacija jedinjenja (Lucci, Saurina, and Núñez 2017).

Maseni detektor sa tri analizatora (*QqQ*, „*triple quadrupole*”) kojeg čini linearni niz od tri kvadrupola poznat je kao trostruki kvadrupolni maseni spektrometar (MS) ili „tandem” MS. Prvi (Q_1) i treći (Q_3) kvadrupoli deluju kao filteri mase, a srednji (q_2) kvadrupol je koliziona ćelija. Ova tehnika omogućava proučavanje fragmenata koji su korisni u strukturnom pojašnjavanju različitih metabolita. Primera radi, Q_1 se može postaviti na „filter” za jon poznate mase, koji će biti fragmentisan u q_2 . Treći kvadrupol (Q_3) se tada može postaviti za skeniranje celog m/z raspona, dajući podatke o intenzitetu fragmenata. Na taj način se može utvrditi struktura početnog jona. Mnogi komercijalni tandemski maseni spektrometri dizajnirani su da ubrzavaju izvršavanje rutinskih sekvenci, kao što je praćenje odabranih reakcija (eng. *Selected reaction monitoring - SRM*) i skeniranje prekursorskih jona. Ovakvi eksperimenti se koriste za povećanje specifičnosti pri kvantifikaciji poznatih molekula, posebno u farmakokinetičkim studijama.

2.3.2 Askorbinska kiselina

Termin „vitamin C” se odnosi na sva jedinjenja koja pokazuju ekvivalentnu biološku aktivnost kao L-askorbinska kiselina (L-AA), uključujući njene oksidacione proizvode (dehidroaskorbinska kiselina, DHAA), izomere (izoaskorbinska kiselina, IAA), estre (askorbil-palmitat) i sintetičke oblike (6-deoksi-L-AA, 2-fosfat-L-AA). Jedan je od najvažnijih vitamina rastvorljivih u vodi, poznat po visokoj antioksidativnoj aktivnosti (Spínola, Llorent-Martínez, and Castilho 2014). Vitamin C je važan hvatač slobodnih radikala, reaktivnih vrsta kiseonika, kao što su hidroksilni radikali, superoksidni anjoni, singletni kiseonik i vodonik-peroksid koji mogu izazvati oštećenje tkiva kao rezultat peroksidacije lipida, razgradnje DNK ili promena baza, što može doprineti degenerativnim bolestima kao što su bolesti srca ili rak. Pored toga, učestvuje u oksidaciji jona prelaznih metala, zbog čega vitamin C igra važnu ulogu u povećanju bioraspodivnosti gvožđa bez hema (Teucher, Olivares, and Cori 2004) i služi kao kofaktor u sintezi hormona (kofaktor enzima) i kolagena neophodnih za održavanje kardiovaskularne funkcije, održavanje hrskavice, kostiju i zuba, kao i zarastanje rana (Naidu 2003). Primenjuje se i u prehrambenoj industriji kao aditiv, sprečavajući oksidaciju prehrambenih proizvoda (Spínola, Llorent-Martínez, and Castilho 2014). Vitamin C je moćan redukcionni agens koji se nalazi u milimolarnim količinama u biljkama, i igra važnu ulogu u uklanjanju slobodnih radikala. Iznenadujuće se malo zna o ulozi ovog antioksidansa u adaptaciji biljaka na stres iz životne sredine ili biosintezi askorbata.

Krompir je dobar izvor askorbinske kiseline, odnosno vitamina C. Sadržaj vitamina C u krompiru zavisi od nekoliko faktora uključujući sortu, proizvodnu praksu, žetvu i uslove skladištenja (Andre et al. 2007; Burgos et al. 2009). Koncentracija vitamina C u sveže ubranom krompiru može dostići vrednost od 50 mg/100 g (Han et al. 2004), a prosečan sadržaj vitamina C u krompiru je u opsegu 8 - 30 mg/100 g sveže mase krtole (Han et al. 2004). Kako se u ishrani ljudi ne koristi krompir u

svežem stanju već zahteva preradu, a u uslovima prerade hrane je vitamin C podložan razgradnji, sprovedene su opsežne studije kako bi se utvrdili efekti obrade na sadržaj vitamina C u krompiru (Han et al. 2004). Kuvanje i skladištenje smanjuju koncentraciju vitamina C u krtolama krompira. Generalno, sadržaj vitamina C se smanjuje za 30-45% tokom prva 3 meseca skladištenja, a sorte sa visokim početnim sadržajem askorbinske kiseline trpe veće gubitke tokom dugotrajnog skladištenja od onih sa niskim početnim sadržajem. Pokazano je da nivo zadržavanja vitamina C u krtolama nakon skladištenja varira između 22% i 62%, u zavisnosti od sorte (Burgos et al. 2020). Pored toga, pokazano je da u uslovima rane berbe dolazi do povećanja koncentracije askorbinske kiseline, dok kasnija berba dovodi do postepenog smanjenja sadržaja vitamina C. Razlike u stepenu smanjenja sadržaja vitamina C zavise i od vrste termičke obrade (kuvanja) krompira. Količina vitamina C nakon termičke obrade varira između 50% i 90%. Gubici mogu biti uzrokovani razgradnjom i rastvaranjem vitamina C u ključaloj vodi, kao i njegovom oksidacijom. Zanimljivo je napomenuti da kora stvara barijeru koja sprečava gubitak hranljivih supstanci tokom kuvanja. Kao posledica toga, kuvanje krompira kada je oljušten dovodi do 10% više gubitka vitamina C i fenolnih jedinjenja nego ako se kuva sa korom (Burgos et al. 2020).

2.3.2.1 Metode za određivanje sadržaja vitamina C

Visokoefikasna tečna hromatografija (eng. High-Performance Liquid Chromatography” - HPLC)

Mnoge analitičke metode - spektrofotometrijske, titracione i enzimske, uključujući i visokoefikasnu tečnu hromatografiju (eng. High-Performance Liquid Chromatography” - HPLC), se primenjuju za određivanje sadržaja vitamina C u uzorcima hrane (Spínola, Llorent-Martínez, and Castilho 2014). Spektrofotometrijske metode kvantifikacije zasnovane su na oksido-redukcionim osobinama vitamina C. U reakciji vitamina C sa oksidansom dolazi do pretvaranja L-askorbinske kiseline u dehidro-L-askorbinsku kiselinu. Najpre se izmeri apsorbanacija rastvora čiste L-askorbinske kiseline, a zatim se nakon dodatka oksidansa izmeri apsorbanacija nastale smeše. Razlika apsorbanacija proporcionalna je koncentraciji vitamina C u uzorku. S obzirom da je reakcija oksidacije L-askorbinske kiseline spora, kao katalizator se dodaju joni bakra(II). Međutim, pri spektrofotometrijskoj analizi vitamina C iz uzoraka voća i povrća često se u spektru pojavljuju interferencije kao posledica prisutnosti drugih karboksilnih kiselina (npr. oksalna, limunska i vinska kiselina). Stoga je pre snimanja spektra potrebno odvojiti interferirajuće komponente, što ove metode čini komplikovanijim u odnosu na druge. S druge strane, za određivanje koncentracije vitamina C se koriste i volimetrijske metode - jodimetrijska titracija uz skrob kao indikator i kiselinsko-bazna titracija uz bromtimol-plavo ili uz fenolftalein kao indikator. Međutim, primenom ovih metoda se često dobijaju veći rezultati za sadržaj vitamina C u odnosu na druge metode, što se može objasniti činjenicom da su metode titracije neselektivne. Naime, pri jodimetrijskoj titraciji uzoraka, pored askorbinske kiseline u uzorcima su prisutne i druge supstance koje mogu reagovati sa jodom i redukovati ga, čime direktno utiču na određivanje sadržaja vitamina C. Analogno tome, svaka supstanca koja ima kisela svojstva, a potiče iz ispitivanog uzorka, reaguje sa natrijum-hidroksidom koji se koristi pri kiselinsko-baznim titracijama, usled čega se dobijaju i po nekoliko desetina puta veće vrednosti za mase vitamina C u uzorcima. Enzimska metoda za određivanje sadržaja vitamina C se zasniva na upotrebi enzima askorbat-oksidade i visoko specifična je metoda za askorbinsku kiselinu čime obezbeđuje odgovarajuće rezultate sadržaja vitamina C. Ipak, metode analize zasnovane na primeni visokoefikasne tečne hromatografije obezbeđuju veću selektivnost od ostalih pomenutih metoda kada je u pitanju određivanje sadržaja askorbinske kiseline. Generalno, HPLC metode su neophodne za analizu mnogih uzoraka hrane prvenstveno zbog složenosti samog matriksa i prirode uzorka koji zahtevaju visoku selektivnost i osetljivost (Spínola, Llorent-Martínez, and Castilho 2014).

Određivanje sadržaja vitamina C se vrši u sistemu reverzno-fazne visokoeffikasne tečne hromatografije (RP-HPLC) zbog neisparljivosti i hidrofilne prirode L-askorbinske kiseline. Reverzno-fazni sistemi podrazumevaju manje polarnu stacionarnu fazu od mobilne faze. Najčešće korišćeni adsorbenti u RP sistemima su nepolarne (hidrofobne) hemijski modifikovane faze (alkil-modifikovani silika-gelovi, najčešće C-18 silika-gel). Kod određivanja sadržaja vitamina C najčešće se kao stacionarna faza primenjuje C-18 silika-gel. Koncentracija adsorbovane supstance na površini čvrste faze, adsorbensa, je u ravnoteži sa koncentracijom supstance koja se nalazi u rastvaraču (Meyer 2013). Mobilna faza u HPLC-u je tečna i njena uloga je da, krećući se kroz kolonu, nosi sa sobom rastvorene komponente uzorka. Kod određivanja sadržaja vitamina C kao mobilna faza se koristi fosfatni pufer (pH = 2,5). Bitno je da se pH vrednost mobilne faze podese da bude niža od vrednosti pKa askorbinske kiseline (4,17) da bi se sprečila njena degradacija (Spínola, Llorent-Martínez, and Castilho 2014). Prilikom hromatografisanja dolazi do interakcija mobilne faze i rastvorene supstance, ali uporedo dolazi i do neophodnih interakcija molekula mobilne i stacionarne faze. Ove interakcije određuju selektivnost upotrebljenog hromatografskog sistema. S druge strane, osetljivost HPLC metode u velikoj meri zavisi od izbora adekvatnog detektora. Najčešće korišćeni su spektrofotometrijski (UV/VIS) i elektrohemijski detektori (Mazurek and Jamroz 2015). UV detektor je prilično osetljiv, ima širok linearin opseg i na njega ne utiče promena temperature. Koristi se za određivanje supstanci koje apsorbuju u UV ili vidljivoj oblasti. Kako je za L-askorbinsku kiselinu karakteristična snažna apsorpcija u ultraljubičastom području (245–270 nm), to UV detekciju čini najčešće primenjivanom tehnikom detekcije u procesu određivanja sadržaja vitamina C. Ređe korišćena je fluorescentna detekcija (FD) i elektrohemijska detekcija (ECD), kao i masena spektrometrija (MS) (Spínola, Llorent-Martínez, and Castilho 2014). Rezultat hromatografske analize je hromatogram, odnosno grafik zavisnosti koncentracije analiziranih supstanci u eluatu od vremena ili zapremine mobilne faze na osnovu kojeg je omogućena kvalitativna i kvantitativna analiza uzorka. Položaj maksimuma pika (maksimuma koncentracije) na apscisnoj osi koristi se za identifikaciju komponenta uzorka, a površina i visina pika proporcionalne su njihovim količinama, odnosno koncentracijama. Kvantifikacija se postiže pomoću jednačine prave, dobijene metodom najmanjih kvadrata na osnovu površine ispod pikova za seriju standardnih rastvora askorbinske kiseline. Rezultati se najčešće izražavaju kao mg vitamina C/100 g ili mg vitamina C/kg ispitivanog uzorka.

Takođe, ultra-visoko efikasna tečna hromatografija (eng. Ultra-High-Performance Liquid Chromatography - UHPLC) se koristi za analizu vitamina C u hrani. Kao ključne prednosti ove metode ističu se kraće vreme trajanja analize i mnogo manja potrošnja rastvarača u poređenju sa drugim analitičkim pristupima (Spínola et al. 2012).

2.3.3 Šećerni profil krtola krompira

Pod terminom ugljeni hidrati (sinonim saharidi) podrazumeva se velika grupa polvihidroksilnih aldehida i ketona i njihovih derivata. Oni čine najzastupljeniju grupu prirodnih proizvoda različite strukture (He, Agnihotri, and Liu 2000; Xiong et al. 2015). To su primarni proizvodi fotosinteze (Akšić et al. 2019) koji igraju brojne važne uloge u živim organizmima. Imaju ulogu strukturnih molekula neophodnih za izgradnju ćelijskih zidova (Akšić et al. 2019), koriste se kao prekursori u metaboličkim procesima sinteze organskih i aminokiselina, polifenola, pigmenta i aromatičnih jedinjenja, i omogućavaju skladištenje energije (Xiong et al. 2015). Glavni su izvor energije u organizmu. Unose se putem ishrane i na taj način obezbeđuju između 40% i 80% ukupnih energetske potrebe. Pored obezbeđivanja energije, ugljeni hidrati utiču na ljudsku fiziologiju - na izgradnju, regeneraciju, reparaciju i održavanje tkiva (Ikanone and Oyekan 2014; Pinhero et al. 2016). S druge strane, uključeni su u skoro sve metaboličke procese kod biljaka, uključujući komunikaciju između ćelija, embriogenezu, klijanje semena i napredak u rastu sadnica, razvoj vegetativnih i reproduktivnih organa, starenje, odgovore na sve vrste biotičkih i abiotičkih stresova, koordinaciju ekspresija mnogih gena (Koprivica 2020). Ugljeni hidrati se često oksiduju i

kovalentno vezuju za druge biomolekule kao što su proteini i lipidi formirajući na taj način glikoproteine i glikolipide. Takođe, interakcije ugljenih hidrata i proteina su uključene u različite biološke procese kao što su prepoznavanje virusne i bakterijske infekcije, imuni odgovor i metastaze (Xiong et al. 2015). Pored toga, ugljeni hidrati su korisni u smanjenju rizika od određenih bolesti kao što su rak, bolesti srca i dijabetes (Ikanone and Oyekan 2014).

Glavne klase ugljenih hidrata značajnih za ishranu ljudi su mono- i disaharidi (glukoza, fruktoza, saharoza, laktoza i maltoza), polioli (sorbitol i manitol), oligosaharidi i polisaharidi (skrobni i neskrobni polisaharidi) (Folgado et al. 2014; Yuan et al. 2016). Uzimajući u obzir važnost krompira u ishrani ljudi, identifikacija i kvantifikacija različitih klasa ugljenih hidrata u krtolama krompira neophodna je za dalje razumevanje njegovog uticaja na fiziološke procese (Muir et al. 2009). Međutim, treba imati u vidu da do sada nije urađena sveobuhvatna analiza šećernog profila gomolja krompira tj. da su podaci vezani za šećerni profil prilično oskudni.

Sadržaj ugljenih hidrata u krtolama krompira varira u zavisnosti od vrste, agroekoloških uslova, načina proizvodnje, đubrenja, temperature i načina skladištenja (Bethke, Sabba, and Bussan 2009; Chen et al. 2010; Thompson et al. 2008). Toplotni stres i nedostatak vode tokom vegetacionog perioda indukuju promenu aktivnosti enzima koji učestvuju u metabolizmu ugljenih hidrata (Thompson et al. 2008). Stoga je praćenje nivoa šećera ključni korak za određivanje koje krtole treba preraditi (Rady and Guyer 2015). U krtolama krompira glukoza i fruktoza su redukujući monosaharidi sa koncentracijama između 0,15% i 1,5%. Najzastupljeniji disaharid u krtolama krompira je saharoza čiji je sadržaj od 0,4% do 6,6%, dok su ostali šećeri prisutni u tragovima (Burton 1989; Woolfe, Woolfe, and Poats 1987; Zommick et al. 2014).

Među svim polisaharidima skrob je posebno zanimljiv zbog mnogih korisnih funkcionalnih karakteristika, kao što su zgušnjavanje, prevlačenje, geliranje i lepljiva svojstva, što ga čini posebno pogodnim za upotrebu u širokom spektru industrijskih proizvoda i prehrambenoj industriji (McCarthy, Singh, and Kaur 2009; Ikanone and Oyekan 2014). Fizičke, hemijske i funkcionalne karakteristike skrobnih sistema i njihova jedinstvenost u različitim hranljivim proizvodima variraju u zavisnosti od biološkog porekla (McCarthy, Singh, and Kaur 2009). Zajedno sa sadržajem šećera, skrob definiše unutrašnji i/ili spoljašnji kvalitet proizvoda (Stark and Love 2003). Pored toga, odnos između sadržaja skroba (polisaharida) i redukujućih šećera određuje kvalitet i pogodnost krompira za industrijsku preradu (čips i pomfrit) (Arvanitoyannis, Vaitsi, and Mavromatis 2008). Sadržaj skroba je jedan od parametara koji utiče na hranljivu vrednost krompira i podložan je velikim varijacijama (Gvozden 2016). On varira od 11% do 30% u gajenom krompiru, do 4-40% kod divljih vrsta. Generalno, svež krompir se sastoji od oko 20% suve čvrste supstance, od čega je 60–80% skroba. Skrob u krompiru je najčešće 70-80% amilopektin, a ostatak je amiloza (Raatz et al. 2016). Na ukupan sadržaj skroba u krtolama značajno utiče njihov genotip, kao i okruženje i uslovi gajenja, odnosno način proizvodnje krompira (Raatz et al. 2016).

2.3.3.1 Metode za određivanje sadržaja šećera

Visokoefikasna anjonsko-izmenjivačka hromatografija sa pulsnom amperometrijskom detekcijom (High Performance Anion Exchange Chromatography With Pulse Amperometric Detection - HPAEC-PAD)

Detekcija na osnovu indeksa refrakcije (RI) je standardni pristup za kvantitativno određivanje šećera putem visoko-efikasne tečne hromatografije, dok je UV detekcija najčešće korišćena metoda detekcije za opštu HPLC analizu (Jalaludin and Kim 2021). I jednom i drugom metodom se mogu analizirati niži šećeri. Međutim, analiza složenih uzoraka nije moguća zbog prisutnih šećernih alkohola i organskih kiselina. Stoga, analitička metoda koja se najčešće koristi u cilju identifikacije i kvantifikacije šećera jeste visokoefikasna anjonsko-izmenjivačka hromatografija visokih

performansi sa pulsnom amperometrijskom detekcijom (High Performance Anion Exchange Chromatography With Pulse Amperometric Detection - HPAEC-PAD). Ova tehnika se može primeniti za rutinsku analizu aldehida, jednostavnih alkohola, glikola, polialkohola i ugljenih hidrata. Analiza šećera se zasniva na oksidativnim procesima koji se odvijaju na elektrodi u toku pulsne amperometrijske detekcije. Naime, metoda se zasniva na tome da se šećeri na visokim pH vrednostima (od 12 do 14) ponašaju kao veoma slabe kiseline, te su delimično ili potpuno jonizovani. S tim u vezi, mehanizam koji se dešava u koloni je jonoizmenjivački i zasniva se na elektrostatičkim interakcijama između hidratiranih jona analita i suprotno naelektrisanih funkcionalnih grupa jonskog izmenjivača tj. stacionarne faze smeštene unutar kolone (Nesterenko and Paull 2017). HPAEC-PAD kolone predstavljaju gusto pakovane polimerne jake anjonsko-izmenjivačke smole sa visokom otpornošću prema visokim i niskim pH vrednostima, sa brzim prenosom mase i difuzijskim svojstvima i dobrom mehaničkom stabilnošću (Pascual-Mate et al. 2018). Najčešće korišćene i komercijalno dostupne kolone za anjonsku izmenu su na bazi polimera: poli(vinilalkohol), poli(metakrilat), polistiren-divinilbenzen i poli(stiren-etilvinilbenzen) (Koprivica 2020), dok se za analizu šećera najčešće primenjuju anjon-izmenjivačke smole odnosno CarboPac® jonoizmenjivačke kolone. Eluiranje se postiže dodatkom konkurentnih jona (istog naelektrisanja kao i analit) u mobilnu fazu. U većini slučajeva eluenti koji se koriste u jonoizmenjivačkoj hromatografiji su vodeni rastvori. Izuzetak su analize kod kojih treba izbeći neželjene hidrofobne interakcije. Tada se koriste određeni organski rastvarači. Eluenti koji se primenjuju pri anjonskoj izmeni mogu biti razblaženi rastvori elektrolita i/ili višekomponentni, puferskih rastvori organske ili neorganske prirode (Koprivica 2020). Šećeri se eluiraju rastvorom natrijum-hidroksida koji ima visoku pH vrednost. Na taj način se, usled alkalne sredine, OH grupe na šećerima deprotonuju, nastaju odgovarajući anjoni i ispitivani šećeri se mogu određivati pomoću HPAEC (Maness 2010). Kvantifikacija jedinjenja se vrši pulsnom amperometrijskom detekcijom koja se principijelno zasniva na merenju promene električne struje u rastvoru usled različitih koncentracija jona i razlike u potencijalima radne i referentne elektrode. Uzimajući u obzir činjenicu da je PAD detektor osetljiviji i selektivniji u poređenju sa RI detektorom (Giannoccaro, Wang, and Chen 2006), ne treba da čudi široka primena HPAEC-PAD. Takođe, jonoizmenjivačka hromatografija omogućava odvajanje širokog spektra organskih jedinjenja i pouzdana merenja veoma niskih koncentracija analita. Derivatizacija analita nije potrebna, a termička degradacija ne predstavlja problem, što predstavlja veliku prednost jonoizmenjivačke hromatografije u odnosu na druge tehnike.

Polarimetrija

Mnoge od trenutno dostupnih metoda za određivanje skroba (enzimske metode, metoda po Majhoferu (Mayrhofer) i metoda po Grassefelu (Grassfel)) imaju ograničenu mogućnost primene jer ne daju prave vrednosti sadržaja skroba kada uzorak sadrži pektin, neskrobne polisaharide, proteine i druge ometajuće supstance. Kod uzoraka poput krtola krompira posebno je važno eliminisati smetnje koje potiču od pektina. Najčešće primenjivana metoda je nespektroskopska metoda – polarimetrija. To je fizičko-hemijska metoda koja se zasniva na skretanju ugla polarizovane svetlosti pri prolasku kroz optički aktivnu sredinu. Uređaj koji se koristi za merenje optičke aktivnosti neke supstance naziva se polarimetar. Njegovi osnovni delovi su dve naizmenično postavljene Nikolove prizme. Prva prizma koja se nalazi do izvora svetlosti i stvara polarizovanu svetlost naziva se polarizator, a druga je postavljena na izvesnom odstojanju od prve i naziva se analizator. Ona registruje odstupanje ravni polarizovane svetlosti koje nastaje zbog stavljanja optički aktivne supstance (rastvor analiziranog uzorka) u polarimetrijsku cev, koja razdvaja ove dve prizme. Svaki rastvor čija se koncentracija određuje mora da ima specifični ugao rotacije, a to je ugao koji obrne 100 g optički aktivne supstance rastvorene u 100 g vode pri temperaturi od 20 °C i pri korišćenju natrijumove svetlosti (natrijumova D-lampa).

2.3.4 Mineralni sastav krtola krompira

Minerali su mikronutrijenti neophodni za rast, održavanje i pravilno funkcionisanje ljudskog organizma (Zand et al. 2011). Adekvatan unos mikronutrijenata je neophodan za zdravlje i prevenciju ili lečenje različitih bolesti, kao što su demineralizacija kostiju i arterijska hipertenzija, i za održavanje ukupnog kardiovaskularnog zdravlja (Fenech and Ferguson 2001). Pošto ljudski organizam ne može da sintetiše esencijalne elemente i elemente u tragovima, oni se moraju unositi kao sastavni deo ishrane (Grembecka and Szefer 2013). Za pravilno funkcionisanje ljudskog organizma su potrebna najmanje 22 mineralna elementa (Kärenlampi and White 2009), a gotovo svi metali prisutni u prirodi se mogu naći i u biljkama. Stoga su biljke glavni izvor mikronutrijenata. Oni utiču na životne procese, anatomsku i morfološku građu, hemijski sastav, prinos i rasprostranjenost određene biljne vrste (Ilić 2016). Na osnovu zastupljenosti u biljkama elementi se mogu podeliti na: makro-, mikro- i ultramikroelemente. U makroelemente se ubrajaju: C, O, H, N, P, K, Ca, Mg, S, Na, Si i Cl čiji je sadržaj u biljkama, ukoliko se izuzmu ugljenik, vodonik i kiseonik, od 2 mg/g do 60 mg/g. U mikroelemente se ubrajaju Cu, Zn, B, Mn i dr., i njihov sadržaj je u rasponu od 1 µg/g do 1 mg/g, dok je sadržaj ultramikroelemenata (I, Se, Mo i dr.) manji od 1 µg/g. S druge strane, na osnovu toga koliki je značaj nekog elementa za biljku, oni se dele na neophodne, korisne i ostale. U neophodne elemente spadaju Ca, Mg, S, Fe, B, Mn, Cu, Zn, Cl, Mo, Co i bez njih biljka ne može da obavlja svoj životni ciklus. Neophodni elementi omogućavaju normalan rast i razvoj biljaka, a njihova uloga u metaboličkim procesima je specifična i ne mogu se zameniti drugim elementima. Korisni elementi su elementi koji nisu neophodni biljci, ali stimulatивно deluju na njen rast i razvoj, dok se pod terminom „ostali elementi” podrazumevaju elementi koji u niskim koncentracijama ne utiču na rast i razvoj biljke, ali u većim količinama imaju toksično dejstvo. Takvi elementi su: Pb, Hg, Cd, Cr i dr. (Ilić 2016).

Krompir je odličan izvor mikronutrijenata (Kärenlampi and White 2009). Bioraspoloživost mineralnih elemenata u krompiru je potencijalno visoka jer gomolje krompira imaju relativno visoke koncentracije organskih jedinjenja kao što su askorbinska kiselina (vitamin C), proteini i različite organske i aminokiseline (Galdón et al. 2012) koji stimulišu apsorpciju mineralnih mikronutrijenata, i niske koncentracije jedinjenja koja mogu ograničiti njihovu apsorpciju, kao što su fitat (0,11–0,27% mase krtole) (Kärenlampi and White 2009) i oksalat (0,03% mase krtole) (Kärenlampi and White 2009).

Mineralni elementi se ne sintetišu u biljci, već se apsorbuju iz zemlje korenom biljke. Koncentracije mineralnih elemenata u tkivima gomolja krompira se menjaju kako biljka stari, a u nedeljama nakon iniciranja gomolja ova promena je značajna (Turakainen, Hartikainen, and Seppänen 2004), s tim da njihove koncentracije ostaju relativno konstantne tokom završnih faza razvoja useva (Kolbe and Stephan-Beckmann 1997). Raspodela mineralnih elemenata takođe varira unutar krtola krompira. Varijacije u koncentracijama mineralnih elemenata mogu postojati između kraja stabljike i distalnog kraja gomolja krompira (Sowokinos 2007). Neki elementi, kao što su K, Ca, Mg, Fe, Zn, Mn i Cu, su više koncentrisani u kori krompira u odnosu na jezgro (Sowokinos 2007), pa se može reći da kora deluje kao selektivni filter za određene metale i sprečava njihovo kretanje unutar krtole (Angelova et al. 2010).

Mineralni sastav krtola krompira u velikoj meri je određen fitodostupnošću mineralnih elemenata u zemljištu, te stoga zavisi od lokalne geologije i agronomske prakse, kao što je konvencionalna, integralna ili organska proizvodnja (Kärenlampi and White 2009). Međutim, trenutno postoji veoma malo dostupnih podataka koji bi direktno povezali sadržaj metala u krtolama krompira sa različitim poljoprivrednim sistemima u kojima se krtole uzgajaju (Jorhem and Slanina 2000). Pored toga, na sadržaj metala u usevima krompira utiče nekoliko faktora, uključujući tip zemljišta, klimatske uslove, vrste useva i izbor sorti (Suárez, Rodríguez, and Romero 2007). Najveći nedostatak dosadašnjih komparativnih studija je što prilikom analize mineralnog sastava nisu praćeni i

kontrolisani uticaji pomenutih faktora na sadržaj metala i što eksperimenti nisu ponovljeni tokom nekoliko sezona rasta (Cooper et al. 2011). S druge strane, noviji i više kontrolisani eksperimenti koji upoređuju organske i konvencionalne sisteme proizvodnje često su pokazali kontradiktorne rezultate, što može biti posledica ograničenog broja analiziranih uzoraka, različitih sorti određenih useva koje se porede, kratkog vremena između eksperimenata i/ili geografska/ekološka varijabilnost (Hajšlová et al. 2005).

S obzirom na značaj konzumiranja krompira sa dokazanim zdravstvenim prednostima, visokim senzornim kvalitetima i bogatim prisustvom bioaktivnih supstanci, postoji potreba za proučavanjem varijabilnosti hranljivih supstanci među sortama (Aregbe, Mu, and Sun 2019). Poznavanje kvalitativnog i kvantitativnog prisustva elemenata u krtolama krompira može biti moćno sredstvo u autentifikaciji genotipova krompira i geografskog porekla. Takođe, definisanje sastava krompira u smislu prisustva elemenata važno je kako za ocenu njegove autentičnosti, tako i za zaštitu geografskog porekla (Mansour et al. 2009).

2.3.4.1 Metode za određivanje sadržaja makro- i mikroelemenata

Induktivno kuplovana plazma – optičko emisiona spektrometrija (Inductively coupled plasma-optical emission spectroscopy, ICP-OES)

ICP-OES metoda je zasnovana na principima atomske emisije spektrometrije i ispitivanju karakteristične svetlosti koju emituje analizirana supstanca. Ova tehnika je široko korišćena za multielementalnu analizu (analiza makro, mikro i elemenata u tragovima). ICP-OES metoda ima niz prednosti u odnosu na tehnike poput atomske apsorpcione spektrofotometrije (AAS), kao što su mogućnost simultanog određivanja više od 70 elemenata periodnog sistema, relativno kratko vreme analize, širok linearni dinamički opseg analitičke krive (4 - 6 redova veličine), niska granica detekcije (1-100 $\mu\text{g}/\text{kg}$), visoka tačnost i preciznost merenja (Nölte 2021; Hou and Jones 2000).

ICP-OES instrument se sastoji od sistema za unošenje uzorka, RF-generatora, plazmenika, spektrometra i detektora. Sistem za unošenje uzorka, koji se sastoji iz raspršivača i komore za raspršivanje, formira aerosol čestica odgovarajućih veličina, koji dospeva do indukovano spregnute plazme - izvora poduđivanja analita. Plazma predstavlja visokojonizovani gas, koji se sastoji iz jona, atoma i slobodnih elektrona, molekula i radikala, koji nastaju kao rezultat kuplovanja energije sa supstancom u gasnom stanju. Plazma se formira u plazmeniku (eng. *torch*) koji se sastoji od tri koncentrične cevi, najčešće izgrađene od kvarca. Spoljašnja cev se koristi za hlađenje plazme i kroz ovu cev protiče pomoćni gas, argon. Sama plazma se generiše u središnjoj cevi, a uzorak se uvodi kroz unutrašnju cev. Oko plazmenika je namotan bakarni kalem, koji je povezan sa radio-frekventnim generatorom. RF-generator je uređaj koji se koristi za dobijanje snage potrebne za nastajanje i održavanje plazme. Kada aerosol dospe do plazme, dolazi do njegove desolvatacije, atomizacije, disocijacije, jonizacije i ekscitacije. Vreme zadržavanja na višim energetske nivoima je veoma kratko ($\sim 10^{-8}$ s). U procesu relaksacije, pobuđeni joni i atomi analita emituju elektromagnetno zračenje određene talasne dužine koja je karakteristična veličina datog elementa. Elektromagnetno zračenje se potom selektuje i fokusira ka spektrometru pomoću niza konveksnih sočiva gde se odvaja prema talasnim dužinama pomoću spektrometra. Zračenje samo jedne talasne dužine stiže do detektora koji pretvaraju energiju zračenja u električni signal čiji se intenzitet meri. Na osnovu toga se dobijaju kvantitativni podaci o analiziranoj vrsti. Naime, na konstantnoj temperaturi izvora, tj. pri dovoljnoj stabilnosti plazme, intenzitet atomske emisije linije je direktno srazmeran broju čestica u izvoru koje emituju zračenje, te prema tome, indirektno proporcionalan koncentraciji elementa u analiziranom uzorku, što omogućava kvantitativnu analizu. Sa druge strane, prisustvo atomske linije karakteristične za posmatrani element, direktan je dokaz njegovog prisustva u analiziranom uzorku i predstavlja opšti princip na kojem se zasniva kvalitativna analiza kod emisionih optičkih metoda. Kod ICP-OES postoji i mogućnost snimanja tzv. *Full Frame*-a

uzorka koji predstavlja grafičku prezentaciju spektra snimljenog CID (engl. charge injection device) detektorom, čime se mogu indentifikovati svi elementi prisutni u uzorku (Nölte 2021; Hou and Jones 2000).

Tipični uzorci koji se analiziraju su zemljište, stene, voda, biološki material itd. Prethodni tretman većine uzoraka je neophodan, jer se uzorak uglavnom uvodi u tečnom agregatnom stanju. Moguća je i direktna analiza čvrstih supstanci pomoću lasera (LA) ili elektrotermalnog isparavanja (ETV) (Nölte 2021; Hou and Jones 2000).

Mana ICP-OES metode leži u tome što određeni metali imaju slične talasne dužine, što dovodi do problema kod interpretacije rezultata, tj. do „lažnih rezultata”. Ovaj problem se prevazilazi selektovanjem drugih talasnih dužina, koje su svojstvene samo određenom elementu. Takođe, ova metoda ne daje informaciju o oksidacionom stanju elementa (određuje se ukupna koncentracija elementa), kao ni informaciju o izotopima (Nölte 2021; Hou and Jones 2000).

Indukovano kuplovana plazma sa kvadrupolnom masenom spektrometrijom (Inductively Coupled Plasma - Quadrupole Mass Spectrometry, ICP-QMS)

ICP-QMS je analitička metoda za određivanje koncentracije elemenata u uzorcima. Ima niz prednosti u odnosu na tehnike poput atomske apsorpcione spektrofotometrije (AAS) ili ICP-OES. Koristi se za određivanje oko 75 elemenata iz periodnog sistema, ima veliki dinamički opseg, granice detekcije u ng/kg (ppt) i µg/kg (ppb) opsegu, brzo ispiranje između uzoraka, veliku toleranciju matriksa i pruža mogućnost dobijanja informacije o izotopima (Thomas 2008; Butcher 2007).

Osnovne komponente jednog ICP-QMS uređaja su visokotemperaturni ICP izvor, interfejs region, jonska optika, kvadrupol maseni analizator i detektor. Postupak određivanja elementalnog sastava nekog uzorka obuhvata pet osnovnih koraka: generisanje aerosola, jonizaciju uzoraka u ICP izvoru, ekstrakciju jona kroz interfejs region, razdvajanje jona po masi i detekciju jona (Thomas 2008; Butcher 2007).

Rastvor uzorka se u ICP-QMS uređaj uvodi pomoću sistema za uvođenje uzorka. Uloga sistema za uvođenje uzorka je generisanje finog aerosola koji može biti efikasno jonizovan u plazmi. Uzorak se uvodi uz pomoć peristaltičke pumpe sastavljene od mnoštva minirolera koji rotiraju istom brzinom. Neprekidnim okretanjem pumpe postiže se uvođenje uzorka u raspršivač preko uskih kapilara. U ICP-QMS tehnici najviše se koriste koncentrični i raspršivači sa ukrštenim protokom. Raspršivači su obično izrađeni od stakla, ali mogu biti i od polimernih materijala ukoliko se radi sa korozivnim uzorcima. Nakon unošenja u raspršivač, zavisno od karakteristika raspršivača i rastvora, uzorak se prevodi u fini aerosol pomoću gasa argona koji „razbija” tečnost na sitne kapljice. Samo najmanje kapljice, čestice aerosola (prečnika od 1 µm do 10 µm), zahvaljujući komorama za raspršivanje, bivaju efikasno transportovane do proširene osnove IC plazme gde dalje podležu procesima desolvacije, isparavanja, atomizacije i potom pobuđivanja i jonizacije. Najčešći tip komora za raspršivanje jesu komore sa dvostrukim prolazom, gde se aerosol uzorka iz raspršivača direktno uvodi u centralnu cev duž čitave dužine komore. Velike kapljice (veće od 10 µm u prečniku) napuštaju cev pod uticajem sile gravitacije i izlaze kroz odvodnu cev koja se nalazi na kraju komore za raspršivanje. Fine kapljice (<10 µm) prolaze između spoljašnjeg zida i centralne cevi, odakle izlaze iz komore za raspršivanje i transportuju se do injektora za uzorak koji predstavlja jednu od tri koncentrične kvarcne cevi koje su sastavni deo plazmenika. Gas, obično argon, prolazi kroz spoljašnju i središnju cev, auksilijarni ili pomoćni gas prolazi između središnje cevi i injektora za uzorak, dok gas iz raspršivača nosi uzorak u vidu aerosola od sistema za uvođenje uzorka do plazme. U plazmeniku dolazi do nastajanja i održavanja visokotemperaturne plazme kroz koju prolazi uzorak aerosola i prilikom toga trpi niz fizičkih promena. Prvo dolazi do desolvacije kapljica. Kada se molekuli vode uklone, uzorak postaje čvrsti ostatak. Kako se uzorak

dalje pomera u plazmi, čvrsti ostatak prvo prelazi u gasovito stanje, a onda u osnovno stanje atoma. Konačan proces prevođenja atoma u jone postiže se sudaranjem elektrona argona i, u manjoj meri jona argona, sa atomima elemenata u osnovnom stanju. Joni zatim napuštaju plazmu, i usmeravaju se ka interfejs regionu masenog spektrometra. Uloga interfejs regiona je da transportuje jone efikasno, konstantno i sa električnim integritetom iz plazme, preko jonske optike ka masenom analizatoru. Funkcija jonske optike je da fokusira jonski snop ka masenom spektrometru, zaustavljajući fotone, čestice, neutralne vrste kako ne bi dospele do detektora, što se postiže pomoću neke vrste fizičke barijere, pozicioniranjem masenog spektrometra izvan ose u odnosu na jonski snop ili elektrostatičkim „savijanjem” jona u masenom analizatoru. Uloga analizatora je da razdvaja jone prema njihovom odnosu mase i naelektrisanja (m/z odnos), tj. da odvaja jone od interesa od jona matriksa, rastvarača i jona argona. Razdvajanje masa u kvadrupolnim analizatorima se zasniva na ostvarivanju stabilne putanje za jone specifične m/z vrednosti. Analizator se sastoji od četiri unakrsno raspoređene cilindrične ili hiperbolične metalne šipke (elektrode) iste dužine i prečnika. Svaki par je međusobno povezan i nalazi se na istom potencijalu. Parovi elektroda su suprotnog polariteta i na njima se primenjuje napon koji je suma jednosmernog i naizmeničnog napona. Pri datoj vrednosti napona samo određeni joni imaju stabilnu putanju kroz kvadrupol. Joni koji su razdvojeni na osnovu m/z odnosa bivaju detektovani. Osnovna uloga detektora jeste da prevodi broj jonskih udara u električni signal koji se može izmeriti i povezati sa brojem atoma elementa u uzorku preko kalibracione prave konstruisane na osnovu standarda poznate koncentracije (Thomas 2008; Butcher 2007).

2.3.5 Proteini

Proteini su ključni funkcionalni molekuli u ćeliji i esencijalna komponenta ishrane koja je neophodna za opstanak biljaka, životinja i ljudi. Proteini u ishrani mogu poslužiti kao izvor energije, odnosno njihova osnovna funkcija je snabdevanje organizma adekvatnim količinama potrebnih aminokiselina. Kvalitet proteina, poznat i kao nutritivna vrednost hrane, zavisi od koncentracije i odnosa sastavnih aminokiselina koje čine određeni protein i od fiziološkog iskorišćenja specifičnih aminokiselina nakon varenja, apsorpcije i minimalnih stopa oksidacije. Metabolizam aminokiselina zavisi od količine aminokiselina koje se koriste za sintezu proteina. Stope oksidacije aminokiselina su niske sve dok utrošena količina ne premaši količinu potrebnu za sintezu proteina, nakon čega se oksidacija naglo povećava. Dostupnost aminokiselina varira u zavisnosti od izvora proteina, tretmana obrade i interakcije sa drugim komponentama ishrane. Proteini kojima nedostaje jedna ili više aminokiselina su lošeg (niskog) kvaliteta. Na primer, triptofan i lizin su limitirajući u kukuruzu, lizin u pšenici i drugim žitaricama, a metionin u soji i drugim mahunarkama. Ipak, potrošnja proteina niskog kvaliteta zajedno sa adekvatnim kalorijama može, u principu, da zadovolji potrebe za svim esencijalnim aminokiselinama (Friedman 1996).

Krompir je dobar izvor visokokvalitetnih proteina iako sadrži samo oko 2% proteina, što je u zavisnosti od sorte od 1 g do 1,5 g /100 g svežih krtola (Burgos et al. 2020). Vrednost sadržaja proteina se može povećati na oko 10%, što je jednako vrednosti sadržaja ovih molekula kod većine žitarica kao što su pirinač ili pšenica. Ukoliko se gleda nutritivna vrednost proteina krompira, treba imati u vidu da samo oko 50% ukupnog azota u krompiru potiče od proteina. Preostali azot potiče od slobodnih aminokiselina (15%), amidnog azota povezanog sa asparaginom i glutaminom (23%), neproteinskog azota povezanog sa glikoalkaloidima solaninom i čakoninom i sekundarnih metabolita kao što su acetilholin, adenin, kadaverin, gvanin, hipoksantin, narkotin, trigonelin i ksantin (12%). Ispitivanja su pokazala da su proteini krompira veoma visokog kvaliteta, verovatno višeg nego što je naznačeno sastavom aminokiselina (Friedman 1996). Na osnovu sastava aminokiselina, izračunati kvalitet proteina u krompiru je oko 70% kvaliteta proteina celog jajeta. Biološka vrednost proteina krompira se definiše kao udeo zadržan za rast ili održavanje podeljen sa apsorbovanom količinom. U zavisnosti od sorte, biološka vrednost proteina krompira je između 90 i

100 i veoma je slična biološkoj vrednosti proteina celog jajeta (100) i veća je od soje (84) i mahunarki (73) (Burgos et al. 2020).

Sadržaj proteina u krompiru je generalno nizak u poređenju sa namirnicama kao što su kukuruz i pasulj, iako krompir daje više proteina po jedinici uzgojne površine nego žitarice. U poređenju sa drugim proteinima iz drugih izvora povrća i žitarica, proteini krompira se smatraju kvalitetnijim jer sadrže visok udeo lizina, koji često nedostaje pomenutim kulturama (Waglay, Karboune, and Alli 2014). Primera radi, u poređenju sa testeninom, belim pirinčem i kukuruznim brašnom od celog zrna, krompir je jedina osnovna hrana koja ispunjava preporučeni nivo lizina (Burgos et al. 2020). S druge strane, u proteinima krompira je nizak sadržaj aminokiselina koje sadrže sumpor (metionin i cistein) što ograničava hranljivu vrednost krtola. Takođe, na hranljivu vrednost krompira utiče i činjenica da treba da se peče, kuva, prži ili na drugi način tretira pre konzumiranja (Friedman 1996).

Proteini krompira se mogu grubo podeliti u tri glavne grupe, pri čemu su prva patatini, koji predstavljaju do 40% ukupnog sadržaja proteina. Patatini su grupa imunološki identičnih izoformi glikoproteina (Barta and Bartova 2008) sa molekulskom težinom od 39–43 kDa (postoje kao prirodni dimeri od 80 kDa) sa različitim izoelektričnim tačkama (pI) od pH 4,45 – 5,17 i obrascima glikozilacije (1 – 3 glikozilacije) (Waglay, Karboune, and Alli 2014; Bárta et al. 2012). Patatin se sintetise kao pretprotein sa hidrofobnom signalnom sekvencom od 23 aminokiseline. Ovaj protein ne služi samo kao protein za skladištenje, već pokazuje i enzimsku aktivnost i ima izraženo antioksidativno dejstvo. Druga grupa proteina krompira su inhibitori proteaze (PI), koji predstavljaju do 50% ukupnog sadržaja proteina i ova grupa se dalje može podeliti u sedam podgrupa. Molekularna težina PI proteina uveliko varira, od 4,3 kDa do 20,6 kDa, sa pI vrednostima od pH 5,1 – 9,0 (Pouvreau et al. 2001). Poslednja grupa proteina se uglavnom sastoji od oksidativnih enzima, poput lipoksigenaze, polifenol-oksidaze i enzima povezanih sa sintezom skroba.

Proteomska analiza se sve više koristi u funkcionalnim studijama na biljkama. Nedavno razvijene tehnike profilisanja omogućavaju sveobuhvatan pregled odgovora biljke na spoljašnje uslove. Sve je više studija koje govore o mogućnosti upotrebe proteomike za rešavanje genetskih razlika između sorti krompira (Lehesranta et al. 2005) i razlika između fizioloških stanja krtola krompira (Lehesranta et al. 2006). Ipak, prema našim saznanjima, u raspoloživoj literaturi nisu opisane studije proteomskog profilisanja koje bi karakterisale odgovore biljaka na različite agronomске režime, odnosno načine proizvodnje.

2.3.5.1 Metode za određivanje sadržaja proteina

Bradfordova metoda za određivanje sadržaja ukupnih ekstraktibilnih (rastvorljivih) proteina

Brza i tačna metoda za procenu koncentracije proteina je neophodna u mnogim oblastima proučavanja proteina. Test koji je prvobitno opisao Bradford (Bradford 1976) postao je jedna od najčešće korišćenih metoda za kvantifikaciju proteina. Prednosti ove metode u odnosu na druge su brzina i jednostavnost izvođenja i visoka osetljivost. Takođe, manje je podložna smetnjama koje mogu poticati od reagenasa koji se koriste prilikom određivanja i neproteinskih komponenti bioloških uzoraka. Bradfordov test se zasniva na vezivanju boje Coomassie® brilliant blue G250 za protein. Detaljne studije pokazuju da slobodna boja može postojati u četiri različita jonska oblika. Od tri naelektrisana oblika, u kiselom rastvoru reagensa za ispitivanje preovlađuju katjonski oblici crvene i zelene boje koji imaju maksimume apsorpcije na 470 nm i 650 nm, redom. Nasuprot tome, anjonski oblik plave boje, koji se vezuje za protein, ima maksimum apsorpcije na 590 nm. Količina proteina se može proceniti određivanjem količine boje u plavom jonskom obliku u baznoj sredini merenjem apsorpcije rastvora na 595 nm. pH vrednost se podešava dodavanjem NaOH u reagens i time se dodatno poboljšava osetljivost testa. Ovo je verovatno uzrokovano povećanjem udela

anjonskog oblika plave boje, odnosno jonske vrste koja reaguje sa proteinom. Međutim, optimalna pH vrednost zavisi od koncentracije boje. Prisustvo baze u testu povećava apsorpciju pomeranjem ravnoteže slobodne boje ka anjonskom obliku. Ovo može predstavljati problem pri merenju sadržaja proteina u koncentrovanim baznim puferima. Vezivanje proteina za Coomassie® brilliant blue G250 može pomeriti maksimum apsorpcije jonskog oblika plave boje sa 590 nm na 620 nm. Stoga bi se moglo reći da je razumnije meriti apsorpciju na višoj talasnoj dužini. Međutim, pri uobičajenoj pH vrednosti testa, značajan je udeo katjonskog oblika zelene boje ($\lambda_{\max}=650$ nm) što ometa merenje apsorpcije kompleksa boja - protein na 620 nm. Merenje na 595 nm predstavlja najbolji kompromis između maksimiziranja apsorpcije kompleksa boja - protein, i minimizira uticaja slobodnog oblika zelene boje (Walker 1996).

Glavni nedostatak metode je specifičnost vezivanja boje za protein. Naime, boja se najlakše vezuje za arginil i lizil ostatke proteina što može dovesti do varijacija u odgovoru testa na različite proteine. Kako bi se prevazišao ovaj problem, urađeno je nekoliko modifikacija ove metode. Međutim, ove modifikacije su generalno rezultirale manje robusnim testom koji je skloniji interferenciji sa drugim hemikalijama. Shodno tome, originalna metoda koju je osmislio Bradford ostaje najpogodnija i najšire korišćena. U zavisnosti od količine proteina koji se detektuje, postoje dva tipa testa (1) standardni test, koji je pogodan za merenje između 10 mg i 100 mg proteina, i (2) mikrottest, koji detektuje između 1 mg i 10 mg proteina. Mikrottest, iako je osetljiviji, skloniji je interferenciji drugih jedinjenja zbog veće količine uzorka u odnosu na reagens za bojenje. Za rutinsko merenje sadržaja proteina u većem broju uzoraka, mikrottest se može prilagoditi za upotrebu sa čitačem mikropločica. Ukupna zapremina modifikovanog testa je ograničena na 210 mL smanjenjem zapremine svake komponente. Potrebno je obezbediti efikasno mešanje komponentata testa pipetiranjem do 10 mL uzorka proteina u svaki bunar pre dodavanja 200 mL reagensa za boju. Ako se talasna dužina od 595 nm ne može izabrati na čitaču mikroploče, apsorpcija se može meriti na bilo kojoj talasnoj dužini između 570 nm i 610 nm. Međutim, merenja apsorpcije na talasnim dužinama različitim od 595 nm smanjuju osetljivost odgovora i mogu povećati minimalnu granicu detekcije protokola (Walker 1996).

Bradfordov test najčešće korišćeni biohemijski reagensi ne ometaju. Međutim, nekoliko hemikalija može značajno da promeni apsorpciju „slepog” reagensa ili da modifikuje odgovor proteina na boju, odnosno da utiče na reakciju proteina i jonskog oblika boje. Kao najverovatniji uzročnici takvih problema su deterdženti i amfoliti prisutni u biološkim ekstraktima. Oni se mogu ukloniti iz rastvora uzorka gel filtracijom, dijalizom ili precipitacijom proteina kalcijum-fosfatom (Walker 1996).

Sadržaj ekstraktibilnih proteina se određuje korišćenjem jednačine prave dobijene na osnovu prethodno pripremljene i snimljene standardne serije rastvora. Kad god je moguće, protein koji se koristi za konstruisanje kalibracione krive treba da bude isti kao onaj koji se određuje. Međutim, ovo je često nepraktično, te se kvantifikacija vrši u odnosu na „generički” protein - albumin goveđeg seruma (*Bovine Serum Albumin* - BSA). BSA se najčešće koristi kao standard za proteine jer je jeftin i lako dostupan u čistom obliku. Glavni argument za korišćenje ovog proteina kao standarda je mogućnost direktnog upoređivanja rezultata sa rezultatima mnogih prethodnih studija koje su koristile albumin goveđeg seruma kao standard. Međutim, nedostatak upotrebe BSA kao standarda je što pokazuje neobičajeno veliki odgovor boje u Bradfordovom testu, i stoga može dovesti to pogrešne interpretacije rezultata za sadržaj proteina u uzorku. Standardna kriva je najčešće nelinearna zbog problema nastalih smanjenjem količine slobodne boje. Ovi problemi se mogu izbeći, a linearnost testa poboljšati, crtanjem odnosa apsorpcija na 595 nm i 450 nm. Ako se usvoji ovaj pristup, apsolutna optička gustina slobodne boje i kompleksa boja - protein se mora odrediti merenjem apsorpcije smeše na svakoj talasnoj dužini u odnosu na onu u kivetu koja sadrži samo vodu bez reagensa za boju. Pored poboljšanja linearnosti kalibracione krive, uzimanje

odnosa apsorbanacija na dve talasne dužine povećava tačnost i poboljšava osetljivost testa do 10 puta (Walker 1996).

SDS poliakrilamid gel elektroforeza

Natrijum-dodecilsulfat – poliakrilamid gel elektroforeza (*Sodium Dodecyl Sulfate - Polyacrylamide Gel Electrophoresis - SDS-PAGE*) se pokazala kao jedna od najkorisnijih metoda koja je razvijena u oblasti molekularne biologije. U pitanju je najčešće korišćena metoda za kvalitativnu analizu proteinskih smeša. Omogućava odvajanje složenih smeša proteina i peptida (npr. iz ćelija, subćelijskih frakcija, kolonskih frakcija ili imunoprecipitata), ispitivanje sastava i verifikaciju homogenosti uzoraka proteina. Posebno je korisna za razdvajanje i preparativno prečišćavanje proteina. Pošto se metoda zasniva na razdvajanju proteina prema veličini, može se koristiti i za određivanje relativne molekulske mase proteina i kvantifikaciju količine određenog proteina/peptida u uzorku. Ukoliko se SDS-PAGE kombinuje sa imunoelektroblottingom dobija se metoda koja se može koristiti za procenu antigenosti proteina i peptida (Walker 1996; Gallagher 2006). Elektroforeza u SDS-poliakrilamidnom gelu se lako i brzo izvodi, zahteva relativno jeftinu opremu i može se koristiti za rad sa mikrogramskim količinama proteina. Tehnika je pouzdana i ponovljiva, a rezultati se lako tumače (Gallagher 2006). S druge strane, odlikuje se komplikovanom pripremom uzorka u smislu višestrukog frakcionisanja, pripreme gela i livenja, i procesa bojenja i obezbojavanja gela (Čolović et al. 2013).

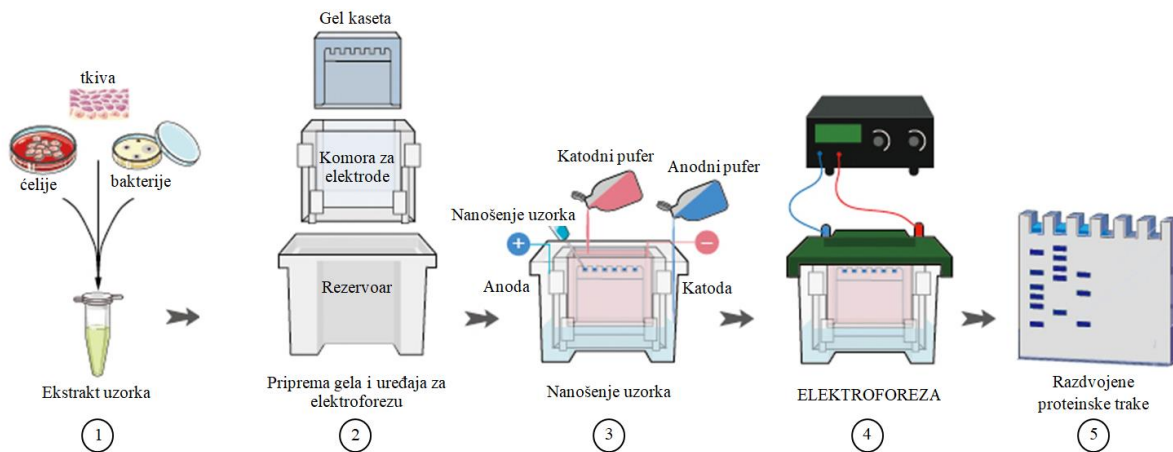
Priprema poliakrilamidnih gelova

Umreženi poliakrilamidni gelovi nastaju polimerizacijom akrilamidnog monomera u prisustvu manjih količina N,N'-metilen-*bis*-akrilamida (obično se naziva „bis-akrilamid“). Bis-akrilamid su u suštini dva molekula akrilamida povezana metilenskom grupom i koriste se kao sredstvo za umrežavanje. Akrilamidni monomer se polimerizuje na način od glave do repa u dugačke lance, a povremeno se molekul bis-akrilamida ugrađuje u rastući lanac, čime se uvodi drugo mesto za produženje lanca. Postupajući na ovaj način, formira se umrežena matrica prilično dobro definisane strukture. Polimerizacija akrilamida je primer katalize slobodnih radikala, a pokreće se dodatkom amonijum-persulfata i baze N,N,N',N'-tetrametilendiamina (TEMED). Na ovaj način se izgrađuju dugi lanci akrilamida, koji se umrežavaju uvođenjem molekula bis-akrilamida u rastući lanac (Walker 1996; Gallagher 2006).

Priprema uzoraka i princip SDS poliakrilamid gel elektroforeze

Postupak pripreme uzoraka za SDS-PAGE podrazumeva kuvanje uzoraka 5 minuta u puferu za uzorke koji sadrži β-merkaptioetanol i natrijum-dodecilsulfat - SDS. β-merkaptioetanol razgrađuje sve prisutne disulfidne mostove koji drže zajedno terciarnu strukturu proteina, a SDS ($\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{10}\text{CH}_2\text{OSO}_3^-\text{Na}^+$) je anjonski deterđent koji se snažno vezuje za protein i denaturiše ga. Svaki protein u smeši je stoga u potpunosti denaturisan ovim tretmanom i otvara se u strukturu oblika štapa sa nizom negativno naelektrisanih SDS molekula duž polipeptidnog lanca. U proseku, jedan SDS molekul se vezuje za svaka dva aminokiselinska ostatka. Pufer za uzorke takođe sadrži jonizujuću boju za praćenje, obično bromofenolplavo, koja omogućava da se prati elektroforetski tok, i saharozu ili glicerol koji daju gustinu rastvoru uzorka, što omogućava uzorku da se lako slegne na dno kroz pufer za elektroforezu kada se ubrizga u bunaricu. Uzorci se mogu naneti direktno na vrh gela u kojem treba da se desi odvajanje proteina (gel za odvajanje). Međutim, u ovim slučajevima oštrina proteinskih traka proizvedenih u gelu je ograničena veličinom (zapreminom) uzorka koji se nanosi na gel. U osnovi, razdvojene trake će biti široke (ili šire, zahvaljujući difuziji) kao i sama traka uzorka koja je naneta na gel. Za neke analize ovo može biti prihvatljivo, ali u većini slučajeva je potrebna bolja rezolucija. Ovo se može postići polimerizacijom kratkog gela za slaganje na vrhu gela za odvajanje. Svrha ovog gela za slaganje je

da koncentriše uzorak proteina u oštru traku pre nego što uđe u glavni gel za odvajanje, čime se dobijaju oštrije proteinske trake u gelu za odvajanje. Ova modifikacija omogućava da se relativno velike količine uzorka nanese na gel bez gubitka rezolucije (Walker 1996; Gallagher 2006). Dakle, kada se glavni gel za odvajanje sipa između staklenih ploča i ostavi da se stegne, na vrh odvajajućeg gela se sipa gel za slaganje i u ovom gelu se formiraju bunari i ubacuju proteini, odnosno uzorci. Gel za slaganje ima veoma veliku veličinu pora (4% akrilamida) što omogućava proteinima da se slobodno kreću i koncentrišu, ili slažu pod dejstvom električnog polja. Kada su svi uzorci nanešeni, struja se propušta kroz gel tako što se postavlja poklopac sa fiksnim elektrodama. Poklopac je deo radnog prostora uređaja za automatizovanu kapilarnu elektroforezu (Slika 1).



Slika 1. Šematski prikaz natrijum-dodecilsulfat – poliakrilamid gel elektroforeze (*Sodium Dodecyl Sulfate-Polyacrylamide Gel Electrophoresis - SDS-PAGE*) (“Western Blot Protocols Part 1 - Creative Diagnostics” n.d.).

Prilikom spuštanja poklopcu, kapice elektrode moraju biti potopljene u tečne uzorke kako bi se omogućilo formiranje električnog kola, što je osnovni preduslov za elektroforetsku analizu proteina (Čolović et al. 2013). Kada uzorci proteina prođu kroz gel za slaganje i uđu u gel za odvajanje, negativno naelektrisani kompleksi protein–SDS nastavljaju da se kreću ka anodi, i s obzirom da imaju isto naelektrisanje po jedinici dužine, putuju kroz pore u matrici poliakrilamidnog gela za razdvajanje pod primenjenim električnim poljem sa istom pokretljivošću. Međutim, kako prolaze kroz gel za odvajanje, proteini se razdvajaju, zahvaljujući svojstvima gela za molekularno prosejavanje. Veličina pora gela i veličina, oblik i naelektrisanje proteina određuju brzinu kretanja proteina kroz gel. Jednostavno, što je manji protein, to lakše može da prođe kroz pore gela, dok se veliki proteini sukcesivno usporavaju otporom trenja zbog efekta prosejavanja gela. Veličina pora u gelu može se regulisati smanjenjem ili povećanjem koncentracije akrilamida. Pore će biti manje ukoliko je koncentracija akrilamida veća.

Kao što je već pomenuto, pufer za uzorke sadrži jonizujuću boju za praćenje, obično bromofenolplavo, koja najbrže migrira kroz gel budući da je mali molekul i stoga ukazuje na front elektroforeze. Kada boja dođe do dna gela, struja se isključuje i gel se vadi iz prostora između staklenih ploča, potapa se u odgovarajući rastvor za bojenje (obično Coomassie brilliant blue R250) nekoliko sati, a zatim se ispira u rastvoru za uklanjanje boje preko noći. *Destain* rastvor uklanja nevezanu pozadinsku boju iz gela, ostavljajući obojene proteine vidljivim kao plave trake na čistoj pozadini. Nakon uklanjanja boje, gel se skenira, a dobijene slike se analiziraju pomoću nekog od specijalizovanih profesionalnih softvera (Gallagher 2006). Naime, elektroforeza u poliakrilamidnom gelu u prisustvu SDS odvajala polipeptidne lance prema njihovoj molekularnoj masi. Veličina polipeptidnih lanaca datog proteina može da se odredi upoređivanjem njihove

elektroforetske pokretljivosti na SDS gelovima sa pokretljivošću proteina markera sa dobro okarakterisanim molekulskim masama polipeptidnog lanca. Tipičnom gelu velikog formata bilo bi potrebno oko 1 h da se pripremi i stegne, 3 h da radi na 30 mA, a vreme bojenja je 2 – 3 h sa odstranjivanjem boje preko noći. Uvek se koriste vertikalni gelovi jer to omogućava da se do 20 različitih uzoraka unese na jedan gel.

Za razdvajanje peptida i malih proteina, standardni puferi kod SDS-PAGE se često zamenjuju ili sa Tris-glicinskim (Tris-tricin) puferom ili modifikovanim Tris puferom u odsustvu uree (Gallagher 2006). Pošto su svi oblici SDS-PAGE denaturišući, oni nisu pogodni za odvajanje proteina ili peptida koji se koriste u funkcionalnim analizama (npr. enzimi, receptori).

Nedavni napredak u razdvajanju proteina obezbedile su metode zasnovane na „čipu“ koje su brže i pogodnije od konvencionalne gel elektroforeze (Mouradian 2002; Čolović et al. 2013). Lab-on-a-Chip (LoaC) je relativno nova elektroforetska tehnika, koju karakteriše velika brzina, pouzdanost, automatizacija analize i veća osetljivost u poređenju sa SDS-PAGE tehnikom. Primera radi, kompletna analiza od 10 uzoraka proteina, uključujući pripremu uređaja, kvalitativnu i kvantitativnu analizu, traje svega 25 min. LaoC rezultati se analiziraju pomoću stručnog softvera i mogu se predstaviti na dva različita načina – kao kvantitativni profili (kao u konvencionalnoj tečnoj hromatografiji) i kao simulirane slike gela (kao skenirani SDS-PAGE gel). LaoC se uspešno primenjuje na detekciju alergena u hrani na bazi proteina (Coïsson et al. 2010), kao i na dijagnostiku biljnih patogena (Julich et al. 2011; Čolović et al. 2013).

2.4. Statistička obrada rezultata

U cilju obrade, analize i interpretacije podataka primenjuje se matematička oblast – statistika. U skladu sa postavljenim ciljem ispitivanja, statistika omogućava razrađivanje metoda proučavanja i načina pristupa pomenutim podacima. Jedan od načina podele statistike je na deskriptivnu i inferencijalnu (“Understanding Descriptive and Inferential Statistics | Laerd Statistics” n.d.). Pod deskriptivnom statistikom se podrazumeva analiza podataka koja pomaže u opisivanju, prikazu ili rezimiranju podataka na smislen način, što dalje omogućava njihovu jednostavniju interpretaciju. Ovaj oblik statistike se bavi merama centralne tendencije (aritmetička sredina, medijana, harmonijska i geometrijska srednja vrednost, moda), merama varijabiliteta (raspon, linearno i srednje linearno odstupanje od srednje vrednosti, koeficijent linearne neravnomernosti, disperzija, standardna devijacija, koeficijent varijacije), tabelarnim i grafičkim prikazivanjem rezultata.

Za razliku od deskriptivne statistike, inferencijalna statistika podrazumeva upotrebu statističkih testova u cilju provere postavljenih nultih i/ili afirmativnih (alternativnih) hipoteza. Statistički testovi su postupci na osnovu kojih se donosi odluka o prihvatanju ili odbacivanju postavljene hipoteze uz određenih stepen verovatnoće (Martinenko et al. 2021). Mogu se podeliti na osnovu broja statističkih uzoraka koji se analiziraju (testovi zasnovani na jednom, dva, i tri i više uzoraka) i na osnovu vrste i jačine pretpostavke na kojima se zasnivaju (parametrijski i neparametrijski testovi) (Neideen and Brasel 2007; Hoskin 2012).

Parametrijski testovi su robusniji i uglavnom su manje računski zahtevniji odnosu na neparametrijske testove. Osnovni preduslov da bi se koristio parametrijski test je da podaci, odnosno ispitivana obeležja moraju biti normalno raspoređeni, što znači da sve tačke podataka moraju da prate krivu u obliku zvona (Gausova kriva raspodele). U određenim slučajevima, podaci takođe moraju demonstrirati homogeni varijabilitet (Neideen and Brasel 2007). Ukoliko podaci ne ispunjavaju pomenute uslove, tj. ne podležu normalnoj raspodeli ili ne pokazuju homogenost varijabiliteta, različiti parametrijski testovi se ne mogu koristiti. U tom slučaju se prednost daje neparametrijskim testovima kod kojih normalna distribucija podataka nije nužna, odnosno ne mora da se podrazumeva jer ne uzimaju u obzir prirodu raspodele kojoj podležu podaci (Gibbons and Chakraborti 2014; Hoskin 2012). Dakle, prednosti neparametrijskih testova u odnosu na

parametrijske su što ne postavljaju zahteve o obliku određenih raspodela obeležja u populaciji pa se mogu primeniti u velikom broju situacija između ostalog i za poređenje uzorka poreklom iz različitih (po obliku distribucije mere) populacija. Zatim mogu da se primene na veoma malim statističkim uzorcima (manjim od 10). Takođe, njihova osnovna prednost je njihova brzina i jednostavnost primene. Ipak, s druge strane neparametrijski testovi imaju dva glavna nedostatka. Prvi je da su generalno manje „statistički moćni” od analogne parametrijske procedure, tj. sa manjom verovatnoćom dolazi se do ispravnih zaključaka. I drugi nedostatak povezan sa neparametrijskim testovima je taj što je njihove rezultate često teže interpretirati nego rezultate parametrijskih testova. Mnogi neparametrijski testovi koriste rangiranje vrednosti u podacima umesto da koriste stvarne podatke i zahtevaju nešto veću veličinu uzorka da bi imali istu „snagu” kao odgovarajući parametrijski test (Gibbons and Chakraborti 2014).

Neparametrijski testovi, zasnovani na rangovima, su alternative parametrijskoj statistici koja potvrđuje hipoteze o vezama i razlikama za varijable merene na ordinalnoj skali. U okviru disertacije, za obradu rezultata su korišćena dva neparametrijska testa zasnovana na rangovima - Fridmanov test (Friedman's Two-Way Analysis of Variance by Ranks) i Vilkoksonov test predznaka i ranga (The Wilcoxon Signed-Rank Test and The Wilcoxon Rank-Sum Test).

2.4.1 Fridmanov test

Fridmanov test predstavlja generalizaciju testa predznaka, ali u odnosu na isti poseduje skromnu statističku moć slučajno kako podataka koji podležu normalnoj raspodeli, tako kao i slučaju podataka koji ne podležu normalnoj distribuciji (Zimmerman and Zumbo 1993).

U slučaju kada je potrebno simultano uporediti tri ili više skupova statistički zavisnih merenja primenjuje se Fridmanov test. Ovaj test se koristi za uporednu analizu n različitih objekata za koja su merenja organizovana u k skupova. Fridman je razvio proceduru nazvanu „metod rangova” da bi testirao hipoteze koje se odnose na podatke u ordinalnoj skali. Test je još poznat pod nazivom Fridmanova dvosmerna analiza varijanse po rangovima. Termin „dvosmerna” se odnosi na činjenicu da se subjekti i tretmani smatraju zasebnim nezavisnim varijablama u analizi. Fridmanov test se lako izračunava ručno za male skupove podataka i dostupan je na nekoliko statističkih softverskih paketa. Takođe se može koristiti umesto F-testa za ponovljena merenja sa podacima na nivou intervala ili odnosa koji ne ispunjavaju pretpostavke normalnosti i homogenosti varijanse i kovarijanse (Sheldon, Fillyaw, and Thompson 1996).

Pod nultom hipotezom kod Fridmanovog testa se pretpostavlja da nezavisna varijabla nema uticaja na zavisnu varijablu, odnosno da tri seta rezultata potiču iz iste populacije. Simbolički predstavljeno $H_0: R_{\text{Pretest}} = R_{\text{Post 1}} = R_{\text{Post 2}}$. Ukoliko je pretpostavka tačna, odnosno ukoliko ne postoji statistički značajna razlika među grupama, njihove sume rangova R_j će biti slične (jednake). Alternativna hipoteza (H_a) ukazuje da bar jedan skup rezultata nije iz iste populacije (Sheldon, Fillyaw, and Thompson 1996).

Utvrđivanje postojanja statistički značajne razlike određuje se pomoću hi -kvadrat testa prema jednačini (1):

$$\chi_r^2 = \frac{12}{Nk(k+1)} \sum_{j=1}^k R_j^2 - 3N(k+1) \quad (1)$$

gde je k broj rangiranih posmatranja ili merenja (grupa), N je broj predmeta (objekata), a R_j je suma rangiranih rezultata (suma rangova) u svakoj grupi j . Brojevi 12 i 3 su konstante, ne zavise od broja subjekata ili eksperimentalnih uslova.

Ukoliko je ovako izračunato χ^2 veće od kritične vrednosti za unapred definisani nivo poverenja i $k-1$ stepeni slobode nulta hipoteza se odbacuje. Kada se nulta hipoteza odbaci, dostupni su

neparametrijski *post hoc* testovi za utvrđivanje koji od objekata dovodi do statistički značajne razlike (Sheldon, Fillyaw, and Thompson 1996).

2.4.2 Vilkoksonov test

Vilkoksonov test je jedan od najpoznatijih i najlakših za upotrebu, pošto koristi rezultate koji su pozitivni celi brojevi. *Vilkoksonov test sume rangova* i *Vilkoksonov test predznaka i ranga* predložio je Frenk Vilkokson. Vilkoksonov test sume rangova se koristi za poređenje dva nezavisna uzorka, dok se Vilkoksonov test predznaka i ranga koristi za poređenje dva zavisna uzorka, kako bi se procenilo da li se njihovi srednji rangovi populacije razlikuju. Oba testa su neparametrijske alternative za Studentove *t*-testove i ne zasnivaju se na pretpostavci da uzorci podležu normalnoj raspodeli (Xia 2020).

Test predznaka i ranga je alternativa parametrijskoj statistici koja potvrđuje hipoteze o sličnostima i razlikama za varijable merene na ordinalnoj skali. Zasniva na kombinaciji predznaka i rangiranih vrednosti. Upoređuje dve nezavisne populacije kako bi se utvrdilo da li se one međusobno razlikuju. Vrednosti uzorka iz oba skupa podataka rangiraju se zajedno. Za početak se računaju razlike između rezultata koji su u paru i svakoj vrednosti nezavisno od predznaka se dodeljuje određeni rang i to u smeru od najmanje ka najvećoj. Pri rangiranju najmanjoj razlici dodeljuje se rang 1. Ukoliko postoje iste vrednosti, za njihovo rangiranje se koristi aritmetička sredina rangova. Nakon toga, svakom elementu se pridružuje odgovarajući predznak, a potom se rangovi istog predznaka sabiraju. Zapravo, računaju se odvojene sume pozitivnih i negativnih rangova. Kada se izračunaju dva zbira (sume rangova) manja vrednost se obeleži sa *R* i koristi se za određivanje statističke značajnosti. Ako je $n > 25$ onda *R* ima približno normalnu raspodelu, sa očekivanjem $\frac{n(n+4)}{4}$ i standardnom devijacijom $\sqrt{\frac{[n(n+1)(2n+1)]}{24}}$ pa se statistička značajnost određuje računanjem parametra *z* po jednačini (2):

$$Z = \frac{R - \frac{n(n+4)}{4}}{\sqrt{\frac{[n(n+1)(2n+1)]}{24}}} \quad (2)$$

pri čemu je parameter *z* standardizovano odstupanje sume rangova *R* od njene očekivane vrednosti pri nultoj hipotezi. Računa sa $P\{|z| \geq z_{izračunato}\} = \alpha$ i ako je $\alpha \leq 0,05$ nulna hipoteza (H_0) se odbacuje. Zapravo, nulna hipoteza se odbacuje ako je statistika testa *z* manja od kritične vrednosti, što zapravo znači da je dati sled znakova statistički značajan, a samim tim i razlika među setovima podataka na osnovu koje je formiran (Neideen and Brasel 2007; Gibbons and Chakraborti 2014).

2.4.3 Analiza glavnih komponenta (Principal Component Analysis – PCA)

Analiza glavnih komponenta (PCA) se može smatrati jednom od najvažnijih metoda u multivarijantnoj analizi podataka. Može se posmatrati kao metod za izračunavanje novog koordinatnog sistema formiranog od latentnih varijabli, koji je ortogonalan i gde se koriste samo najinformativnije dimenzije. Latentne varijable iz PCA optimalno predstavljaju rastojanja između objekata u visokodimenzionalnom prostoru gde se udaljenost objekata smatra inverznom sličnošću objekata. PCA razmatra sve varijable i prilagođava ukupnu strukturu podataka. To je metoda za istraživačku analizu podataka i može se primeniti na praktično bilo koju *x*-matricu; nikakvi *y*-podaci (osobine) se ne uzimaju u obzir i stoga nisu neophodni (Varmuza and Filzmoser 2016).

Cilj PCA je smanjenje dimenzionlnosti skupa podataka koji sadrži veliki broj međusobno povezanih promenljivih, tako da bude obuhvaćena što je moguće veća količina varijanse podataka. To se postiže izračunavanjem linearnih latentnih varijabli kao novog skupa nekorelisanih

promenljivih. Latentne varijable (glavne komponente - PC) su zapravo ose koje su projektovane u nekoliko pravaca i predstavljaju linearnu kombinaciju originalnih podataka tzv. skorova (objekata). Glavne komponente (PC) imaju ulogu da opišu maksimum varijanse podataka pri čemu se prva glavna komponenta (PC1) bira tako da bude u smeru najveće varijanse, dok je druga glavna komponenta (PC2) normalna na prvu i odnosi se na varijabilitet koji nije objašnjen prvom glavnom komponentom (Trifković 2013). Sve naredne komponente su ortogonalne na prethodne i na njihov pravac su projektovane varijanse među podacima, odnosno onaj deo disperzije originalnog skupa podataka koji nije obuhvaćen prethodno izdvojenim glavnim komponentama.

Ukoliko se prilikom interpretacije rezultata odaberu dve glavne komponente, zavisnost skorova će biti dvodimenzionalna. Na taj način se dobija (1) grafik skorova koji ukazuje na raspored uzoraka (objekata), odnosno njihovo grupisanje na bazi sličnosti/različitosti, i na eventualno postojanje spoljašnjih (odstupajućih) vrednosti i (2) grafik loadinga (latentnih varijabli) na osnovu kojeg se može utvrditi koje varijable su odgovorne za princip grupisanja uzoraka, odnosno koje varijable doprinose pozicioniranju uzoraka u prikazu grafika skorova (Varmuza and Filzmoser 2016).

PCA se bazira na pretpostavci da je broj glavnih komponenti znatno manji od broja originalnih promenljivih i da će tih nekoliko glavnih komponenta zapravo biti dobra aproksimacija originalnog skupa podataka. Koristi se izraz „nekoliko” jer se glavne komponente sa niskim vrednostima varijansi mogu zanemariti s obzirom da daju informacije koje su od malog značaja za posmatranu analizu (Zlatić 2011).

2.4.4 Multivarijantna analiza varijanse (Multivariate Analysis of Variance - MANOVA)

Multivarijantna analiza varijanse (MANOVA) je multivarijantni analog Hotelingovog T^2 testa. U statistici, posebno u testiranju multivarijantnih hipoteza, Hotelingova T-kvadratna distribucija (T^2), koju je predložio Harold Hotelling, je multivarijantna raspodela verovatnoće koja je usko povezana sa F -raspodelom i nastaje kao distribucija skupa statističkih podataka uzorka koji su prirodne generalizacije statistike koja leži u osnovi Studentove t-raspodele (Huberty and Olejnik 2006).

U statistici, MANOVA je postupak za poređenje multivarijantnih srednjih vrednosti uzorka. Kao multivarijantna procedura, koristi se kada postoje dve ili više zavisnih varijabli, i često je praćena testovima značajnosti koji uključuju pojedinačne zavisne varijable zasebno. Kao što će Hotelingov T^2 obezbediti meru verovatnoće odabira dva nasumična vektora, MANOVA daje meru ukupne verovatnoće odabira dva ili više nasumičnih vektora. Postoje dve glavne situacije u kojima se MANOVA koristi. Prva je kada postoji nekoliko korelisanih zavisnih varijabli, a istraživač želi jedan, sveukupni statistički test na ovom skupu varijabli, umesto izvođenja više pojedinačnih testova. I druga, i u nekim slučajevima važnija svrha, je da se istraži kako nezavisne varijable utiču na neki obrazac odgovora na zavisne varijable. Ovde se koristi analog kodova kontrasta na zavisnim varijablama da bi se testirale hipoteze o tome kako nezavisne varijable različito predviđaju zavisne varijable (Huberty and Olejnik 2006). Multivarijantna analiza varijanse je zapravo ANOVA sa nekoliko zavisnih varijabli. To jest, ANOVA testira razliku u srednjim vrednostima između dve ili više grupa, dok MANOVA testira razliku u dva ili više vektora srednjih vrednosti (French et al. 2008). MANOVA takođe ima nedostatke u smislu višestrukih *post hoc* poređenja kao ANOVA. Naime, ANOVA daje jedan ukupni test jednakosti srednjih vrednosti za nekoliko grupa za jednu promenljivu, ali ne ukazuje na to koje se grupe razlikuju od kojih drugih grupa. Slično tome, MANOVA daje jedan opšti test jednakosti srednjih vektora za nekoliko grupa, ali ne može reći koje se grupe razlikuju od kojih drugih grupa na njihovim srednjim vektorima. Pored toga, MANOVA ne ukazuje na to koje su varijable odgovorne za razlike u srednjim vektorima. Ipak, ovo je moguće prevazići odgovarajućim kontrastnim kodiranjem za zavisne varijable (Huberty and Olejnik 2006).

3. EKSPERIMENTALNI DEO

Istraživanje u okviru ove doktorske disertacije obuhvatalo je ukupno 144 uzorka krtola krompira, po 12 uzoraka četiri sorte - dve srednje rane sorte crvene boje pokožice - Red Fantasy (F) i Laura (L), jedna rana sorta bele boje pokožice - Marabel (M) i jedna kasna sorta bele boje pokožice - Jelly (J), iz perioda od 2013 do 2015. godine. Krtole su uzorkovane iz poljskog ogleda, koji je izveden u severnoj Bosni, region Lijeve polja na lokalitetu u ataru sela Laminci (45° 06' N, 17° 20' E), KO Gradiška, na nadmorskoj visini 90 m. Sorte krompira gajene su u tri sistema zemljoradnje - konvencionalni (K), integralni (I) i organski (O). Poljski ogledi su izvedeni na zemljištu tipa aluvijum, dok su mikroogledi postavljeni kao dvofaktorijalni u split-plot sistemu sa četiri ponavljanja. Ukupna veličina oglednog polja iznosila je 720 m², koje je bilo podeljeno na tri jednake potparcele veličine 240 m², po jedna podparcela za svaki ispitivani način gajenja. Potparcele su dalje podeljene na 16 elementarnih parcela veličine 14,70 m², na kojima su raspoređene ispitivane sorte, svaka sa po četiri ponavljanja. Kao sadni materijal, korišćena je kategorija sertifikovanog smenskog krompira uvoznog porekla iz Nemačke.

Tokom trogodišnjeg proizvodnog perioda (2013–2015) krompir je gajen u kontrolisanim uslovima u sve tri sistema gajenja. Razlike u vremenu i načinu vađenja, sušenju i obradi nakon skladištenja, uzorkovanju i pripremi uzoraka svedene su na najmanju moguću meru. Promene u prirodnom okruženju koje se sastoje od uklanjanja kompletnog vegetacionog pokrivača, intenzivne obrade zemljišta, postavljanja sistema za navodnjavanje, primene mineralnih đubriva i primene pesticida u zaštiti bilja od korova, bolesti i štetočina su osnovne agrotehničke mere na kojima se zasniva konvencionalna poljoprivreda. Integralna poljoprivreda predstavlja, manje ili više, unapređenu konvencionalnu poljoprivredu sa restriktivnom primenom đubriva i pesticida i sa manje ili više zastupljenom biološkom komponentom u programu zaštite bilja. Neki od integralnih sistema gajenja zasnivaju se na upotrebi predatora i na značajnom smanjenju, odnosno potpunom izostavljanju upotrebe hemijskih zaštitnih sredstava u cilju smanjenja negativnog uticaja agrohemikalija na životnu sredinu i zdravlje ljudi. Organski sistem proizvodnje je popularno definisan kao poljoprivreda koja ne koristi mineralna đubriva, pesticide i regulatore rasta, već podrazumeva korišćenje pokrovnog useva u cilju smanjenja opasnosti od zemljišnih štetočina i bolesti. Organski sistemi poljoprivredne proizvodnje zasnivaju se na praksama upravljanja zasnovanim na upotrebi sredstava i metoda koji dovode do ostvarivanja ekološke ravnoteže u agroekosistemu po uzoru na prirodne ekosisteme.

3.1. Priprema uzoraka - fizičke (morfološke) karakteristike krtola krompira i određivanje sadržaja vode (vlage)

U okviru ove disertacije posmatrana je razlika u morfološkim karakteristikama krtola četiri sorte/genotipa krompira iz tri uzastopne godine proizvodnje i tri načina proizvodnje. U tu svrhu, izmerena je masa svake krtole, zatim njena dužina, obim krtole sa i bez kore i poluprečnik krtole. Po dobijanju uzoraka, krtole krompira su dobro isprane mlakom vodom u trajanju od oko 30 sekundi, a nečistoća je uklonjena blagim trljanjem ispod mlaznice vode. Nakon pranja, krompir je ispran destilovanom vodom i stavljen u pokrivenu kadu da se osuši na vazduhu pre obrade (Galdón et al. 2012). Krtole su oljuštene i odvojeni su kora i jezgro. Debljina sloja oljuštene kore iznosila je u opsegu od 2 do 3 mm. Jezgro je odvojeno od ostatka krtole tako što je najpre svaka oljuštena krtola presečena na pola, a zatim je po liniji većeg prečnika, sa desne i leve strane odsečen deo krtole u dužini od 1,5 cm do 2 cm, dok je duž manjeg prečnika, sa gornje i donje strane odsečeno po 1–1,5 cm krtole, srazmerno veličini krtole. Po širini svake polovine krtole, odsečeno je po 0,5-1 cm u zavisnosti od veličine krtole. Tako dobijeno jezgro je dodatno usitnjeno nožem na listiće debljine 1-2 mm, radi lakšeg sušenja. Kora i jezgro su sušeni 48 h na 50 °C što je ujedno iskorišćeno za određivanje sadržaja vode u uzorcima u skladu sa neznatno modifikovanom indirektnom metodom za određivanje sadržaja vode (Sveučilište u Splitu, Kemijsko-tehnološki fakultet, Zavod za

analitičku kemiju 2010). Uzorci su sušeni u sušnici (*Instrumentaria ST-05, Zagreb*) do konstantne mase, a sadržaj vlage, odnosno vode u uzorcima je izračunat iz razlike mase uzoraka pre i posle sušenja (jednačina (3)):

$$V = \frac{(a-b)}{o} \times 100\% \quad (3)$$

gde je:

a- masa posude sa uzorkom pre sušenja (g)

b- masa posude sa uzorkom nakon sušenja (g)

o- izmerena masa uzorka (g)

Nakon sušenja, uzorci su samleveni kuhinjskim mlinom (Bosch TSM6A017C, Minhen, Nemačka) u cilju povećanja dodirne površine radi bolje ekstrakcije analiziranih jedinjenja. Dobijeni prah je čuvan u plastičnim bočicama, u frižideru na +4 °C do analize.

3.2. Određivanje hemijskih karakteristika krtola krompira

3.2.1 Reagensi i standardi

Određivanje ukupnog sadržaja polifenola i antioksidativnog kapaciteta

Reagensi i standardi za određivanje TPC i antioksidativnog kapaciteta ekvivalenta troloksa (Radical Scavenging Activity - RSA - trolox equivalents antioxidant capacity (TEAC)): Metanol (HPLC čistoće) i FC reagens su nabavljeni od firme *Merck* (KGaA, Darmstadt, Nemačka). 2,2-Difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) je kupljen od firme *Fluka Chemie AG* (Buh, Švajcarska). Troloks, standard galne kiseline i anhidrovani natrijum-karbonat su nabavljeni od *Sigma-Aldrich* (Štajnhajm, Nemačka). Za pripremu svih standardnih rastvora i razblaženja korišćena je ultračista voda (*MicroPure* sistem za prečišćavanje vode, 0,055 mS/cm, TKA, *Thermo Fisher Scientific*, Niederelbert, Nemačka). Etanol 96% (v/v) i HCl 37% (v/v) su nabavljeni od kompanije *Zorka Pharma* (Šabac, Srbija), a aceton od firme *Merck* (KGaA, Darmstadt, Nemačka). Svi reagensi su bili analitičkog stepena čistoće. Špric-filteri (13 mm, PTFE membrana 0,45 µm) su nabavljeni od firme *Supelco* (Bellefonte, PA, SAD).

Identifikacija i kvantifikacija polifenola – određivanje polifenolnog profila

Standardi polifenolnih jedinjenja korišćeni za identifikaciju i kvantifikaciju (UHPLC-LTQ OrbiTrap XL; UHPLC-DAD MS/MS): galna kiselina, protokatehuinska kiselina, hlorogena kiselina, *p*-hidroksibenzoeva kiselina, gentizinska kiselina, kofeinska kiselina, rutin, *p*-kumarinska kiselina, naringenin, *p*-hidroksifenilsirćetna kiselina, sinapinska kiselina, ferulinska kiselina, siringinska kiselina, hrizin, pinocembrin, galangin, 5-*O*-kofeoilhinska kiselina, kvercetin 3-*O*-glukozid (izokvercetin), kvercetin 3-*O*-ramnozid i kaemferol su nabavljeni od firme *Sigma-Aldrich* (Steinheim, Nemačka).

Analiza askorbinske kiseline – određivanje sadržaja vitamina C

Reagensi i standardi za određivanje vitamina C: standard askorbinske kiseline je nabavljen od firme *Wako Chemicals* (Osaka, Japan); acetonitril (HPLC čistoće), dihidrogen-fosfat (KH₂PO₄) su nabavljeni od firme *Sigma-Aldrich* (Steinheim, Nemačka), a metafosforna kiselina od firme *Centrohem* (Stara Pazova, Srbija). Rastvarači su filtrirani kroz 0,45 µm membranski filter (*Supelco*,

Bellefonte, PA, SAD) i pre upotrebe degazirani u ultrazvučnom kupatilu (*Sonic ultrasonic cleaner*, Sonic, USA).

Šećerni profil krtola krompira

Reagensi i standardi za određivanje sadržaja šećera: etanol 96% (v/v) je nabavljen od kompanije *Zorka Pharma* (Šabac, Srbija). Glukoza (Glc), fruktoza (Fru), saharoza (Sac), trehaloza (Tre), maltoza (Mal), arabinoza (Ara) kupljeni su od firme *Tokyo Chemical Industry*, TCI (Evropa, Belgija); turanoza (Tur), riboza (Rib), gentiobioza (Gent), izomaltoza (Ism), panoza (Pan), izomaltotrioza (Ismt), maltotrioza (Malt), melibioza (Mel), galaktoza (Gal) i ksiloza (Ksil) bili su nabavljeni od *Tokyo Chemical Industry*, TCI (Tokio, Japan); sorbitol (Sor) i galaktitol (Glt) su kupljeni od *Sigma-Aldrich* (Steinheim, Nemačka). Sve upotrebljene hemikalije bile su analitičkog stepena čistoće. Ultra čista voda (*MicroPure* sistem za prečišćavanje vode, 0,055 mS/cm, TKA, *Thermo Fisher Scientific*, Niederelbert, Nemačka) je korišćena za pripremu standardnih rastvora i slepih proba. Špic-filteri (13 mm, PTFE membrana 0,45 µm) kupljeni su od kompanije *Supelco* (Bellefonte, PA, SAD). Papir za filtriranje (Whatman No. 1) nabavljen je od firme *Merck* (KGaA, Darmstadt, Nemačka).

Elementalna analiza – određivanje sadržaja makro- i mikroelemenata

Reagensi i standardi za određivanje sadržaja makro- i mikroelemenata: azotna kiselina (65%, v/v) i vodonik-peroksid (30 %, v/v) bili su analitičkog stepena čistoće i nabavljeni su od firme *Merck* (Nemačka). Ultračista voda je dobijena upotrebom *Milli-Q* sistema (Millipore Simplicity 185 sistem koji uključuje dvostruke UV filtere, 185 nm i 254 nm) i korišćena je za pripremu standardnih rastvora i slepih proba. Za pripremu višeelementalnih standardnih rastvora za kvantifikaciju makro- i mikroelemenata primenom indukovano kuplovane plazme sa optičkom emisijom spektroskopijom (ICP-OES) i indukovano kuplovane plazme sa kvadrupolnom masenom spektrometrijom (ICP-QMS) korišćen je *semi-quantitative* osnovni (*stock*) rastvor koji sadrži 0,0100 g/L glavnih (makro) elemenata i elemenata u tragovima (mikroelementi) (*Alfa Aesar - Vard Hill*, Massachusetts, Sjedinjene Države) i osnovni (*stock*) rastvor koji sadrži 0,5000 g/L glavnih (makro) elemenata (*VHG Labs*, Manchester, USA). *Semi-quantitative* osnovni (*stock*) rastvor je upotrebljen za pripremu standardne serije rastvora (1; 10; 50; 100 i 250 µg/L) kod određivanja mikroelemenata (elemenata u tragovima kao što su As, Cd, Co, Cr, Cu, Hg, Mn, Ni, Pb, Se, i Zn), dok je osnovni (*stock*) rastvor korišćen za pripremu standardnih rastvora (0,5; 1,0; 5,0; 10,0 i 25,0 mg/L) kod određivanja Ca, Fe, K, Mg, i Na.

Određivanje sadržaja ukupnih ekstraktibilnih (rastvorljivih) proteina i SDS poliakrilamidna gel elektroforeza (SDS-page)

Hemikalije korišćene za pripremu pufera, gelova i rastvora su bile elektroforetske i analitičke čistoće, nabavljene od proizvođača *Merck* (Nemačka). Standard molekulskih masa (LMW-SDS Marker Kit standard), korišćen u ovom eksperimentu je imao sledeći sastav: fosforilaza B (94.000), albumin goveđeg seruma (66.000), ovoalbumin (45.000), karbonska anhidraza (30.000), KTI (20.100) i α -laktalbumin (14.400) i kupljen je od proizvođača *Amersham Bioscience* (Švedska). BSA standard (Bovine Serum Albumin - albumin goveđeg seruma) korišćenjen za spektrofotometrijsko određivanje ukupnih ekstraktibilnih proteina je kupljen od *Sigma Aldrich* (USA).

Sve standardne supstance i reagensi korišćeni za eksperimentalni rad, čija čistoća nije prethodno označena, bili su analitičkog stepena čistoće.

3.2.2 Optimizacija postupka ekstrakcije polifenolnih jedinjenja

U cilju razvoja optimalne procedure za izolovanja frakcije antioksidanasa iz krtola krompira primenjeno je pet različitih postupaka ekstrakcije na uzorcima iz 2015. godine proizvodnje.

Ekstrakcija 1: Oko 0,5 g suvog uzorka ekstrahovano je sa 10 mL 80% metanola u ultrazvučnom kupatilu tokom 20 minuta na sobnoj temperaturi. Ekstrakt je centrifugiran 15 minuta na 3000 rpm. Supernatant je sakupljen i ekstrakcija je ponovljena još dva puta. Finalni ekstrakt je sakupljen i uparen pod vakuumom na temperaturi od 40 °C. Ostatak je zatim rastvoren u 5 mL smeše metanol / voda (3:2). Rastvor je filtriran (0,45 mm PTFE membranski filter) i čuvan na 4 °C do analize.

Ekstrakcija 2: Oko 0,5 g suvog uzorka ekstrahovano je sa 10 mL smeše etanol - voda (80:20, v/v) tokom 10 minuta na ultrazvučnom kupatilu. Nakon toga, centrifugiranje je izvedeno na 4000 rpm tokom 15 minuta. Ekstrakcija je ponovljena tri puta. Rastvori su sakupljeni i upareni do suva na temperaturi od 40 °C. Zatim su rastvoreni u 5 mL smeše metanol - voda (50:50, v/v) i čuvani na 4 °C do analize.

Ekstrakcija 3: Oko 0,5 g suvog uzorka ekstrahovano je sa 10 mL smeše aceton - voda (70:30, v/v) tokom 30 minuta korišćenjem ultrazvučnog kupatila na sobnoj temperaturi. Ekstrakti su centrifugirani 15 minuta na 4000 rpm. Supernatant je sakupljen i ekstrakcija je ponovljena još dva puta. Rastvori su sakupljeni i upareni do suva. Nakon toga su rastvoreni u 5 mL metanola.

Ekstrakcija 4: Oko 0,5 g suvog uzorka ekstrahovano je tri puta po 30 minuta sa 10 mL metanola koji sadrži 1% HCl u ultrazvučnom kupatilu na sobnoj temperaturi u mraku. Ekstrakti su centrifugirani na 4000 rpm tokom 15 minuta. Rastvori su spojeni i upareni do suva na 40 °C. Dobijeni precipitat je rastvoren sa 5 mL smeše metanol / 1% HCl i čuvan na 4 °C do analize.

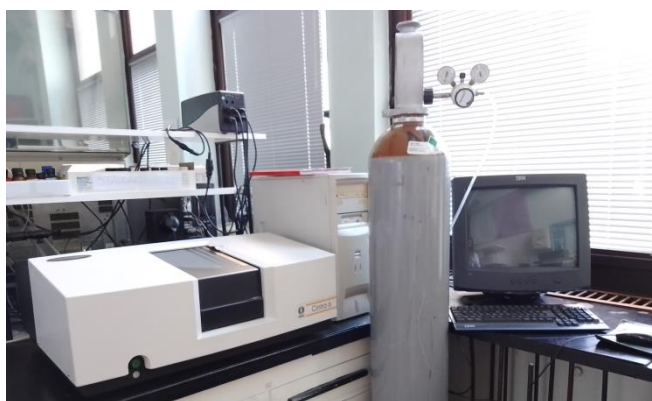
Ekstrakcija 5: Oko 0,5 g suvog uzorka ekstrahovano je tri puta sa 10 mL smeše metanol - voda (70:30, v/v) koja sadrži 0,1% HCl u ultrazvučnom kupatilu tokom 30 minuta na sobnoj temperaturi u mraku. Ekstrakti su centrifugirani 15 minuta na 4000 rpm. Rastvori su spojeni i upareni do suva na temperaturi od 40 °C. Dobijeni talog je rastvoren u 5 mL vode. Čvrsto-tečna ekstrakcija je korišćena za prečišćavanje ekstrakata. Predkondicioniranje C-18 kolone je izvedeno sa 3 mL metanola i 9 mL ultračiste vode. Uzorci su nanošeni pod vakuumom bez prethodnog filtriranja. Komponente šećera su eluirane sa kolone sa 6 mL vode, a polifenolna jedinjenja su eluirana sa 1,5 mL metanola.

Dobijeni ekstrakti su korišćeni za određivanje ukupnog sadržaja polifenola (TPC) i antioksidativnog kapaciteta ekvivalenata troloksa (RSA - TEAC). Na osnovu dobijenih rezultata napravljena je selekcija postupaka ekstrakcije, nakon čega je u odabranim ekstraktima određen polifenolni profil u uzorcima krtola krompira.

3.2.3 Određivanje ukupnog sadržaja polifenola i antioksidativnog kapaciteta krtola krompira

Određivanje ukupnog sadržaja polifenola

Ukupni sadržaj polifenola u uzorcima određen je spektrofotometrijski na UV-VIS spektrofotometru GBC UV-Visible Cintra 6 (Slika 2), korišćenjem modifikovane verzije Folin Čikalteu metode opisane u literaturi, uz upotrebu galne kiseline kao standard (Burgos et al. 2013). Zapremini od 0,5 mL razblaženog uzorka dodato je 0,5 mL ultračiste vode i 2,5 mL 10% FC reagensa. Smeša je inkubirana 5 minuta na sobnoj temperaturi. Zatim je dodato 2 mL 7,5% natrijum-karbonata. Nakon 2 h inkubacije na sobnoj temperature na tamnom mestu, izmerena je apsorbancija na 765 nm na GBC UV-Visible Cintra 6 spektrofotometru. Kao standard je korišćena galna kiselina. Napravljena je serija standardnih rastvora koncentracije 20, 40, 50, 70 i 100 ppm, dok je kao blank korišćena smeša 1 mL vode i reagenasa. Pomoću jednačine prave, dobijene metodom najmanjih kvadrata za seriju standardnih rastvora galne kiseline, izračunata je koncentracija ukupnih polifenola u ispitivanim uzorcima. Rezultati su izraženi kao miligram-ekvivalenti galne kiseline (GAE) po kg krompira. Sva merenja su urađena u duplikatu.



Slika 2. GBC UV-Visible Cintra 6 spektrofotometar.

Određivanje antioksidativnog kapaciteta

Metoda za određivanje antioksidativnog kapaciteta krtola krompira koje su ispitivane u ovoj disertaciji predstavlja modifikovanu metodu iz literature (Burgos et al. 2013). Zapremini od 0,1 mL razblaženog uzorka i 0,1 mL standarda dodato je 4 mL rastvora DPPH koncentracije 0,02 mg/mL. Ovako dobijeni rastvori su inkubirani 60 minuta na sobnoj temperaturi, na tamnom mestu. Nakon isteka vremena inkubacije, izmerena je apsorbancija na 517 nm. Troloks je korišćen kao standard. Napravljena je serija standardnih rastvora troloksa koncentracija 100, 200, 300, 400, 500 i 600 μ M. Kao blank je korišćen čist metanol, dok je kao slepa proba (SP) korišćena smeša 0,1 mL metanola i 4 mL rastvora DPPH iste koncentracije. Na osnovu izmerenih apsorbancija izračunata je relativna antioksidativna aktivnost (RSA) (jednačina (4) i (5)):

$$RSA (\%) = \frac{(ADPPH \text{ SP} - A_{std})}{ADPPH \text{ SP}} \times 100 \quad (4)$$

i

$$RSA (\%) = \frac{(ADPPH \text{ SP} - A_{uzorka})}{ADPPH \text{ SP}} \times 100 \quad (5)$$

Pomoću jednačine prave, dobijene metodom najmanjih kvadrata za vrednosti RSA troloksa-standarda, izračunata je relativna antioksidativna aktivnost ispitivanih uzoraka. Rezultati su izraženi kao mM TE/kg suvog uzorka krompira.

3.2.4 Identifikacija i kvantifikacija polifenola u uzorcima krtola krompira

U okviru ove disertacije identifikovana su najzastupljenija fenolna jedinjenja u uzorcima krtola krompira primenom ultra-efikasne tečne hromatografije sa masenim detektorom visoke rezolucije (UHPLC-LTQ OrbiTrap XL), dok je kvantifikacija fenolnih jedinjenja u uzorcima krtola urađena primenom ultra-efikasne tečne hromatografije sa ultravioletnim detektorom sa više dioda i masenim detektorom sa tri analizatora – trostruki kvadrupol (UHPLC-DAD MS/MS).

Identifikacija polifenolnih jedinjenja - određivanje polifenolnog profila

Za razdvajanje i identifikaciju fenolnih jedinjenja iz uzoraka krtola krompira primenjen je sistem za ultra-efikasnu tečnu hromatografiju *ThermoFisher Scientific* (Slika 3). Sistem se sastoji od *Accela* autosempleta (*Thermo Fisher Scientific*, Bremen, Germany), kvaternarne *Accela* 600 pumpe i *Synchronis* C18 kolone, i povezan je na hibridni maseni spektrometar visoke rezolucije (*UHPLC-LTQ OrbiTrap XL*) sa jonskim izvorom u obliku elektrosprej jonizacije (*ElectroSpray Ionization, ESI*). Analitička kolona korišćena za razdvajanje *Synchronis* C18 (100 × 2,1 mm, veličina čestica 1,7 μm) je nabavljena od kompanije *Thermo Fisher Scientific*. Mobilna faza se sastojala od eluenta A: voda + 0,1% mravlje kiseline i eluenta B: acetonitril + 0,1% mravlje kiseline. Korišćen je program linearnog gradijenta pri brzini protoka od 0,300 mL/min: 0,0–1,0 min 5% B, 1,0–9,9 min od 5 do 95 % (B), 9,9–10 min od 95 do 5 % (B), i 5% (B) tokom 3 min. Injektovana zapremina uzoraka je bila 5 μL. Maseni spektar si snimljeniu negativnom režimu, pokrivajući oblast masenog spektra punog opsega koji pokriva 100–1000 *m/z*. Parametri jonskog izvora bili su sledeći: napon izvora, 3 kV; kapilarni napon, –20 V; napon cevno sočiva, –150 V; temperatura kapilara, 275 °C; glavni i pomoćni protok gasa (N₂) 30 i 8 proizvodnih jedinica, redom. Za studiju fragmentacije, podaci koji zavise od snimanja su dobijeni kolizionom indukovanom disocijacijom (CID). Fenolna jedinjenja su identifikovana na osnovu odgovarajućih spektralnih karakteristika: maseni spektri, tačna masa, karakteristična fragmentacija i karakteristično vreme zadržavanja (retenciono vreme). Na osnovu snimljene tačne mase molekuskog jona ([M – H][–]) nepoznatog jedinjenja dobijena je informacija o molekuskjoj formuli, dok je na osnovu MS² fragmentacije omogućeno razjašnjavanje strukture tog nepoznatog jedinjenja.



Slika 3. UHPLC + LTQ Orbitrap XL (Gašić 2017).

Kvantitativna analiza fenolnih jedinjenja

Kvantifikacija fenolnih jedinjenja u uzorcima krtola urađena je na *Dionex Ultimate 3000 HPLC* sistemu opremljenim sa DAD detektorom koji je povezan na maseni spektrometar (*TSQ Quantum Access Max*) sa detektorom sa tri analizatora – trostruki kvadrupol (*UHPLC-DAD MS/MS*) (Slika 4). Proces eluiranja je izveden na analitičkoj *Synchronis C18* koloni koja je termostatirana na 40 °C. Kao mobilna faza korišćeni su eluent A: voda + 0,1% sirćetna kiselina i eluent B: acetonitril sa gradijentom koncentracije: 5% B, 2,0 min; 5 - 95% B, 2,0 - 12,0 min; 95 - 5% B, 12,0 - 12,2 min; 5% B do 15 min sa protokom od 0,300 mL/min. Talasne dužine su podešene na 254 nm i 280 nm, dok je zapremina injektovanog uzorka iznosila 5 µL. Maseni spektrometar (*TSQ Quantum Access Max*) je snimao mase u negativnom modu (opseg 100 - 1000 m/z) i bio je opremljen jonskim izvorom u obliku elektrosprej jonizacije na temperaturi od 200 °C, napon spreja bio je 5 kV, a temperatura kapilare 300 °C. Kako bi se izvršila kvantifikacija polifenola, za svaki standard je snimljen molekulski jon i najintenzivniji fragment MS^2 spektra. Za kontrolu instrumenta, prikupljanje podataka i analizu podataka korišćen je *Xcalibur* softver (verzija 2.2). Softver *Mass Frontier* (verzija 6.0; *Thermo Fisher Scientific*) je korišćen kako bi se potvrdili predloženi mehanizmi fragmentacije i karakteristični fragmenti. Internet baza podataka masene spektrometrije *ChemSpider* (www.chemspider.com) i program za uređivanje molekula *ChemDraw* (verzija 12.0) korišćeni su kao referentne biblioteke za izračunavanje mase jedinjenja od interesa. Integraljenjem površina pikova izračunat je ukupan sadržaj svakog jedinjenja i sadržaj je izražen kao mg/kg.



Slika 4. Ultimate 3000 HPLC-DAD-TSQ Quantum Access Max maseni spektrometar (Gašić 2017).

3.2.5 Analiza askorbinske kiseline – određivanje sadržaja vitamina C

Sadržaj vitamina C u uzorcima kore i jezgra krompira određen je primenom visokoeфикаsne tečne hromatografije (HPLC). Metoda za određivanje sadržaja askorbinske kiseline koja je korišćena u ovoj disertaciji je optimizovana na osnovu literaturnih podataka (Han et al. 2004). Pet grama uzorka je ekstrahovano sa 10 mL 3% meta-fosforne kiseline na ultrazvučnom kupatilu 10 min, na sobnoj temperaturi. Potom su uzorci centrifugirani 5 minuta na 5200 obrtaja. Nakon centrifugiranja, ekstrakti su profiltrirani kroz filtere NY: 0,45 µm. Analiza vitamina C je urađena na tečnom hromatografu *1500 Series HPLC, Waters* sa UV detektorom *2487 Dual λ Absorbance Detector, Waters* podešenim na dve talasne dužine $\lambda_1 = 254$ nm, $\lambda_2 = 267$ nm (Slika 5). Rađeno je izokratsko eluiranje, a kao mobilna faza korišćen je fosfatni pufer pH = 2,5. Brzina protoka je bila 1 mL/min na temperaturi kolone od 20 °C. Macherey Nagel kolona [C18, 5 µm, 4,0, 250 mm] je korišćena za analizu askorbinske kiseline. Zapremina injektovanog uzorka je bila 10 µL, a vreme trajanja analize 10 minuta. Obrada hromatograma izvršena je *Empower HPLC* softverom. Kvantifikacija je

postignuta pomoću jednačine prave, dobijene metodom najmanjih kvadrata na osnovu površine ispod pikova za seriju standardnih rastvora askorbinske kiseline. Rezultati su izraženi kao mg vitamina C/100 g uzorka kore, odnosno jezgra krompira.



Slika 5. HPLC: 1500 Series HPLC, Waters sa UV detektorom 2487 Dual λ Absorbance Detector, Waters.

3.2.6 Šećerni profil krtola krompira

Ekstrakcija i analiza ugljenih hidrata

U cilju ekstrakcije ugljenih hidrata u erlenmajer je izmereno po ~ 0,1 g svakog suvog uzorka kore i jezgra. Potom je dodato 25 ml ultračiste vode. Sadržaj je mešan na ultrazvučnom kupatilu 25 minuta, na sobnoj temperaturi, nakon čega je cetrifugiran na 4000 obrtaja u trajanju od 10 minuta. Rastvor je nakon cetrifugiranja odvojen od taloga, a na talog je dodato novih 25 mL ultračiste vode. Sadržaj je ponovo mešan na ultrazvučnom kupatilu 25 minuta, na sobnoj temperaturi. Ponovljeno je cetrifugiranje i rastvori (ekstrakti) su spojeni. Neposredno pre analize ekstrakti su profiltrirani kroz filtre NY:0,45 μ m u kivete

U uzorcima kore i jezgra analiziranih krtola, primenom visoko-efikasne jonske hromatografije sa elektrohemijjskim detektorom (HPAEC-PAD) kvantifikovano je osamnaest saharida, uključujući šest monosaharida (Glc – glukoza, Fru – fruktoza, Gal – galaktoza, Ara – arabinoza, Ribo – riboza, Xys – ksiloza), sedam disaharidi (Sac – saharoza, Mal – maltoza, Tre – trehaloza, Tur – turanoza, Gent – gentiobioza, Ism – izomaltoza, Mel – melibioza), tri trisaharida (Pan – panoza, Ismt – izomaltotrioza, Malt – maltotrioza) i dva alditola (Sor – sorbitol, Glt – galaktitol), dok je sadržaj polisaharida – skroba određen polarimetrijski.

Hromatografski eksperimenti su izvedeni primenom sistema za tečnu hromatografiju *DIONEX ICS 3000 DP* (Dionex, Sunnyvale, CA, USA) koji je opremljen sa kvaternarnom gradijentnom pumpom (*Dionex*) (Slika 6). Ugljeni hidrati su odvojeni na *Carbo Pac®PA100* pelikularnoj anjonizmenjivačkoj koloni (4 \times 250 mm, veličina čestica - 8,5 μ m, veličina pora - mikroporozni, <10 μ m), na 30 °C. Mobilna faza se sastojala od sledećeg linearnog gradijenta (brzina protoka, 0,7 mL / min): 0–5 min, 15% A, 85% C; 5,0–5,1 min, 15% A, 2% B, 83% C; 5,1–12,0 min, 15% A, 2% B, 83% C; 12,0–12,1 min, 15% A, 4% B, 81% C; 12,1–20,0 min 15% A, 4% B, 81% C; 20,0–20,1 min 20% A, 20% B 60% C; 20,1–30,0 min 20% A, 20% B 60% C; gde je A 600 mM natrijum-hidroksid, B – 500 mM natrijum-acetat i C ultračista voda. Pre analiza, sistem je bio kondicioniran sa 15% A, 85% C, tokom 15 minuta. Svaki uzorak zapremine 25 mL injektovan je primenom *ICS AS-DV 50* autosamplera (*Dionex*). Elektrohemijjski detektor se sastojao od zlatne radne i Ag/AgCl referentne elektrode. Za kvantifikaciju ugljenih hidrata korišćeni su standardni rastvori glukoze, fruktoze i saharoze koji su razblaženi ultračistom vodom do koncentracije od 1000 ng/mL, dok su

standardni rastvori ostalih šećera razblaženi do koncentracije od 100 ng/mL. Radni rastvor je razblažen ultračistom vodom u cilju dobijanja standardne serije rastvora za kalibraciju. Smeša koja je služila za kontrolu rada instrumenta je pripremljena razblaživanjem standardnih rastvora šećera do koncentracija u opsegu 0,9-100 ng/mL, u zavisnosti od njihove koncentracije u uzorku. Softverski paket *Chromeleon* (verzija 6.80) korišćen je za kontrolu instrumenta, akviziciju i analizu podataka (Tabela 1). Dobijeni rezultati za svaku sortu/genotip su predstavljeni kao srednje vrednosti triplikata izraženi kao mg/kg i dalje su korišćeni u multivarijantnoj analizi.



Slika 6. DIONEX ICS 3000 DP (Dionex, Sunnyvale, CA, USA).

Tabela 1. Nagib krive (b), koeficijent determinacije (R^2), standardna devijacija (SD), relativna standardna devijacija (RSD), granica detekcije (LOD) i kvantifikacije (LOQ) šećera.

Šećeri	b	R^2	SD	RSD (%)	LOD	LOQ
Saharoza	1,370	99,747	1,949	4,62	0,042	0,139
Glukoza	4,602	99,822	7,220	4,07	0,040	0,132
Fruktoza	2,611	99,704	5,641	4,92	0,069	0,229
Maltoza	2,175	99,787	2,789	4,14	0,038	0,124
Arabinoza	5,006	99,740	0,640	4,61	0,026	0,087
Galaktoza	3,503	99,791	0,433	4,11	0,035	0,117
Ksiloza	1,863	99,673	1,834	4,99	0,150	0,448
Riboza	2,588	99,809	1,565	4,07	0,034	0,112
Turanoza	1,015	99,764	0,207	4,47	0,041	0,134
Maltotrioza	0,866	99,709	1,567	4,82	0,144	0,478
Gentiobioza	0,011	99,658	0,005	5,29	0,048	0,159
Melibioza	3,691	99,811	0,446	4,25	0,030	0,097
Izomaltoza	2,702	99,868	2,748	3,36	0,031	0,101
Izomaltotrioza	1,999	99,686	1,887	4,96	0,148	0,491
Panoza	2,336	99,812	1,862	3,91	0,114	0,387
Trehaloza	2,232	99,808	0,527	3,94	0,052	0,171
Sorbitol	3,201	99,826	0,131	3,79	0,028	0,093
Galaktitol	1,663	99,810	0,515	3,84	0,041	0,133

Određivanje sadržaja skroba

Sadržaj skroba u krtolama krompira određen je polarimetrijski u skladu sa standardnim protokolom US ISO 6493: 2000 (UNBS, 2000). Korišćen je polarimetar *ATAGO POLAKS-2 L* (Tokio, Japan), opremljen natrijumovom D-lampom i polarimetrijskom cevi dužine 200 cm (Slika 7). Kalibracija polarimetra izvršena je destilovanom vodom.



Slika 7. *ATAGO POLAKS-2 L* (Tokio, Japan) polarimetar.

Određivanje ukupne optičke rotacije

Za određivanje ukupne optičke rotacije odmereno je 2,5 g (m_1) uzorka krompira i kvantitativno preneto u normalni sud zapremine 100 mL. Dodato je 50 mL 0,31 M hlorovodonične kiseline. Normalni sud je zatim uronjen u ključalo vodeno kupatilo, a sadržaj normalnog suda je konstantno mućkan u toku 3 minuta. Nakon toga, ostavljen je da stoji 15 minuta. Po isteku 15 minuta, u normalni sud je dodato 30 mL hladne destilovane vode (10 °C) i rastvor je ostavljen da se ohladi do 20 °C. Potom je dodato 5 mL rastvora kalijum-heksacijanoferata(II) i snažno promućkano jedan minut. Isti postupak je zatim ponovljen dodatkom 5 mL rastvora cink-acetata. Dobijeni rastvor je centrifugiran na 5200 obrtaja 5 minuta, i nakon toga proceđen kroz filter papir (plava traka). Optička rotacija (α_1) bistrog filtrata je određena na polarimetru.

Određivanje optičke rotacije komponenata rastvornih u etanolu

Za određivanje optičke rotacije komponenata rastvornih u etanolu odmereno je 5 g (m_2) uzorka krompira i kvantitativno preneto u normalni sud zapremine 100 mL. Dodato je 80 mL 40% etanola. Rastvor je ostavljen da stoji 1 h na sobnoj temperaturi, pri čemu je bilo potrebno da se na svakih 10 minuta snažno promućka. Nakon isteka jednog sata, rastvor je razbaležen istim etanolom do crte, a zatim i proceđen kroz filter papir (plava traka). Pedeset mL filtrata je kvantitativno preneto u normalni sud od 100 mL i dodato je 2 mL 0,31 M HCl. Ovakav rastvor je uronjen u ključalo vodeno kupatilo. Nakon 15 minuta, u rastvor je dodato 30 mL hladne vode (10 °C) i ostavljeno da se ohladi do 20 °C. Potom je dodato 5 mL rastvora kalijum-heksacijanoferata(II) i snažno mućkano u trajanju od 1 minuta. Isti postupak je zatim ponovljen dodatkom 5 mL rastvora cink-acetata. Dobijeni rastvor je centrifugiran na 5200 obrtaja, 5 minuta i proceđen kroz filter papir (plava traka). Optička rotacija (α_2) bistrog filtrata je određena na polarimetru.

Sadržaj skroba izračunat je na osnovu jednačine (6) množenjem vrednosti specifične rotacije čistog skroba sa korekcionim faktorom. Korekcija je bila neophodna zbog promena u specifičnoj optičkoj rotaciji izazvanih prisustvom drugih supstanci rastvorenih u 40% etanolu ili supstanci koje nastaju nakon tretiranja uzorka hlorovodoničnom kiselinom.

Izračunavanje

$$w = \frac{20000}{\alpha_D^{20}} \times \left(\frac{2,5 \alpha_1}{m_1} - \frac{5 \alpha_2}{m_2} \right) \quad (6)$$

gde je:

w - vrednost sadržaja skroba izrežena kao g/kg

α_1 - ukupna optička rotacija

α_2 - optička rotacija komponenti rastvornih u etanolu

m_1 - odmerena masa uzorka (g) za merenje ukupne optičke rotacije

m_2 - odmerena masa uzorka (g) za merenje optičke rotacije komponenti rastvornih u etanolu

α_D - vrednost specifične rotacije čistog skroba; α_D za krompir iznosi 185,7.

3.2.7 Elementalna analiza – određivanje sadržaja makro- i mikroelemenata

Mikrotalasna digestija

Praškasti uzorci krompira su podvrgnuti mikrotalasnom razaranju. Oko 0,3 g svakog uzorka je odmereno u teflonske kivete (politetrafluoroetilen, PTFE kivete). Nakon toga, u kivete je dodato 7 mL azotne kiseline (65%, v/v) i 2 mL vodonik-peroksida (30 %, v/v). Digestija uzorka je izvedena u mikrotalasnoj pećnici od 2000 W (*Speedwave, Berghof, Nemačka*). Temperaturni program i uslovi mikrotalasnog razaranja su dati u Tabeli 2. Nakon završene digestije, uzorci su kvantitativno prebačeni u normalne sudove zapremine 50 mL, dopunjeni ultračistom vodom i odloženi u frižider na 4 °C do analize. Takođe, pripremljene su dve slepe probe (*blank*) koristeći istu proceduru.

Tabela 2. Temperaturni program i uslovi mikrotalasne digestije.

T (°C)	p (bar)	Ramp	Hold	P (%)
170	30	15	10	60
190	35	10	10	70

Kvantifikacija makro- i mikroelemenata

Kvantifikacija glavnih (makro) elemenata (Ca, Fe, K, Mg i Na) urađena je primenom indukovano kuplovane plazme sa optičkom emisionom spektroskopijom (ICP-OES; model 6500 Duo; opremljen detektorom tipa CID86; *Thermo Scientific Valtham, SAD*). Ceo sistem ovog instrumenta kontroliše se *Iteva softverom* (iCAP Software Iteva izdanje 8) (Slika 8). Koncentracije elemenata u tragovima (mikroelementi) (As, Cd, Co, Cr, Cu, Hg, Mn, Ni, Pb, Se i Zn) određene su primenom indukovano kuplovane plazme sa kvadrupolnom masenom spektrometrijom (ICP-QMS; iCAP Q, *Thermo Scientific X series 2, Velika Britanija*). Sistem je kontrolisan softverom *Qtegra Instrument Control Software* (iCAP Q/ iCAP RQ 2.8.3170.392) (Slika 9). Instrumentalni uslovi za određivanje na ICP-OES i ICP-QMS, izabrane talasne dužine makro elemenata i izabrani izotopi mikro elemenata dati su u Tabeli 3. Svi uzorci su analizirani u duplikatu, a koncentracije elemenata su određene u tri ponavljanja.



Slika 8. ICP-OES - Induktivno kuplovana plazma – optičko emisiona spektrometrija; model 6500 Duo; opremljen detektorom tipa CID86; Thermo Scientific Valtham, SAD.



Slika 9. ICP-QMS: Indukovano kuplovana plazma sa kvadrupolnom masenom spektrometrijom; iCAP Q, Thermo Scientific X serije 2.

Tabela 3. Uslovi rada ICP-OES i ICP-QMS uređaja tokom određivanja koncentracija makro- i mikroelemenata.

ICP-OES		ICP-QMS	
Rf snaga	1150 W	Rf snaga	1548 W
Raspršivač	koncentričan	Protok gasa	13,9; 1,09; 0,8 L/min
Komora za raspršivanje	ciklonska	Vreme akvizicije	3 x 50 s
Detektor	CID86	Points per peak	3
Glavni protok argona	12 L/min	Integraciono vreme	10 ns
Spoljašnji protok argona	0.5 L/min	Mod detektora	Pulsni
Brzina protoka argona u raspršivaču	0.5 L/min	Izabrani izotopi	^{75}As , ^{111}Cd , ^{59}Co , ^{53}Cr , ^{63}Cu , ^{204}Hg , ^{55}Mn , ^{62}Ni , ^{208}Pb , ^{82}Se , ^{68}Zn
Brzina protoka uzorka	1.0 mL/min		
Izabrane talasne dužine (nm)	Ca (393.3); Fe (259.9); K (766.4); Mg (285.2); Na (589.5)		

3.2.8 Određivanje sadržaja ukupnih ekstraktibilnih (rastvorljivih) proteina i SDS poliakrilamidna gel elektroforeza

Priprema uzoraka

Fino samleveni uzorci jezgra i kore krompira, mase približno 1 g, su odmašćeni sa 10 mL heksana mešanjem na šejkeru u trajanju od 1 h. Nakon isteka sat vremena, rastvori su centrifugirani 10 min na 17000 g (Sigma 201 M Centrifuge, Osterode am Harz, Nemačka), supernatant je odbačen, dok je u čvrsti deo uzorka dodat etil-acetat kako bi se uklonili polifenoli koji mogu smetati pri elektroforetskoj analizi. Posle 1 h mešanja na šejkeru, uzorci su ponovo centrifugirani 10 min na 17000 g, supernatant je odbačen, a čvrsti deo uzorka u kiveti je ostavljen u kapeli kako bi se uklonio višak rastvarača (etil-acetata). Nakon toga je odmereno oko 0,1 g pripremljenog uzorka i ekstrahovano sa 1 mL 0,03M Tris-HCl puferom (pH = 8) koji je sadržao 0,01 M β -merkaptotanol, uz konstantno mešanje na mehaničkom šejkeru tokom 2 h. Uzorci su nakon ekstrakcije centrifugirani 10 min na 17000 g, a dobijeni supernatanti su čuvani za dalje održavanje ukupnih ekstraktibilnih proteina i elektroforetsku analizu.

Sadržaj ukupnih ekstraktibilnih (rastvorljivih) proteina

Sadržaj ukupnih ekstraktibilnih proteina je određen prema metodi koju je ustanovio Bradford (Bradford 1976). Pripremljeni supernatant zapremine 100 μ L je pomešan sa 5 mL bratfordovog regensa uz intenzivno mešanje tokom 20 s. Nakon 20 min stajanja na sobnoj temperaturi, uzorci su ponovo promešani i apsorbcija je merena na 595 nm upotrebom Shimadzu UV/VIS spektrofotometra (UV-1800, Shimadzu USA Manufacturing Inc). Sadržaj ekstraktibilnih proteina je određen korišćenjem jednačine prave dobijene na osnovu prethodno pripremljene i snimljene standardne serije rastvora (BSA korišćen kao standard), a rezultati su izraženi kao g ekvivalent BSA u 100 g uzorka jezgra/kore krompira. Bratfordov reagens je pripremljen mešanjem 100 mg Coomassie® brilliant blue G250, 50 ml 95% etanola, 100 ml 85% fosforne kiseline i 850 mL destilovane vode. Reagens je čuvan u tamnoj boci i neposredno pre rada je filtriran kroz Vatman filter papir (WNo1).

SDS poliakrilamidna gel elektroforeza (SDS-PAGE)

Natrijum-dodecilsulfat poliakrilamid gel elektroforeza (SDS-PAGE - sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis) u redukujućim uslovima je izvedena po metodi koju su predložili Fling i Gregerson (Fling and Gregerson 1986). Gel za razdvajanje je bio 12,5% (pH = 8,85), gel za koncentrovanje je bio 5% (pH = 6,8), a radni pufer je bio Tris-glicinski (pH = 8,5) [0,05 M Tris, 0,19 M glicin i 0,1% (w/v) SDS]. Ekstrakti proteina su razblaživani puferom za uzorke pH = 6,8 [0,055 M Tris-HCl, 2% (w/v) SDS, 5% (v/v) β -merkaptotanol, 0,0025 % (w/v) bromfenol plavo i 7% (v/v) glicerol]. Razblaženi uzorci su zagrevani 2 min na 90 °C, ohlađeni i zatim nanošeni u bunariće u zapremini od 75 μ L. Korišćen uređaj za elektroforezu (LKB, Švedska) je sastavljen od vertikalne elektroforetske jedinice (LKB 2001-100), rashladne jedinice (Multitemp II) i izvora napona (Makro Drive). Nakon završetka elektroforeze (oko 5 h), gelovi su fiksirani i bojeni u prethodno pripremljenom 0,23% (w/v) Coomassie brilliant blue R250 rastvoru [Coomassie brilliant blue R250 rastvoren u 3,90% (w/v) trihlorsirćetnoj kiselinu, 17% (v/v) metanolu i 6% (v/v) sirćetnoj kiselinu] tokom 1 h. Nakon bojenja, gelovi su obezbojeni u rastvoru za obezbojavanje (18% (v/v) etanol i 8% (v/v) sirćetna kiselina), skenirani i analizirani SigmaGel (Jandal Scientific, San Rafael, CA) i ImageJ programima (ImageJ 1.x, LOCI, University of Wisconsin).

3.3. Statistička obrada rezultata

U cilju optimizacije postupka ekstrakcije polifenolnih jedinjenja i odabira jednog, potencijalno najboljeg postupka, urađeni su neparametrijski testovi - Fridmanov test i Viloksonov test ranga u okviru SPSS softverskog paketa (IBM SPSS Statistics 20) na osnovu sadržaja ukupnih polifenola i antioksidativnog kapaciteta. U svrhu dalje optimizacije određen je polifenolni profil i urađena je kvantifikacija polifenola, a rezultati koji su dobijeni nakon UHPLC-LTQ OrbiTrap XL i UHPLC-DAD MS/MS analiza obrađeni su u okviru softverskog paketa PLS ToolBox, v.6.2.1 MATLAB 7.12.0 (R2011a) (MathWorks INC, Natick, MA, USA). Radi dobijanja detaljnijeg uvida u strukturu podataka i identifikaciju sličnosti/različitosti i specifičnosti grupisanja objekata urađena je analiza glavnih komponenata (Principal Component Analysis - PCA). Svi podaci su autoskalirani pre multivarijantne analize.

Slično kao kod obrade rezultata za sadržaj ukupnih polifenola i antioksidativnog kapaciteta, tako su i za rezultate sadržaja vitamina C, u cilju provere mogućnosti njegovog korišćenja kao potencijalnog pokazatelja genotipa i načina proizvodnje krompira, urađeni neparametrijski testovi - Fridmanov test i Viloksonov test ranga u okviru SPSS softverskog paketa.

Da bi se procenili efekti sistema gajenja, razlike između sorti, godišnjih doba i tipova uzoraka, na ukupnu varijabilnost sadržaja skroba, makro- i mikro- šećernih komponenti, urađena je multivarijantna analiza varijanse (MANOVA). MANOVA je izvedena korišćenjem opšteg linearnog modula, dela softvera Statistica (Statistica v.10, Statsoft Inc. Tulsa, Oklahoma, SAD). Kao zavisne varijable korišćene su koncentracije šećera. Kao kategoričke varijable korišćeni su način proizvodnje, sorte i godine proizvodnje. Ukupno 684 podataka za vrednost koncentracija šećernih komponenata je korišćeno kao ulazni podaci za MANOVA proračune. Izvedene su dve multivarijantne analize varijanse. Prva je korišćena za modelovanje uticaja faktora na sadržaj šećera u jezgri krtola, dok se druga analiza koristila za modelovanje uticaja faktora na sadržaj šećera u kori krompira. Slično tome, radi ukazivanja na to koji makro- i mikroelementi i na koji način se mogu koristiti kao indikatori genotipova krompira i sistema gajenja, primenjena je MANOVA, gde su kao zavisne varijable korišćene koncentracije tih elemenata. Ukupno 384 podatka za vrednost koncentracija metala su korišćena kao ulazni podaci za MANOVA proračune. Pre ove MANOVE nije urađen varijabilni predtretman. Kao kategoričke nezavisne varijable (faktori) korišćeni su način proizvodnje, sorte i analizirani deo (kora/jezgro) krompira. Značaj svakog od faktora je prvo testiran na multivarijantnom nivou uzimajući u obzir sadržaj metala kao multivarijantne promenljive istovremeno, korišćenjem nekoliko statističkih parametara (Pilajev trag, Hottelingov T₂, Vilkov lambda i Rojev najveći koren).

U cilju provere mogućnost korišćenja sadržaja ukupnih rastvorljivih proteina kao potencijalnog pokazatelja genetskih razlika među sortama krompira i uticaj sistema gajenja (proizvodnje) na akumulaciju proteina u krtolama, urađeni su neparametrijski testovi - Fridmanov test i Viloksonov test ranga u okviru SPSS softverskog paketa (IBM SPSS Statistics 20). S druge strane, nakon SDS poliakrilamidne gel elektroforetske analize u cilju obrade slika gelova korišćen je elektronski dostupan softver ImageJ (ver.1.43q Wayne Rasband, National Institutes of Health, USA; <http://rsb.info.nih.gov/ij>). Upotrebom ovog softvera slike gelova su pretvorene u matrice podataka (48×458 za uzorke kore i 48×466 za uzorke jezgra krtola krompira) koje su transportovane u *Excel* u cilju dalje multivarijantne analize. Za potvrdu postojanja razlike između sorti i mogućnost korišćenja proteinskog profila kao parametra za razlikovanje genotipova krompira različite dužine vegetacije, urađena je analiza glavnih komponenata kako za uzorke jezgra tako i za uzorke kore krtola krompira u okviru softverskog paketa PLS ToolBox, v.6.2.1 MATLAB 7.12.0 (R2011a) (MathWorks INC, Natick, MA, USA). Varijable su predstavljene kao intenziteti razdvojenih zona (izražene u pikselima) za svaki uzorak ponaosob u funkciji rastojanja (R_F vrednosti). Radi nuliranja pomeranja zona ispitivanih uzoraka unutar jedne ili više ploča, primenjena je korekcija položaja

pikova u vidu procedure „savijanja” - korelacija optimizacije savijanja (COW - Correlation Optimized Warping). U cilju svođenja varijabli na jednaku težinu primenjena je metoda normiranja podataka (SNV) i srednje centriranje (Mean Center).

4. REZULTATI I DISKUSIJA

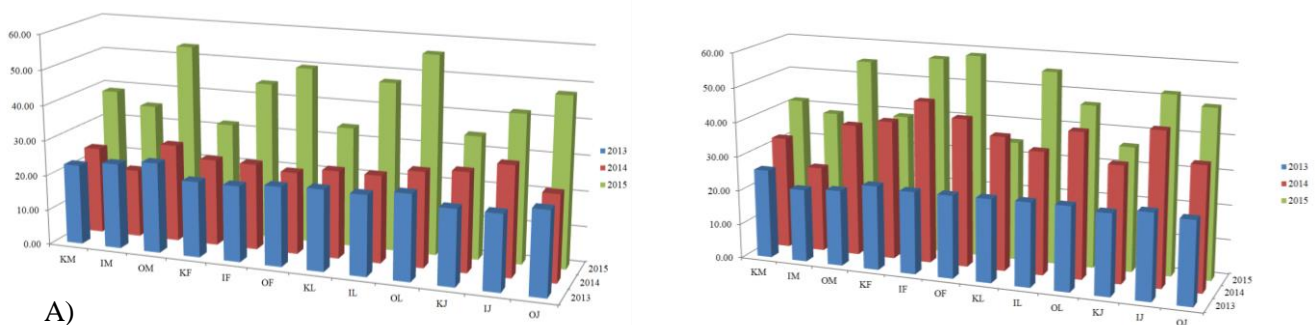
4.1. Fizičke (morfološke) karakteristike krtola krompira i određivanje sadržaja vode (vlage)

Precizna preporuka sortimenta za određeni region je u poslednjih nekoliko godina presudna u proizvodnji svih poljoprivrednih biljnih kultura. Konkretno kod uzgajanja krompira posebno se ističe važnost odabira optimalne veličine semenske krtole, kao i optimalne veličine vegetacionog prostora za određenu namenu gajenja (Gvozden 2016). Shodno tome, u okviru ove disertacije su određene morfološke karakteristike 144 uzorka krompira i to po 12 uzoraka četiri sorte/genotipa krompira iz tri sistema gajenja i tri uzastopne godine proizvodnje. Određena je prosečna masa svake krtole (PMK), njena prosečna dužina (PDK), obim krtole (OK) sa i bez kore i poluprečnik krtole (PK) (Tabele 4 i 5) i sadržaj vode u 144 uzorka kore i 144 uzorka jezgra krtola krompira (Slika 10, Tabela 6). Veličina, odnosno krupnoća krtola, je jako varijabilna i podložna jakim uticajima agroekoloških i agrotehničkih faktora - klimatski uslovi, genotip, fenofaze razvoja i tehnologija gajenja. Ierna and Parisi (2014) navode u svojim istraživanjima da je veoma značajan uticaj sistema gajenja i sorte na nadzemnu masu biljke. Što se tiče sistema gajenja, smatra se da krtole dobijene u konvencionalnom sistemu gajenja imaju dovoljno azota, usled primene pesticida i mineralnih đubriva, čime se produžava razvoj biljaka krompira i krtole postiču punu zrelost, te su stoga krupnije (Gvozden 2016), što je potvrđeno i u okviru ove disertacije (Tabele 4 i 5). Nakon toga slede krtole proizvedene u integralnom sistemu gajenja, dok je prosečna masa krtola i veličina krtola najmanja kod uzoraka krompira iz organskog sistema gajenja. Finckh, Schulte-Geldermann i Bruns (2006) navode da se relativno veliko variranje u veličini krtola i prinosu između organske i konvencionalne proizvodnje krompira može pripisati neadekvatnoj zaštiti od bolesti i štetočina, naročito od plamenjače krompira (*Phytophthora infestans*). Režim ishrane biljaka (nedostatak đubrenja), takođe značajno doprinosi nižim prinosima i sitnijim krtolama u organskom sistemu proizvodnje (Van Delden 2001). Što se tiče zavisnosti sadržaja vode u uzorcima od sistema gajenja, rezultati dobijeni u okviru ove disertacije ukazuju na to da uzorci krompira proizvedeni u trogodišnjem periodu u konvencionalnom sistemu gajenja imaju najniži prosečni sadržaj vode kako u kori tako i u jezgru (27,49% i 32,88%, redom), zatim slede uzorci iz integralnog sistema gajenja (kora – 29,87%, jezgro – 37,36%), dok je najveći sadržaj vode određen u uzorcima iz organskog sistema gajenja (kora – 33,78%, jezgro – 38,51%) (Slika 10, Tabela 6). Ovo se može objasniti činjenicom da, kao što je gore navedeno, krtole iz konvencionalnog sistema su krupnije, i samim tim imaju veći sadržaj skroba, a skrob čini najveći deo suve mase krtole (Poglavlje 4.6), te stoga ti uzorci imaju manji udeo vode kako u kori tako i u jezgru krtola (27,49% i 32,88%, redom). S druge strane, uzorci iz integralnog sistema gajenja imaju nešto niži sadržaj skroba pa samim tim viši sadržaj vode (kora – 29,87%, jezgro - 37,36%), dok uzorci iz organskog sistema gajenja imaju najniži sadržaj skroba (Poglavlje 4.6), samim tim najniži udeo suve supstance ali najveći udeo vode (kora – 33,78%, jezgro - 38,51%) (Slika 10, Tabela 6).

Kada je u pitanju sortiment krompira, sorte koje imaju najveću prosečnu težinu krtola i/ili najduži vegetacioni period su krupnije krtole i veći im je ukupan prinos. Međutim, ovo često ne mora biti potvrđeno u praksi, jer rane i srednje rane sorte koje se odlikuju ranom tuberizacijom i brzim nalivanjem krtola u uslovima sušnih leta najčešće daju krupnije krtole i veće prinose od rodnih srednje kasnih i kasnih sorti (Poštić 2013) čime se mogu objasniti rezultati u okviru ove disertacije koji ukazuju na to da su sorte Marabel, Red Fantasy i Laura, iako rane i srednje rane sorte, krupnije i imaju veće vrednosti morfoloških parametara u poređenju sa kasnom sortom Jelly (Tabele 4 i 5). Sadržaj vode u različitim sortama u trogodišnjem proseku varira (Slika 10, Tabela 6) i takođe se može dovesti u vezu sa sadržajem suve supstance, odnosno skroba u određenoj sorti. Naime, najmanji sadržaj skroba je određen kod sorte Laura (Poglavlje 4.6) što je u skladu sa činjenicom da je kod te sorte određen najveći sadržaj vode kako u kori tako i u jezgru (31,54% i 36,19% redom), u

poređenju sa sortama Jelly (kora – 30,43% i jezgro – 35,81%), Marabel (kora – 30,22% i jezgro 33,31%) i Red Fantasy (kora – 29,32% i jezgro – 30,70%) (Slika 10, Tabela 6).

Veličina, odnosno krupnoća krtola kao i sadržaj vode u krtolama su usko vezani i za klimatske uslove u periodu razvoja krtola krompira u 2013., 2014. i 2015. godini proizvodnje. Posmatrano po godinama izvođenja ogleda, najveće prosečne vrednosti mase krtola, zatim vrednosti njihove prosečne dužine, obime krtola sa i bez kore i poluprečnike krtola utvrđene su kod sorti krompira iz 2013. godine proizvodnje, zatim iz 2014. godine, dok su najmanje vrednosti PMK, PDK, OK i PK ustanovljene kod sorti iz 2015. godine (Tabele 4 i 5). To se može objasniti činjenicom da je u 2013. godini očuvana nadzemna masa biljke do kraja vegetacionog perioda, jer agroekološki uslovi nisu odgovarali pojavi plamenjače (*Phytophthora infestans*). Dalje, 2013. godina se odlikuje srednjim mesečnim temperaturama iznad 23 °C. Visoke temperature vazduha su s jedne strane negativno uticale na vrednost neto asimilacije (Thompson et al. 2008), međutim s druge strane su stvoreni idealni uslovi koji nisu odgovarali razvoju patogena čime se ujedno može objasniti činjenica da je sadržaj suve supstance najviši u uzorcima iz 2013. godine, odnosno da je sadržaj vode koji je određen u uzorcima kore i jezgra krtola iz te godine (22,82% i 23,80% redom) niži u poređenju sa prosečnim trogodišnjim sadržajem vode u uzorcima kore i jezgra iz 2014. (kora – 25,28% i jezgro 37,99%) i 2015. godine proizvodnje (kora – 43,03% i jezgro 46,96%) (Slika 10, Tabela 6). U poređenju sa 2013. godinom, u 2014. godini zabeležene su niže mesečne temperature vazduha, pa se može konstatovati da su u ovoj godini bili znatno povoljniji uslovi u pogledu temperatura vazduha kada se krompir nalazio u fazi intenzivnog nalivanja krtola koja ima ključnu ulogu u formiranju prinosa. Takođe, raspored padavina u toku 2014. godine bio je izuzetno povoljan tako da je zadovoljio potrebe useva krompira u toku vegetacionog perioda, dok je ukupna količina padavina za vegetacioni period 2015. godine izuzetno visoka. Ovo je takođe u skladu sa činjenicom da je u uzorcima svih sorti krompira, kako u jezgru tako i u kori krtola, najveći sadržaj vode određen u uzorcima iz 2015. godine proizvodnje (Slika 10, Tabela 6). Ovaj izrazito kišni period direktno je uslovio i pojavu simptoma „crne noge” krompira kada se usev krompira u periodu 2015. godine nalazio u fazi početka vegetativnog razvoja neposredno nakon nicanja, što je rezultiralo smanjenjem vrednosti parametara PMK, PDK, OK i PK (Tabele 4 i 5), a povećanjem sadržaja vode u uzorcima (Slika 10, Tabela 6).



Slika 10. Sadržaj vode u uzorcima kore (A) i jezgra (B) četiri sorte krompira proizvedene u trogodišnjem periodu u tri sistema gajenja. K, I, O - način proizvodnje (sistem gajenja) (K - konvencionalni, I - integralni, O - organski); M, F, L, J – sorta krompira (M - Marabel, F - Red Fantasy, L - Laura, J - Jelly).

Tabela 4. Prosečne srednje vrednosti morfoloških karakteristika krtola četiri sorte/genotipa krompira iz tri godine proizvodnje i tri načina proizvodnje. PMK - prosečna masa krtola (g); PDK - prosečna dužina krtole (cm); OK - obim krtole (cm); PK - prečnik krtole (cm); K, I, O - način proizvodnje (K - konvencionalni, I - integralni, O - organski), M, F, L, J – sorta krompira (M - Marabel, F - Red Fantasy, L - Laura, J - Jelly).

Način proizvodnje/Sorta	2013		OK sa korom (cm)		OK bez kore (cm)		PK bez kore (cm)		2014		OK sa korom (cm)		OK bez kore (cm)		PK bez kore (cm)		2015		OK sa korom (cm)		OK bez kore (cm)		PK bez kore (cm)	
	PMK	PDK	okolo	uzduž	okolo	uzduž	manji	veći	PMK	PDK	okolo	uzduž	okolo	uzduž	manji	veći	PMK	PDK	okolo	uzduž	okolo	uzduž	manji	veći
K	223,77	10,99	19,55	25,69	18,80	24,50	5,74	9,00	152,69	8,89	17,36	24,26	16,63	22,54	4,89	8,48	126,51	10,51	16,25	21,61	15,64	19,93	5,12	8,14
I Marabel	201,08	10,78	18,73	24,40	17,91	23,49	4,88	8,86	128,03	8,26	17,08	21,98	15,80	20,81	5,04	7,71	114,83	8,17	15,78	20,83	14,78	18,62	4,81	6,98
O	186,30	9,90	18,30	23,45	17,50	22,56	5,65	8,36	119,96	8,10	16,54	21,53	15,75	20,15	5,35	7,64	94,44	7,64	14,26	19,01	13,33	17,92	3,53	6,64
K	217,47	10,76	19,53	25,20	18,63	23,88	5,88	8,83	138,18	8,34	17,44	22,05	16,64	21,03	5,45	7,80	122,00	8,81	16,81	20,44	15,86	19,32	5,15	6,60
I Red Fantasy	205,40	10,59	19,01	24,34	18,16	23,48	5,94	8,90	129,22	8,29	16,81	21,76	16,05	20,63	5,58	7,79	105,85	10,56	16,05	20,50	15,19	19,31	5,20	7,50
O	183,10	10,13	18,76	23,23	17,88	22,29	5,80	8,23	116,24	7,66	16,53	20,77	15,73	19,78	4,51	7,33	91,32	8,44	14,89	19,46	14,06	18,19	4,09	6,98
K	189,80	22,75	18,25	24,33	17,46	23,48	5,66	9,00	143,17	7,83	18,06	21,79	17,09	20,44	5,55	7,65	122,75	8,83	16,68	20,88	15,83	19,88	5,04	7,57
I Laura	187,66	10,09	17,75	24,56	17,00	23,51	5,43	9,04	126,01	7,65	17,14	21,04	16,00	19,99	5,01	7,38	100,80	11,26	15,40	20,23	14,67	19,01	5,19	7,30
O	153,63	9,40	17,39	22,10	16,76	21,39	5,48	8,10	118,49	8,08	16,75	20,91	15,80	19,69	5,13	7,55	71,27	7,30	13,79	17,22	12,83	16,08	4,31	5,98
K	174,44	9,73	17,96	23,20	17,31	22,34	5,89	7,98	135,46	9,28	16,84	22,58	15,63	21,21	5,19	8,38	120,77	11,22	17,03	21,01	15,93	20,21	5,59	7,68
I Jelly	160,12	9,94	17,41	22,66	16,59	21,80	5,20	8,28	135,18	8,04	17,13	21,50	16,36	20,31	5,49	7,80	117,04	7,96	15,61	19,99	15,41	18,92	5,13	7,06
O	157,91	9,46	17,14	22,56	16,41	21,80	5,26	8,24	121,64	8,60	16,85	22,58	15,96	21,58	5,26	8,21	99,83	7,78	15,04	18,86	14,09	17,74	4,64	6,71

Tabela 5. Parametri deskriptivne statistike prosečne mase krtole (g) - PMK; prosečne duzine krtole (cm) - PDK; obima krtole (cm) - OK; prečnika krtole (cm) - PK; K, I, O - način proizvodnje (K - konvencionalni, I - integralni, O - organski), M, F, L, J – sorta krompira (M - Marabel, F - Red Fantasy, L - Laura, J - Jelly)

Način proizvodnje/Sorta	2013		OK sa korom (cm)		OK bez kore (cm)		PK bez kore (cm)		2014		OK sa korom (cm)		OK bez kore (cm)		PK bez kore (cm)		2015		OK sa korom (cm)		OK bez kore (cm)		PK bez kore (cm)		
	PMK	PDK	okolo	uzduž	okolo	uzduž	manji	veći	PMK	PDK	okolo	uzduž	okolo	uzduž	manji	veći	PMK	PDK	okolo	uzduž	okolo	uzduž	manji	veći	
KM	srednja v	223,77	10,99	19,55	25,69	18,80	24,50	5,74	9,00	152,69	8,89	17,36	24,26	16,63	22,54	4,89	8,48	126,51	10,51	16,25	21,61	15,64	19,93	5,12	8,14
	medijana	217,61	10,60	19,80	25,20	18,90	23,95	5,65	9,00	148,46	8,85	17,00	24,30	16,40	22,60	5,05	8,35	128,60	10,55	16,10	22,10	15,45	20,50	5,00	8,00
	stdev	49,14	1,08	1,57	1,73	1,63	1,51	0,78	0,49	44,25	1,60	1,54	2,91	1,68	3,25	0,77	1,64	36,12	2,03	1,79	2,66	1,70	3,43	0,83	0,99
	min	164,54	9,70	17,20	23,80	16,60	22,90	4,50	8,40	96,23	6,30	15,80	19,50	14,70	18,20	3,20	6,10	61,20	7,80	13,00	16,00	12,00	14,80	4,10	6,20
	max	286,19	13,00	21,50	28,80	20,90	26,50	6,70	10,00	218,75	11,70	20,20	29,70	19,50	28,40	5,50	11,60	184,30	13,30	19,00	25,70	18,00	25,20	6,50	10,20
IM	srednja v	201,08	10,78	18,73	24,40	17,91	23,49	4,88	8,86	128,03	8,26	17,08	21,98	15,80	20,81	5,04	7,71	114,83	8,17	15,78	20,83	14,78	18,62	4,81	6,98
	medijana	184,43	10,45	18,60	23,70	17,75	22,75	5,00	8,75	132,26	8,00	16,80	21,80	15,70	20,35	5,05	7,70	109,50	8,50	16,20	20,70	15,20	18,45	5,00	6,70
	stdev	65,65	1,09	1,88	3,15	2,01	2,99	1,34	1,18	34,21	0,96	1,67	2,36	1,58	2,34	0,49	0,90	60,21	1,92	2,60	4,25	2,62	4,16	0,90	1,66
	min	134,07	9,50	16,40	21,20	15,40	20,80	2,30	7,70	82,65	7,00	14,30	18,70	13,50	17,50	4,30	6,40	44,40	4,50	12,30	14,20	11,20	12,50	3,70	4,40
	max	295,62	12,50	21,40	28,70	20,80	28,00	6,90	10,80	178,83	9,90	19,50	25,80	18,30	24,30	5,90	8,70	237,84	10,50	20,50	26,20	19,50	25,00	6,50	9,30
OM	srednja v	186,30	9,90	18,30	23,45	17,50	22,56	5,65	8,36	119,96	8,10	16,54	21,53	15,75	20,15	5,35	7,64	94,44	7,64	14,26	19,01	13,33	17,92	3,53	6,64
	medijana	175,06	9,75	18,45	23,05	17,60	22,20	5,75	8,25	114,94	8,00	16,95	21,20	15,70	19,90	5,40	7,70	87,12	7,80	14,60	18,45	13,65	17,45	3,55	6,60
	stdev	44,25	0,92	1,44	1,99	1,45	1,98	0,44	0,79	42,28	1,92	1,86	3,76	1,74	3,49	0,83	1,73	31,89	1,04	1,70	2,24	1,75	2,29	0,55	0,92
	min	136,60	8,60	16,60	21,00	15,70	20,30	5,00	7,40	50,93	5,90	13,00	16,90	12,30	15,70	3,70	5,50	52,65	5,80	11,30	15,50	10,50	14,00	2,60	4,90
	max	266,77	11,20	20,50	27,00	19,80	26,00	6,20	9,70	180,99	11,50	19,10	27,80	18,00	25,70	6,60	10,50	138,85	9,20	16,80	22,40	15,50	21,50	4,30	8,30
KF	srednja v	217,47	10,76	19,53	25,20	18,63	23,88	5,88	8,83	138,18	8,34	17,44	22,05	16,64	21,03	5,45	7,80	122,00	8,81	16,81	20,44	15,86	19,32	5,15	6,60
	medijana	214,23	10,75	19,85	25,90	18,75	23,85	6,00	8,75	140,31	8,35	16,95	22,90	16,15	21,85	5,30	8,10	112,81	9,00	16,90	20,60	16,00	19,60	5,20	7,10
	stdev	53,59	1,33	2,27	1,84	2,23	1,61	0,84	0,91	38,30	0,87	1,79	2,00	1,71	1,91	0,77	0,76	44,01	1,25	2,25	2,15	2,11	2,26	0,65	2,34
	min	142,82	9,40	16,40	22,40	15,50	21,60	4,60	7,90	91,33	6,90	15,70	18,20	15,00	17,00	4,50	6,30	66,23	7,00	13,50	17,40	12,80	16,30	3,90	0,10
	max	296,57	12,20	23,10	27,20	22,10	25,60	6,90	10,30	211,82	9,60	21,30	24,20	20,10	23,00	7,00	8,50	215,86	10,70	21,40	23,80	20,50	22,80	6,50	8,90
IF	srednja v	205,40	10,59	19,01	24,34	18,16	23,48	5,94	8,90	129,22	8,29	16,81	21,76	16,05	20,63	5,58	7,79	105,85	10,56	16,05	20,50	15,19	19,31	5,20	7,50
	medijana	200,29	10,60	19,20	24,60	18,30	23,85	5,90	9,00	128,92	8,60	16,60	22,00	15,85	21,05	4,85	7,95	106,88	11,10	16,55	20,95	15,90	19,60	5,15	7,40
	stdev	56,47	1,49	1,44	2,88	1,51	2,79	0,53	1,28	31,71	1,21	1,68	2,36	1,64	2,36	1,90	1,11	41,28	1,91	1,79	3,20	1,77	2,99	0,61	1,34
	min	136,24	8,90	17,10	21,10	16,20	20,30	5,40	7,40	72,20	6,00	14,80	17,00	14,10	15,70	4,20	5,50	45,90	8,00	13,00	15,00	12,00	14,00	4,00	5,20
	max	285,67	13,20	21,60	28,70	21,00	27,50	7,00	10,90	173,56	9,60	19,90	24,60	19,00	23,50	9,90	9,10	157,95	13,00	19,10	25,00	18,00	23,10	6,20	9,50
OF	srednja v	183,10	10,13	18,76	23,23	17,88	22,29	5,80	8,23	116,24	7,66	16,53	20,77	15,73	19,78	4,51	7,33	91,32	8,44	14,89	19,46	14,06	18,19	4,09	6,98
	medijana	176,85	10,20	18,60	23,00	17,80	22,30	5,95	8,55	116,61	7,60	16,85	20,50	16,10	19,65	4,35	7,10	98,61	8,55	14,95	19,65	14,25	18,40	4,10	7,25
	stdev	43,48	0,78	1,62	2,17	1,68	2,15	0,76	0,95	30,81	1,06	1,26	2,15	1,24	2,21	0,63	1,04	36,58	2,05	2,07	2,94	2,13	2,93	0,61	1,26
	min	115,19	8,90	16,40	20,00	15,40	19,00	4,50	6,90	79,35	6,50	14,60	18,25	13,60	17,30	3,80	6,20	42,76	5,60	11,90	14,70	11,10	13,50	3,10	4,90
	max	258,67	11,30	20,80	26,80	19,80	25,60	6,90	9,20	158,58	9,50	17,80	24,80	17,00	23,90	5,50	9,50	175,33	12,30	18,50	24,40	18,00	23,60	5,10	9,00

Tabela 5. Nastavak

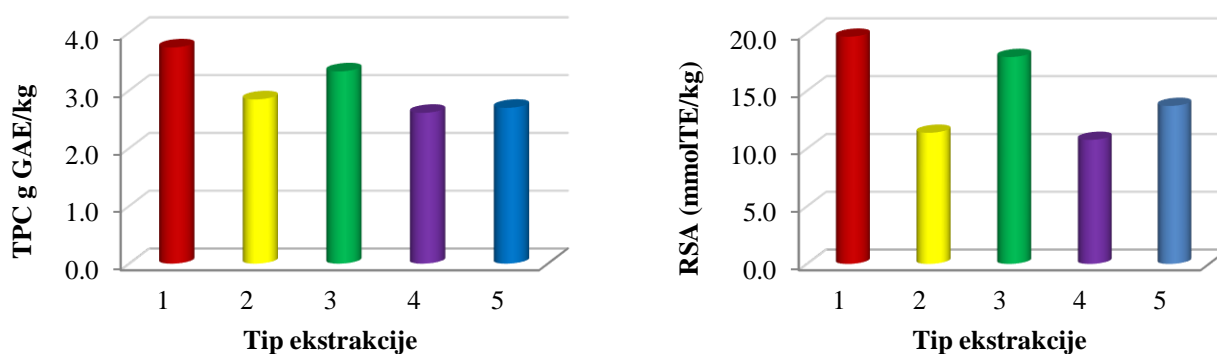
Način proizvodnje/Sorta	2013		OK sa korom (cm)		OK bez kore (cm)		PK bez kore (cm)		2014		OK sa korom (cm)		OK bez kore (cm)		PK bez kore (cm)		2015		OK sa korom (cm)		OK bez kore (cm)		PK bez kore (cm)		
	PMK	PDK	okolo	uzduž	okolo	uzduž	Manji	veći	PMK	PDK	okolo	uzduž	okolo	uzduž	manji	veći	PMK	PDK	okolo	uzduž	okolo	uzduž	manji	veći	
KL	srednja v	189,80	22,75	18,25	24,33	17,46	23,48	5,66	9,00	143,17	7,83	18,06	21,79	17,09	20,44	5,55	7,65	122,75	8,83	16,68	20,88	15,83	19,88	5,04	7,57
	medijana	191,84	10,45	17,95	24,45	17,30	23,60	5,60	9,20	136,27	7,65	18,05	21,70	17,10	20,00	5,50	7,50	129,04	8,85	16,65	20,65	15,75	19,80	5,00	7,40
	stdev	34,27	34,87	1,48	2,03	1,30	1,98	0,48	0,88	22,25	0,86	0,77	1,92	0,78	1,70	0,30	0,85	17,75	0,92	0,97	1,32	0,90	1,34	0,33	0,71
	min	138,89	8,00	16,60	20,00	15,70	19,20	5,00	7,00	117,52	7,00	16,90	19,40	15,90	18,70	5,20	6,70	99,21	7,00	15,10	18,90	14,50	17,80	4,40	6,30
	max	253,04	109,00	21,10	26,90	20,00	26,00	6,70	9,90	188,30	9,30	19,40	24,60	18,40	23,20	6,00	9,00	152,21	10,50	18,50	24,00	17,50	22,90	5,60	9,00
IL	srednja v	187,66	10,09	17,75	24,56	17,00	23,51	5,43	9,04	126,01	7,65	17,14	21,04	16,00	19,99	5,01	7,38	100,80	11,26	15,40	20,23	14,67	19,01	5,19	7,30
	medijana	189,68	10,40	17,60	24,85	16,80	23,55	5,40	8,90	125,09	7,75	17,60	21,25	16,45	20,25	5,05	7,50	91,20	10,55	15,75	20,00	14,25	18,35	5,05	7,65
	stdev	47,72	1,22	1,53	2,49	1,48	2,50	0,52	1,23	15,23	0,79	1,07	1,39	1,12	1,44	0,43	0,83	41,25	3,26	1,85	3,16	1,86	3,21	0,71	1,76
	min	130,00	7,80	15,40	20,20	15,10	19,30	4,70	6,90	104,44	6,30	15,70	18,40	14,40	17,20	4,40	5,80	54,54	8,00	13,00	15,00	12,00	14,10	4,00	4,00
	max	256,00	11,60	19,80	27,60	19,10	26,40	6,30	10,90	151,40	8,90	18,60	22,80	17,70	21,80	5,60	8,60	172,66	22,20	18,00	24,90	17,80	24,00	6,30	9,40
OL	srednja v	153,63	9,40	17,39	22,10	16,76	21,39	5,48	8,10	118,49	8,08	16,75	20,91	15,80	19,69	5,13	7,55	71,27	7,30	13,79	17,22	12,83	16,08	4,31	5,98
	medijana	147,30	9,15	17,40	21,45	16,80	20,70	5,45	7,85	119,12	8,25	16,40	21,50	15,55	20,05	5,35	7,70	64,86	7,10	13,80	17,30	12,85	16,15	4,30	6,15
	stdev	32,66	0,75	1,17	1,74	1,13	1,75	0,48	0,71	18,61	0,83	1,22	1,44	1,21	1,38	0,68	0,72	25,34	1,30	1,20	2,48	1,30	2,39	0,65	1,05
	min	117,93	8,50	15,90	20,40	15,40	19,70	4,90	7,30	90,25	6,40	14,90	18,70	13,90	17,50	4,20	6,30	39,69	5,50	11,70	14,00	10,80	13,00	3,40	4,50
	max	222,91	10,50	19,60	25,60	18,80	25,00	6,40	9,20	146,33	9,00	18,50	22,30	17,50	21,20	6,00	8,30	125,43	9,30	15,80	21,70	15,00	20,30	5,70	7,90
KJ	srednja v	174,44	9,73	17,96	23,20	17,31	22,34	5,89	7,98	135,46	9,28	16,84	22,58	15,63	21,21	5,19	8,38	120,77	11,22	17,03	21,01	15,93	20,21	5,59	7,68
	medijana	167,38	9,75	17,90	23,00	17,30	22,30	5,60	7,85	127,07	9,45	16,65	22,60	15,35	21,10	5,20	8,45	121,48	11,50	17,60	21,25	16,50	20,95	5,50	8,00
	stdev	26,19	1,01	1,02	1,28	1,02	1,24	1,25	1,27	25,26	1,24	1,34	1,74	1,36	1,67	0,43	1,05	43,31	1,55	2,58	3,26	2,31	3,19	0,74	1,45
	min	140,88	8,00	16,50	21,90	15,80	20,90	4,80	5,50	113,93	7,10	14,90	19,60	13,60	18,90	4,50	6,60	49,17	7,80	12,00	15,90	11,00	14,90	4,00	5,00
	max	225,16	11,00	19,90	25,00	19,20	24,00	8,80	9,80	178,66	10,60	19,20	24,60	18,00	23,70	5,90	9,60	190,09	14,00	22,10	26,00	18,70	25,20	6,90	10,00
IJ	srednja v	160,12	9,94	17,41	22,66	16,59	21,80	5,20	8,28	135,18	8,04	17,13	21,50	16,36	20,31	5,49	7,80	117,04	7,96	15,61	19,99	15,41	18,92	5,13	7,06
	medijana	157,04	9,85	17,45	22,45	16,75	21,55	5,30	8,25	135,37	7,90	16,65	21,20	16,05	20,00	5,35	7,60	114,87	8,00	16,70	20,00	15,80	18,90	5,30	7,05
	stdev	17,78	0,79	0,82	1,67	0,79	1,54	0,33	0,92	32,04	1,08	1,38	2,04	1,47	1,88	0,41	1,06	37,49	1,33	3,84	2,69	2,23	2,74	0,85	1,29
	min	136,49	8,80	16,20	20,60	15,40	19,60	4,70	6,90	91,23	6,50	15,60	18,60	14,80	17,40	4,90	6,40	45,05	5,20	6,00	14,00	11,30	13,00	3,70	4,10
	max	187,46	11,10	18,80	25,50	17,90	24,60	5,70	9,90	196,89	9,50	19,60	24,20	18,90	22,90	6,10	9,20	178,22	9,80	19,90	23,00	18,70	22,00	6,20	9,20
OJ	srednja v	157,91	9,46	17,14	22,56	16,41	21,80	5,26	8,24	121,64	8,60	16,85	22,58	15,96	21,58	5,26	8,21	99,83	7,78	15,04	18,86	14,09	17,74	4,64	6,71
	medijana	163,73	9,05	17,80	22,20	17,05	21,40	5,50	8,05	134,03	9,00	17,05	22,95	16,10	22,25	5,30	8,30	107,38	8,25	14,85	20,35	13,85	19,05	4,60	7,40
	stdev	34,26	1,07	1,33	2,03	1,23	1,96	0,49	0,78	50,07	1,05	1,38	1,78	1,47	1,97	0,57	0,90	42,27	1,71	1,87	3,41	1,83	3,40	0,76	1,48
	min	103,30	8,00	14,60	20,00	14,10	19,20	4,30	7,30	14,88	6,50	14,50	18,70	13,30	17,30	4,20	6,40	42,33	5,00	12,20	13,20	11,20	12,10	3,60	4,00
	max	208,80	11,00	18,30	26,00	17,50	25,00	5,70	9,70	169,00	9,70	19,10	24,30	18,20	23,60	5,90	9,30	157,03	10,00	18,10	23,00	16,90	22,00	6,00	8,70

Tabela 6. Parametri deskriptivne statistike za sadržaj vode (%) u uzorcima kore i jezgra četiri sorte krompira iz tri sistema gajenja u trogodišnjem periodu (2013-2015); K, I, O - način proizvodnje (K - konvencionalni, I - integralni, O - organski sistem gajenja); M, F, L, J – sorta krompira (M - Marabel, F - Red Fantasy, L - Laura, J - Jelly)

Način proizvodnje/Sorta	2013		2014		2015		Način proizvodnje/Sorta	2013		2014		2015			
	kora	jezgro	kora	jezgro	kora	jezgro		kora	jezgro	kora	jezgro	kora	jezgro		
KM	srednja v	22,76	25,87	24,64	32,66	38,84	41,62	KL	srednja v	22,94	24,02	24,78	38,77	33,97	34,50
	medijana	22,99	25,65	24,68	31,99	37,22	41,51		medijana	22,26	24,11	24,82	39,65	33,77	33,88
	stdev	1,84	7,52	2,20	4,83	5,34	3,69		stdev	1,89	1,25	1,53	2,95	1,24	2,65
	min	20,32	17,37	21,97	27,71	34,32	38,36		min	21,54	22,41	23,30	34,51	32,69	32,22
	max	24,74	34,82	27,22	38,95	46,58	45,07		max	25,70	25,42	26,19	41,28	35,64	38,02
IM	srednja v	24,23	21,17	19,30	24,81	35,35	38,54	IL	srednja v	22,65	24,19	24,66	35,50	47,59	55,58
	medijana	23,77	20,96	24,45	30,02	33,27	37,23		medijana	22,54	24,35	25,02	35,31	46,72	52,14
	stdev	1,18	2,13	10,49	13,51	5,72	5,19		stdev	0,85	1,05	4,52	2,18	3,78	7,74
	min	23,39	18,99	3,56	5,10	31,08	34,03		min	21,80	22,77	19,12	33,41	44,06	50,91
	max	25,98	23,78	24,72	34,10	43,79	45,67		max	23,74	25,29	29,50	37,97	52,87	67,11
OM	srednja v	25,62	21,97	27,68	38,34	53,57	54,77	OL	srednja v	24,14	24,26	26,90	41,97	56,20	46,93
	medijana	26,41	22,20	27,85	36,75	53,43	54,60		medijana	24,06	24,05	26,25	41,90	56,10	47,09
	stdev	2,44	1,42	2,86	9,69	1,12	4,89		stdev	1,13	0,88	2,44	3,95	1,88	1,82
	min	22,06	20,30	24,43	28,71	52,40	49,01		min	22,85	23,44	24,75	37,77	54,31	44,56
	max	27,60	23,19	30,58	51,14	55,01	60,89		max	25,60	25,50	30,36	46,29	58,31	49,00
KF	srednja v	21,48	24,40	24,53	40,31	31,88	39,34	KJ	srednja v	21,33	23,41	27,95	33,66	34,74	36,03
	medijana	21,56	24,31	22,09	40,03	33,98	40,81		medijana	20,83	23,30	27,88	32,81	34,95	36,01
	stdev	0,76	2,01	6,50	5,50	5,99	5,96		stdev	1,26	1,48	0,77	3,13	1,68	1,79
	min	20,54	22,61	19,84	34,04	23,20	30,97		min	20,48	21,77	27,17	30,89	32,62	33,88
	max	22,25	26,36	34,10	47,15	36,35	44,76		max	23,17	25,28	28,88	38,11	36,43	38,24
IF	srednja v	21,44	23,81	24,42	46,96	44,59	57,08	IJ	srednja v	21,27	24,77	30,95	44,24	41,94	51,68
	medijana	20,26	23,66	23,64	46,07	44,47	56,14		medijana	21,24	24,84	29,01	35,95	42,49	52,70
	stdev	2,74	0,73	2,26	7,25	4,22	3,61		stdev	2,81	1,34	6,21	19,48	1,44	5,03
	min	19,72	23,09	22,66	40,21	39,55	54,19		min	17,88	23,22	25,81	31,77	39,82	44,67
	max	25,52	24,84	27,74	55,49	49,88	61,84		max	24,72	26,19	39,98	73,26	42,97	56,63
OF	srednja v	22,46	23,86	23,18	42,88	49,87	58,63	OJ	srednja v	23,54	23,90	24,37	35,73	47,82	48,85
	medijana	20,82	23,99	22,76	42,50	50,35	60,64		medijana	23,98	23,70	24,96	36,20	47,68	50,21
	stdev	3,48	0,95	2,60	4,62	4,19	11,55		stdev	2,69	0,92	2,15	4,12	4,27	3,92
	min	20,53	22,77	20,55	37,75	44,31	42,96		min	20,36	23,06	21,30	30,27	42,84	43,16
	max	27,67	24,71	26,64	48,79	54,47	70,28		max	25,83	25,13	26,26	40,26	53,10	51,81

4.2. Određivanje ukupnog sadržaja polifenola i antioksidativnog kapaciteta krtola krompira u cilju optimizacije postupka ekstrakcije

U cilju razvoja optimalne procedure za izolovanja frakcije antioksidanasa iz krtola krompira primenjeno je pet različitih postupaka ekstrakcije. Za optimizaciju su odabrana 24 uzorka krompira i to po 6 uzoraka svake sorte, odnosno po dva uzorka svake sorte iz svakog od tri sistema gajenja iz 2015. godine proizvodnje. U pomenutim uzorcima je za svaki tip ekstrakcije određen ukupan sadržaj polifenola (TPC) i antioksidativni kapacitet (RSA). Dobijeni rezultati su prikazani u Tabeli 7. Kako bi bilo utvrđeno da li postoji statistički značajna razlika između tipova ekstrakcija na osnovu sadržaja ukupnih polifenola i antioksidativnog kapaciteta, urađeni su neparametrijski testovi - Fridmanov test i Viloksonov test ranga sa ciljem da se odabere najbolji metod ekstrahovanja polifenolnih jedinjenja. Rezultati testova prikazani su u Tabeli 8. Na osnovu dobijenih rezultata neparametrijskih testova utvrđeno je da se ekstrakcije 1 i 3 na osnovu sadržaja ukupnih polifenola međusobno statistički značajno razlikuju, kao i da postoji statistički značajna razlika ovih ekstrakcija u poređenju sa ekstrakcijama 2, 4 i 5 (Tabela 8). Takođe, između ekstrakcija 2 i 4 postoji statistički značajna razlika, dok se ekstrakcija 5 ne razlikuje od prethodne dve ekstrakcije. Rezultati ovih testova dobijeni na osnovu vrednosti antioksidativnog kapaciteta ukazuju da se ekstrakcije 1, 3 i 5 razlikuju u odnosu na ekstrakcije 2 i 4, ali da između ekstrakcija 1 i 3, kao i 2 i 4 međusobno ne postoji statistički značajna razlika (Tabela 8). Radi lakšeg sagledavanja rezultata, vrednosti za TPC i RSA su prikazane i grafički (Slika 11).



Slika 11. Ukupan sadržaj polifenola (TPC) i antioksidativni kapacitet (RSA) u ekstraktima uzoraka krompira iz pet različitih postupaka ekstrakcije.

Kako je najveći sadržaj ukupnih polifenola i antioksidativni kapacitet određen u uzorcima koji su ekstrahovani 80% metanolom (ekstrakcija 1) i smešom aceton - voda (70:30, v/v) (ekstrakcija 3) (Tabela 7, Slika 11) i uzimajući u obzir dobijene rezultate Fridmanovog testa i Viloksonov testa ranga, koji ukazuju na postojanje statistički značajne razlike između ova dva tipa ekstrakcije u odnosu na preostale tri (Tabela 8), može se zaključiti da su se kao dva najbolja postupka za izolovanje polifenolnih jedinjenja pokazala upravo ova dva postupka ekstrakcije. Na taj način se proces optimizacije i izbor postupka ekstrakcije sa pet, sveo na dva. U cilju dalje optimizacije i odabira jednog potencijalno najboljeg postupka ekstrakcije urađena je kvantifikacija polifenola u uzorcima koji su ekstrahovani 80% metanolom i smešom aceton - voda (70:30, v/v) i određen je polifenolni profil uzoraka kore i jezgra krompira.

Tabela 7. Ukupan sadržaj polifenola (g GAE/kg) i antioksidativni kapacitet (mmol TE/kg) u ekstraktima uzoraka krompira iz pet različitih postupaka ekstrakcije. K, I, O - način proizvodnje (K - konvencionalni, I - integralni, O - organski), M, F, L, J – sorta krompira (M - Marabel, F - Red Fantasy, L - Laura, J - Jelly).

Rb. uzorka	Oznaka uzorka	Način proizvodnje/Sorta	TPC (g GAE/kg)					RSA (mmol TE/kg)				
			Tip ekstrakcije					Tip ekstrakcije				
			1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
1	1/15	KM	4,76	3,15	3,37	2,90	2,54	17,97	11,28	20,84	10,43	8,33
2	2/15	KM	4,14	2,86	3,57	2,74	2,13	11,70	10,64	19,76	10,00	10,37
3	5/15	IM	2,72	1,77	2,57	1,77	1,56	8,93	6,80	13,69	8,67	6,63
4	6/15	IM	2,77	1,72	2,82	2,21	1,51	18,63	6,88	15,25	10,09	7,86
5	9/15	OM	3,43	2,46	3,55	2,50	1,81	23,97	9,32	17,95	10,84	9,94
6	10/15	OM	2,76	3,21	3,64	2,09	1,68	19,18	4,93	13,45	9,90	8,32
7	13/15	KF	4,41	3,55	4,69	3,02	3,23	27,51	15,09	24,01	11,99	15,26
8	14/15	KF	4,60	3,35	4,54	3,09	3,73	26,81	14,15	24,27	12,66	19,18
9	17/15	IF	3,88	2,61	4,53	2,77	2,88	28,87	10,49	20,19	11,09	13,07
10	18/15	IF	4,80	3,65	3,89	3,52	3,33	19,51	15,51	25,89	16,03	17,42
11	21/15	OF	4,89	3,00	4,28	2,92	3,63	24,78	12,23	25,24	12,38	19,48
12	22/15	OF	5,21	3,99	4,56	2,73	4,93	28,86	15,32	26,42	14,06	14,67
13	25/15	KL	4,33	3,15	2,95	3,09	2,92	19,87	14,21	20,32	10,04	16,25
14	28/15	KL	4,63	3,50	3,18	3,28	4,17	23,69	16,57	30,65	13,77	22,21
15	31/15	IL	4,90	4,27	4,53	3,60	4,01	31,05	19,76	12,59	14,75	25,63
16	32/15	IL	4,69	3,56	3,43	3,25	3,76	18,19	17,09	16,15	14,32	20,91
17	33/15	OL	5,58	4,38	3,79	3,57	4,62	24,24	19,22	14,73	16,23	25,94
18	35/15	OL	5,04	4,45	3,79	3,34	4,40	26,97	20,10	28,40	14,55	24,65
19	37/15	KJ	1,88	1,44	1,27	1,64	1,37	8,01	4,74	10,38	6,90	8,23
20	38/15	KJ	2,06	1,61	1,68	1,63	1,56	10,35	5,40	11,17	5,57	9,11
21	42/15	IJ	1,82	1,44	2,09	1,28	1,23	12,42	5,52	9,76	6,56	6,75
22	43/15	IJ	1,92	1,60	1,88	1,48	1,39	9,69	5,59	10,35	6,76	7,73
23	46/15	OJ	2,87	2,20	2,70	2,02	1,55	15,04	8,29	11,95	7,16	7,27
24	47/15	OJ	1,73	1,33	2,53	2,21	0,77	15,90	3,65	6,63	3,34	3,36

Tabela 8. Fridmanov test i Vilkoksonov test ranga za sadržaj polifenola ekstrahovanih iz uzoraka krompira primenom pet postupaka ekstrakcija. Naglašene (boldirane) vrednosti ukazuju na postojanje statistički značajne razlike između ekstrakcija.

TPC				Vilkoksonov test ranga				Razlike
Tip ekstrakcije	Sr. vrednost	Stdev	Fridmanov test*	E1	E2	E3	E4	
E1	3,74	1,26	N: 24	/	4,129	2,329	4,171	E1 (E2, E3, E4, E5)
E2	2,84	1,01	χ^2 : 50,046	4,129	/	2,971	2,418	E2 (E1, E3, E4)
E3	3,33	0,98	df: 4	2,329	2,971	/	3,929	E3 (E1, E2, E4, E5)
E4	2,61	0,71	Stat.	4,171	2,418	3,929	/	E4 (E1, E2, E3)
E5	2,70	1,25	značajnost: $p < 0,001$	4,286	1,344	2,929	0,257	E5 (E1, E3)

RSA				Vilkoksonov test ranga				Razlike
Tip ekstrakcije	Sr. vrednost	Stdev	Fridmanov test*	E1	E2	E3	E4	
E1	19,67	7,05	N: 24	/	4,286	1,286	4,286	E1(E2, E4, E5)
E2	11,37	5,26	χ^2 : 58,100	4,286	/	3,800	1,029	E2 (E1, E3, E5)
E3	17,92	6,72	df: 4	1,286	3,800		4,171	E3 (E2, E4, E5)
E4	10,75	3,48	Stat.	4,286	1,029	4,171		E4 (E1, E3, E5)
E5	13,69	6,83	značajnost: $p < 0,001$	3,829	3,243	2,743	2,714	E5 (E1, E2, E3, E4)

*Vrednosti se statistički značajno razlikuju ako je χ^2 -vrednost $> 36,415$

4.3. Kvantitativna analiza fenolnih jedinjenja u uzorcima krompira

Kvantifikacija fenolnih jedinjenja u uzorcima krtola krompira je urađena primenom ultra-efikasne tečne hromatografije sa ultravioletnim detektorom sa više dioda i masenim detektorom sa tri analizatora – trostruki kvadrupol (UHPLC-DAD MS/MS). U 48 uzoraka ekstrakta krompira, po 24 uzorka za svaki tip ekstrakcije (ekstrakcije 1 i 3), kvantifikovano je jedanaest polifenolnih jedinjenja i to šest fenolnih kiselina (protokatehuinska kiselina – ProA, 5-*O*-kofeoilkininska kiselina – CQAs, *p*-hidroksibenzojeva kiselina – *p*-HbA, kofeinska kiselina – CA, *p*-kumarinska kiselina – *p*-CoA i ferulinska kiselina – FerA), četiri glikozida (rutin, kvercetin-3-*O*-glukozid, naringin i kvercetin-3-*O*-ramnozid) i flavonol kaemferol. Sadržaj kvantifikovanih fenolnih jedinjenja za ispitivane ekstrakte različitih sorti krompira iz različitih sistema gajenja prikazani su u Tabeli 9. Dobijeni rezultati za kvantifikovana fenolna jedinjenja u uzorcima krompira se ne razlikuju mnogo od prethodno objavljenih rezultata. Naime, utvrđeno je da krompir ima veliki broj sekundarnih metabolita, kao što su flavonoidi (uključujući jedinjenja kao što su flavonoli, kemferol, kvercetin, miricetin, itd.) i karotenoidi (Shakya and Navarre 2006; Friedman 1997). Takođe se navodi da su u krtolima krompira u relevantnim koncentracijama prisutna fenolna jedinjenja kao što su hlorogena kiselina, katehin, *p*-kumarinska kiselina, ferulinska kiselina, kofeinska i protokatehuinska kiselina (Leo et al. 2008) što je potvrđeno i u ovoj disertaciji. Krompir akumulira veliki broj sekundarnih metabolita kao zaštitu od štetnih efekata mehaničkih modrica, svetlosti i povreda predatora kao što su bakterije, gljive, virusi i insekti (del Mar Verde Méndez et al. 2004; Im et al. 2008).

Kako je kvantifikacija rađena sa ciljem optimizacije postupka ekstrakcije polifenolnih jedinjenja, odnosno utvrđivanja razlike između ekstrakcija 1 i 3 i odabira najboljeg načina ekstrahovanja, rezultati koji su dobijeni nakon UHPLC-DAD MS/MS analize obrađeni su u okviru softverskog paketa PLS ToolBok, v.6.2.1 MATLAB 7.12.0 (R2011a) (MathWorks INC, Natick, MA, USA). Radi dobijanja detaljnijeg uvida u strukturu podataka i identifikaciju sličnosti/različitosti i specifičnosti grupisanja objekata urađena je analiza glavnih komponenata (PCA) na osnovu sadržaja polifenolnih jedinjenja u uzorcima različitih ekstrakata krompira (Tabela 9). Svi podaci su autoskalirani pre multivarijantne analize.

Tabela 9. Sadržaj fenolnih jedinjenja (mg/kg) u uzorcima krompira ekstrahovanim 80% metanolom (ekstrakcija 1) i smešom aceton-voda (70:30, v/v) (ekstrakcija 3). K, I, O - način proizvodnje (K - konvencionalni, I - integralni, O - organski), M, F, L, J – sorta krompira (M - Marabel, F - Red Fantasy, L - Laura, J - Jelly), protokatehuinska kiselina – ProA, 5-*O*-aofeoilkininska kiseline – CQAs, *p*-hidroksibenzoeva kiselina – *p*-HbA, kofeinska kiselina – CA, *p*-kumarinska kiselina – *p*-CoA i ferulinska kiselina – FerA.

RB uzorka	Oznaka uzorka	Način proizvodnje/Sorta	Tip ekstrakcije	ProA	CQAs	<i>p</i> -HbA	CA	Rutin	<i>p</i> -CoA	Kvercetin-3- <i>O</i> -glukozid	FerA	Naringin	Kvercetin-3- <i>O</i> -ramnozid	Kaemferol
1	1/15	KM	Ekstrakcija 1 (80% metanol)	1,16	87,14	0,31	55,84	0,80	0,77	0,16	1,76	0,70	0,11	0,47
2	2/15	KM		1,42	93,20	0,33	62,46	0,25	0,81	0,23	1,26	0,35	0,13	0,48
3	5/15	IM		1,21	76,09	0,51	60,19	2,03	0,86	0,19	1,59	0,49	0,08	0,47
4	6/15	IM		1,09	73,89	0,34	51,82	3,64	0,91	0,16	2,18	0,83	0,10	0,45
5	9/15	OM		0,91	73,47	0,34	41,60	0,67	0,68	0,13	2,42	0,68	0,06	0,50
6	10/15	OM		0,95	72,38	0,27	43,22	0,33	0,79	0,15	2,29	0,37	0,07	0,51
7	13/15	KF		1,09	68,51	0,29	52,57	1,85	0,92	0,13	2,01	0,24	0,08	0,56
8	14/15	KF		0,89	85,58	0,17	71,17	0,39	0,89	0,14	2,56	0,48	0,04	0,61
9	17/15	IF		1,07	59,28	0,21	65,66	0,42	1,21	0,08	1,86	0,60	0,05	0,60
10	18/15	IF		1,38	76,39	0,14	73,86	0,23	0,77	0,14	1,29	0,69	0,06	0,64
11	21/15	OF		1,14	63,48	0,25	68,36	1,80	0,78	0,13	1,49	0,62	0,05	0,61
12	22/15	OF		1,21	83,15	0,22	74,08	3,26	0,70	0,11	1,41	0,78	0,03	0,60
13	25/15	KL		0,74	57,80	0,35	47,61	0,50	0,70	0,12	2,31	1,07	0,10	0,72
14	28/15	KL		0,87	72,92	0,33	49,79	2,34	0,90	0,13	1,87	0,65	0,20	0,72
15	31/15	IL		1,01	78,79	0,27	60,45	0,64	0,65	0,15	1,85	0,58	0,12	0,62
16	32/15	IL		0,89	76,79	0,36	48,38	0,46	0,65	0,12	1,82	0,65	0,09	0,65
17	33/15	OL		0,90	97,40	0,26	55,99	3,18	0,73	0,10	2,49	0,71	0,06	0,54
18	35/15	OL		0,87	81,29	0,26	51,19	1,58	0,56	0,11	1,53	0,91	0,08	0,58
19	37/15	KJ		1,09	83,60	0,65	45,39	0,55	0,55	0,12	2,02	0,65	0,08	0,55
20	38/15	KJ		1,32	80,87	0,56	56,07	0,99	0,64	0,08	2,13	0,23	0,08	0,41
21	42/15	IJ		1,02	108,75	0,29	50,79	4,49	0,83	0,15	2,85	0,54	0,05	0,51
22	43/15	IJ		1,14	88,40	0,48	57,17	1,81	0,62	0,12	1,83	0,36	0,09	0,39
23	46/15	OJ		0,67	33,46	0,34	42,34	0,18	0,26	0,10	2,71	0,31	0,07	0,39
24	47/15	OJ		0,92	31,17	0,32	47,06	0,28	0,46	0,08	3,14	0,40	0,10	0,45

Tabela 9. Nastavak.

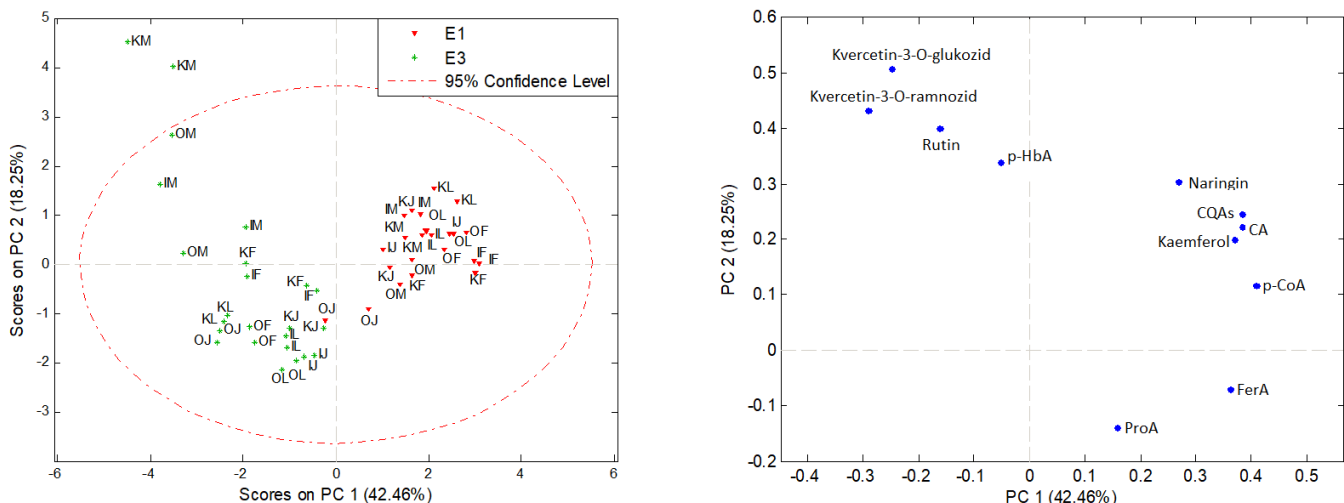
RB uzorka	Oznaka uzorka	Način proizvodnje/Sorta	Tip ekstrakcije	ProA	CQAs	p-HbA	CA	Rutin	p-CoA	Kvercetin-3-O-glukozid	FerA	Naringin	Kvercetin-3-O-ramnozid	Kaemferol
25	1/15	KM	Ekstrakcija 3 (smeša aceton-voda (70:30, v/v))	0,86	25,95	0,61	29,73	19,00	0,06	0,38	0,48	0,57	0,24	0,39
26	2/15	KM		0,81	23,76	0,47	35,30	6,59	0,08	0,75	0,37	0,44	0,51	0,38
27	5/15	IM		0,76	26,76	0,30	26,43	0,93	0,05	0,56	0,17	0,27	0,36	0,39
28	6/15	IM		1,12	34,39	0,21	28,30	2,01	0,07	0,37	0,19	0,58	0,23	0,49
29	9/15	OM		0,80	26,35	0,36	31,65	2,02	0,13	0,58	0,26	0,53	0,41	0,37
30	10/15	OM		0,57	34,85	0,29	19,80	4,94	0,21	0,31	0,13	0,09	0,19	0,37
31	13/15	KF		1,45	47,12	0,40	29,00	1,33	0,66	0,21	0,99	0,28	0,12	0,38
32	14/15	KF		0,79	25,32	0,26	30,81	7,78	0,07	0,14	0,42	0,51	0,09	0,41
33	17/15	IF		0,80	65,93	0,25	32,79	0,41	0,71	0,21	1,08	0,17	0,11	0,43
34	18/15	IF		0,67	23,64	0,39	38,49	7,07	0,16	0,10	0,40	0,29	0,05	0,38
35	21/15	OF		1,07	33,85	0,17	38,15	1,96	0,12	0,14	0,21	0,17	0,14	0,38
36	22/15	OF		0,75	30,01	0,26	33,49	1,16	0,26	0,07	0,20	0,12	0,08	0,38
37	25/15	KL		0,64	24,37	0,21	35,54	2,14	0,14	0,14	0,30	0,09	0,14	0,36
38	28/15	KL		0,61	27,69	0,12	30,50	4,07	0,18	0,14	0,13	0,24	0,13	0,37
39	31/15	IL		0,97	19,75	0,23	26,27	0,20	0,15	0,07	1,25	0,48	0,08	0,40
40	32/15	IL		0,83	28,93	0,29	27,17	0,13	0,26	0,07	1,56	0,37	0,10	0,37
41	33/15	OL		1,42	17,08	0,23	24,29	0,17	0,26	0,08	1,57	0,38	0,11	0,39
42	35/15	OL		1,30	15,03	0,22	21,66	0,15	0,08	0,06	1,42	0,41	0,09	0,39
43	37/15	KJ		1,28	24,49	0,32	27,69	0,22	0,11	0,13	1,22	0,44	0,09	0,42
44	38/15	KJ		0,94	32,88	0,18	31,84	0,18	0,08	0,09	2,14	0,61	0,10	0,44
45	42/15	IJ		1,70	17,93	0,26	28,49	0,20	0,31	0,12	1,73	0,32	0,11	0,43
46	43/15	IJ		1,64	16,33	0,25	24,57	0,18	0,38	0,12	1,84	0,33	0,12	0,38
47	46/15	OJ		0,56	2,06	0,44	12,94	0,18	0,13	0,11	0,67	0,25	0,07	0,41
48	47/15	OJ		0,83	1,29	0,39	7,55	0,22	0,19	0,12	0,50	0,31	0,08	0,37

Analiza glavnih komponenta na osnovu sadržaja polifenolnih jedinjenja u 48 različitih uzoraka krompira rezultirala je četvorokomponentnim modelom koji objašnjava 79,42% ukupne varijabilnosti među podacima. Statistički parametri (broj glavnih komponenta i procenat varijanse koje oni objašnjavaju) su prikazani u Tabeli 10.

Tabela 10. Broj glavnih komponenta i procenat varijanse koje oni objašnjavaju.

Broj glavnih komponenta	Vrednosti matrice kovarijanse (X)	% Varijanse	Ukupan % varijanse
1	4.67e+000	42.46	42.46
2	2.01e+000	18.25	60.71
3	1.05e+000	9.57	70.28
4	1.01e+000	9.14	79.42

Rezultati dobijeni analizom prve dve glavne komponente na osnovu kvantifikovanih polifenola u uzorcima krompira nakon ekstrakcije 1 i 3 (Tabela 9) prikazani su na graficima skorova i varijabli (Slika 12) i objašnjavaju 60,71% varijabilnosti među podacima.



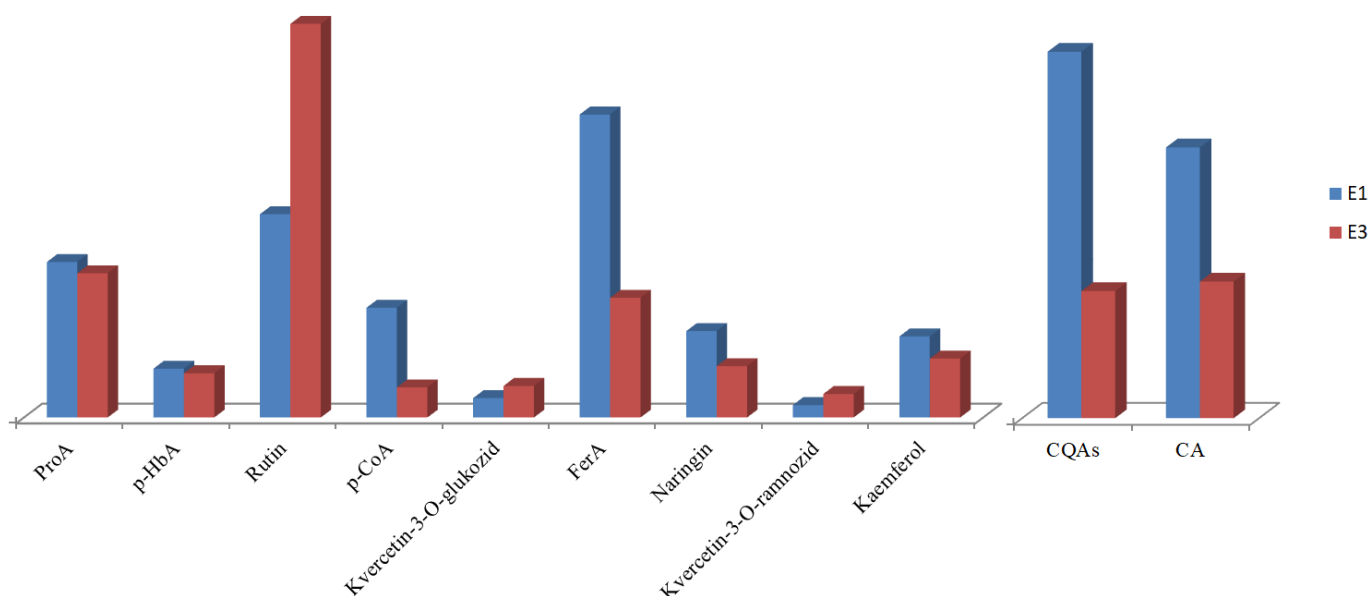
Slika 12. Analiza glavnih komponenta na osnovu sadržaja polifenolnih jedinjenja ekstrahovanih 80% metanolom (ekstrakcija 1 – E1) i smešom aceton-voda (70:30, v/v) (ekstrakcija 3 – E3) u uzorcima četiri sorte krompira (M-Marabel, F-Red Fantasy, L-Laura, J-Jelly) iz tri sistema gajenja (K-konvencionalni, I-integralni, O-organski način proizvodnje). Protocatehuinska kiselina – ProA, 5-O-aofeoilkininska kiselina – CQAs, *p*-hidroksibenzoeva kiselina – *p*-HbA, kofeinska kiselina – CA, *p*-kumarinska kiselina – *p*-CoA i ferulinska kiselina – FerA.

Na grafiku skorova (Slika 12a) jasno se može videti da se duž PC1 ose izdvajaju dve grupe objekata. Prvu grupu objekata čine uzorci krompira u kojima su polifenoli ekstrahovani 80% metanolom (ekstrakcija 1) i ona se odvajaju od druge grupe objekata koju čine uzorci kod kojih je ekstrakcija vršena smešom aceton-voda (70:30, v/v) (ekstrakcija 3). Na ovakvo razdvajanje najveći uticaj imaju fenolne kiseline (ProA, FerA, *p*-CoA, CA, CQAs, *p*-HbA) zatim naringin i kaemferol (Slika 12b), čije su koncentracije veće u uzorcima ekstrahovanim 80% metanolom (ekstrakcija 1) u odnosu na uzorke ekstrahovane postupkom ekstrakcije 3 (Tabela 11, Slika 13). Koncentracije

rutina, kvercetin-3-*O*-glukozida i kvercetin-3-*O*-ramnozida imaju obrnutu tendenciju (Slika 12b, Tabela 11). Naime, njihove koncentracije su veće u uzorcima krompira koji su podvrgnuti postupku ekstrakcije 3. Najpozitivniji uticaj duž PC1 ose ima *p*-kumarinska kiselina, a najnegativniji uticaj kvercetin-3-*O*-ramnozid (Tabela 11, Slika 13). Duž PC2 ose najpozitivniji uticaj na razdvajanje uzoraka ima kvercetin-3-*O*-glukozid, dok najnegativniji uticaj ima protokatehuinska kiselina (Slika 12b). Unutar grupa objekata, na osnovu kvantifikovanih polifenola i analizom glavnih komponenata se ne može uočiti razlika između sorti i načina proizvodnje krompira (Slika 12a).

Tabela 11. Rezultati deskriptivne statistike sadržaja fenolnih jedinjenja (mg/kg) u uzorcima krompira ekstrahovanim 80% metanolom (ekstrakcija 1) i smešom aceton-voda (70:30, v/v) (ekstrakcija 3). Protokatehuinska kiselina – ProA, 5-*O*-aofeoilkininska kiseline – CQAs, *p*-hidroksibenzoeva kiselina – *p*-HbA, kofeinska kiselina – CA, *p*-kumarinska kiselina – *p*-CoA i ferulinska kiselina – FerA.

Tip ekstrakcije	ProA	CQAs	<i>p</i> -HbA	CA	Rutin	<i>p</i> -CoA	Kvercetin-3- <i>O</i> -glukozid	FerA	Naringin	Kvercetin-3- <i>O</i> -ramnozid	Kaemferol	
E1	Sr. vrednost	1,04	75,16	0,33	55,54	1,36	0,74	2,03	0,58	0,08	0,54	
	Medijana	1,05	76,59	0,32	54,20	0,74	0,75	1,94	0,61	0,08	0,55	
	Stdev	0,19	17,48	0,12	9,77	1,25	0,18	0,50	0,21	0,04	0,10	
	Min	0,67	31,17	0,14	41,60	0,18	0,26	0,08	1,26	0,23	0,03	0,39
	Max	1,42	108,75	0,65	74,08	4,49	1,21	0,23	3,14	1,07	0,20	0,72
E3	Sr. vrednost	0,97	26,07	0,30	28,02	2,64	0,20	0,80	0,34	0,16	0,39	
	Medijana	0,83	25,64	0,26	28,74	1,05	0,14	0,49	0,33	0,11	0,39	
	Stdev	0,33	13,06	0,11	7,24	4,22	0,17	0,64	0,16	0,12	0,03	
	Min	0,56	1,29	0,12	7,55	0,13	0,05	0,06	0,13	0,09	0,05	0,36
	Max	1,70	65,93	0,61	38,49	19,00	0,71	0,75	2,14	0,61	0,51	0,49



Slika 13. Sadržaja fenolnih jedinjenja (mg/kg) u uzorcima krompira ekstrahovanim 80% metanolom (ekstrakcija 1 – E1) i smešom aceton-voda (70:30, v/v) (ekstrakcija 3 – E3). Protokatehuinska kiselina – ProA, 5-*O*-aofeoilkininska kiseline – CQAs, *p*-hidroksibenzoeva kiselina – *p*-HbA, kofeinska kiselina – CA, *p*-kumarinska kiselina – *p*-CoA i ferulinska kiselina – FerA.

S obzirom na to da opseg koncentracija za svako polifenolno jedinjenje u ispitivanim uzorcima u oba tipa ekstrakcija nije veći od jednog reda veličine (Tabela 9), za utvrđivanje postojanja statistički značajne razlike između ova dva tipa ekstrakcije na osnovu svakog pojedinačnog polifenolnog jedinjenja, urađen je uporedni t – test (Tabela 12).

Tabela 12. Rezultati uporednog t – testa; protokatehuinska kiselina – ProA, 5-*O*-aofeoilkininska kiselina – CQAs, *p*-hidroksibenzoeva kiselina – *p*-HbA, kofeinska kiselina – CA, *p*-kumarinska kiselina – *p*-CoA i ferulinska kiselina – FerA. Naglašene vrednosti ukazuju na postojanje statistički značajne razlike između ekstrakcija.

	ProA	CQAs	<i>p</i> -HbA	CA	Rutin	<i>p</i> -CoA	Kvercetin- 3- <i>O</i> - glukozid	FerA	Naringin	Kvercetin- 3- <i>O</i> - ramnozid	Kaemferol
t_{Stat}	0,85	11,07	1,40	15,77	0,85	13,20	2,20	7,60	4,09	3,01	6,61

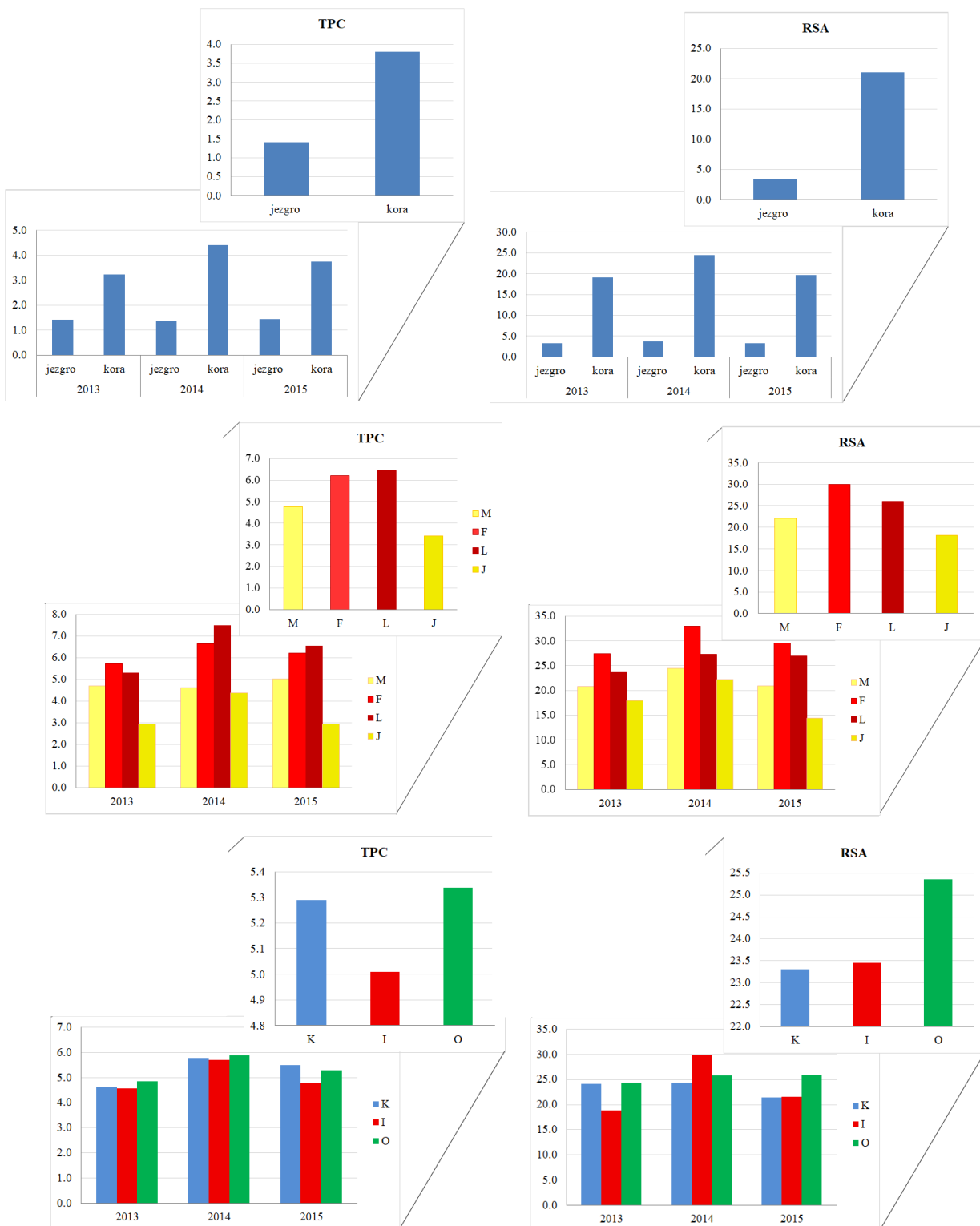
* $t_{critical\ two\ tail} = 2,07$

Na osnovu dobijenih rezultata uporednog t testa dokazano je da na osnovu sadržaja CQAs, CA, *p*-CoA, kvercetin-3-*O*-glukozida, FerA, naringina, kvercetin-3-*O*-ramnozida i kaemferola postoji statistički značajna razlika između ekstrakcija 1 i 3. Kako je koncentracija ovih polifenola veća u uzorcima koji su ekstrahovani 80% metanolom (ekstrakcija 1) u poređenju sa uzorcima ekstrahovanim smešom aceton - voda (70:30, v/v) (ekstrakcija 3), to je ekstrakcija 1 odabrana kao potencijalno najbolja metoda za ekstrahovanje polifenolnih jedinjenja iz uzoraka krompira i u tim uzorcima iz 2015. godine proizvodnje je određen polifenolni profil kore i jezgra četiri sorte krompira iz tri sistema gajenja. Nakon završenog postupka optimizacije, urađena je ekstrakcija polifenolnih jedinjenja 80% metanolom i iz uzoraka krompira iz 2013. i 2014. godine proizvodnje. Dobijeni ekstrakti su iskorišćeni za određivanje sadržaja ukupnih polifenola i antioksidativnog kapaciteta u uzorcima kore i jezgra četiri sorte krompira iz tri sistema gajenja za sve tri godine proizvodnje. Dobijeni rezultati su prikazani u tabeli 13 i na slici 14.

Na osnovu rezultata se može zaključiti da je sadržaj ukupnih polifenola i vrednost antioksidativne aktivnosti za sve tri godine proizvodnje veći u uzorcima kore u odnosu na uzorke jezgra krtola krompira (TPC – 3,79 g GAE/kg, 1,42 g GAE/kg; RSA – 21,08 mmol TE/kg; 3,46 mmol TE/kg redno) (Tabela 13, Slika 14). Kada su u pitanju sorte krompira, posmatrano za svaku godinu proizvodnje pojedinačno, ali i u ukupnom prosečnom sadržaju za sve tri godine proizvodnje, veći sadržaj ukupnih polifenola i vrednost antioksidativne aktivnosti je u uzorcima srednje ranih crvenih sorti Red Fantasy (TPC – 6,20 g GAE/kg; RSA – 29,98 mmol TE/kg) i Laura (TPC – 6,46 g GAE/kg; RSA – 25,94 mmol TE/kg) u poređenju sa srednje ranom belom sortom Marabel (TPC – 4,78 g GAE/kg; RSA – 22,05 mmol TE/kg) i kasnom belom sortom Jelly (TPC – 3,42 g GAE/kg; RSA – 18,18 mmol TE/kg) (Tabela 13, Slika 14). Za sve tri godine proizvodnje vrednosti za TPC i RSA su najniže kod uzoraka sorte Jelly, što se može objasniti činjenicom da se ova sorta u poređenju sa preostalim sortama razlikuje u dužini vegetacije krtola jer spada u kasne sorte. Što se tiče načina proizvodnje, posmatrano po godinama pojedinačno, ne može se uočiti univerzalni trend porasta/smanjenja sadržaja ukupnih polifenola i vrednosti antioksidativne aktivnosti u zavisnosti od toga da li su uzorci iz konvencionalnog, integralnog i organskog sistema gajenja (Tabela 13, Slika 14). Međutim, ukoliko se uzmu u obzir srednje vrednosti TPC i RSA u trogodišnjem periodu (2013-2015), može se primetiti da su vrednosti oba parametra najveća kod uzoraka iz organskog sistema gajenja (TPC – K: 5,29; I: 5,01; O: 5,34 g GAE/kg; RSA – K: 23,31; I: 23,45; O: 25,35 mmol TE/kg) (Tabela 13, Slika 14).

Tabela 13. Ukupan sadržaj polifenola (g GAE/kg) i antioksidativni kapacitet (mmol TE/kg) u uzorcima kore i jezgra četiri sorte krompira (M - Marabel, F - Red Fantasy, L - Laura, J - Jelly) iz tri sistema gajenja (K - konvencionalni, I - integralni, O - organski način proizvodnje) i tri godine proizvodnje (2013, 2014. i 2015).

RB uzorka	Oznaka uzorka	Način proizvodnje/Sorta	TPC (g GAE/kg)						RSA (mmol TE/kg)					
			2013		2014		2015		2013		2014		2015	
			jezgro	kora	jezgro	kora	jezgro	kora	jezgro	kora	jezgro	kora	jezgro	kora
1	1	KM	2.78	3.37	0.93	3.90	2.78	4.76	2.75	18.66	3.01	20.24	3.73	17.97
2	2	KM	2.16	3.57	1.01	3.42	2.16	4.14	3.49	16.94	2.73	18.99	4.90	11.70
3	5	IM	1.15	2.57	0.92	2.61	1.15	2.72	3.34	12.96	3.29	25.80	4.41	8.93
4	6	IM	0.79	2.82	0.83	3.05	0.99	2.77	2.16	15.71	3.76	23.43	3.21	18.63
5	9	OM	1.48	3.55	0.94	4.17	1.48	3.43	2.99	19.84	2.38	21.27	5.88	23.97
6	10	OM	1.00	2.94	1.26	4.62	1.00	2.76	4.91	21.11	2.76	18.74	3.16	19.18
7	13	KF	1.41	4.09	1.48	4.46	1.41	4.41	4.22	26.02	4.47	25.29	3.21	27.51
8	14	KF	1.28	3.54	1.75	4.59	1.28	4.60	2.75	34.21	5.32	23.23	3.21	26.81
9	17	IF	1.64	4.53	1.94	5.93	1.64	3.88	3.68	22.77	5.72	24.55	3.76	28.87
10	18	IF	1.54	3.89	1.96	6.14	1.54	4.80	4.27	12.05	4.67	33.14	2.83	19.51
11	21	OF	1.84	4.28	0.99	4.81	1.84	4.89	2.21	26.50	3.19	28.24	4.14	24.78
12	22	OF	1.78	4.56	1.37	4.44	1.78	5.21	2.90	22.96	2.43	37.57	3.76	28.86
13	25	KL	2.04	2.95	1.89	5.04	2.04	4.33	4.29	18.18	3.54	25.28	2.78	19.87
14	28	KL	1.93	3.18	2.02	4.91	1.93	4.63	4.83	17.30	4.96	24.55	3.92	23.69
15	31	IL	1.54	4.53	1.88	4.85	1.54	4.90	3.86	17.30	3.83	21.11	2.83	31.05
16	32	IL	1.66	3.73	1.75	4.63	1.66	4.69	3.16	15.24	4.91	22.10	2.42	18.19
17	33	OL	1.71	3.79	1.46	7.49	1.71	5.58	3.76	25.19	2.99	21.12	3.10	24.24
18	35	OL	1.02	3.79	1.59	7.45	1.32	5.04	3.01	25.58	3.58	25.68	2.45	26.97
19	37	KJ	0.78	1.27	1.85	3.56	0.68	1.88	6.19	17.18	3.36	11.54	1.63	8.01
20	38	KJ	0.84	1.68	1.95	3.41	0.84	2.06	2.60	13.16	6.85	11.72	2.40	10.35
21	42	IJ	1.28	2.09	1.36	3.02	1.28	1.82	3.19	9.53	4.09	14.86	2.89	12.42
22	43	IJ	0.90	1.78	1.05	3.61	0.90	1.92	2.26	19.64	4.74	39.49	2.56	9.69
23	46	OJ	0.95	2.70	0.46	2.88	0.95	2.87	1.42	16.69	3.59	13.01	3.59	15.04
24	47	OJ	0.77	2.53	0.48	2.62	0.77	1.73	1.72	13.99	7.10	12.81	2.07	15.90



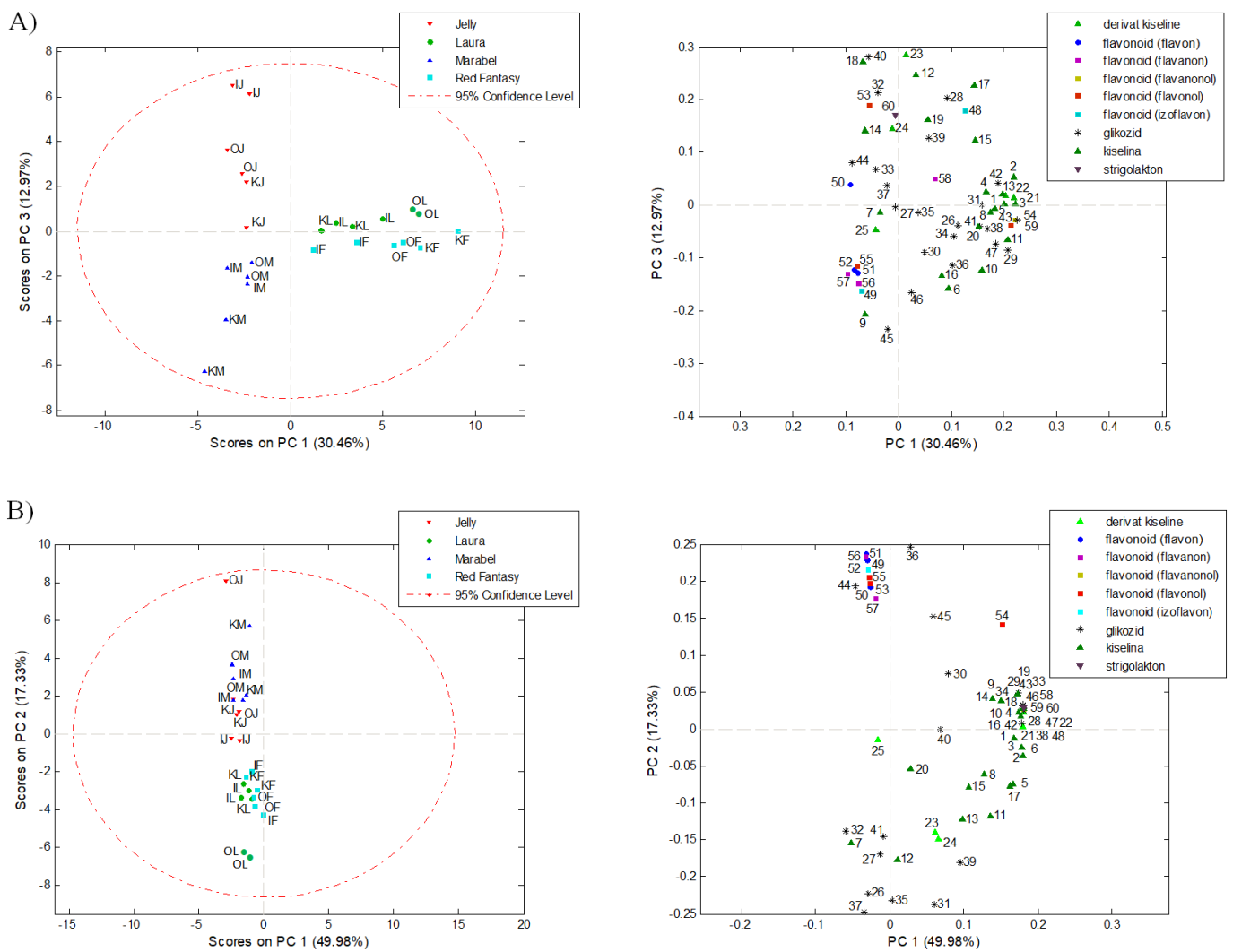
Slika 14. Ukupan sadržaj polifenola (g GAE/kg) i antioksidativni kapacitet (mmol TE/kg) u uzorcima jezgra i kore četiri sorte krompira (M - Marabel, F - Red Fantasy, L - Laura, J - Jelly) iz tri sistema gajenja (K - konvencionalni, I - integralni, O - organski način proizvodnje) prikazan za tri godine proizvodnje pojedinačno (2013, 2014. i 2015) i u vidu trogodišnjeg prosečnog sadržaja.

4.4. Identifikacija polifenolnih jedinjenja - određivanje polifenolnog profila

Primenom ultra-efikasne tačne hromatografije sa masenim detektorom visoke rezolucije (UHPLC-LTQ OrbiTrap XL) identifikovana su najzastupljenija fenolna jedinjenja u uzorcima krtola krompira. Fenolni profil je određen primenom programa *ChemDraw* i literaturnih podataka na osnovu kojih su dobijene monoizotopske mase poređene sa dobijenim masama fenola primenom *Exalibur* softvera.

Kvalitativnom analizom fenolne frakcije uzoraka krompira nakon ekstrakcije 80% metanolom, identifikovano je šezdeset jedinjenja: 25 fenolnih kiselina i njihovih derivata, 22 glikozida, 12 flavonoida i to dva izoflavona, po tri flavona, flavonola i flavanona i jedan flavanonol i jedan strigolakton solanacol. Spisak identifikovanih jedinjenja sa skraćenicama, retencionim vremenima, molekulskim formulama, srednjim vrednostima monoizotopskih i izračunatih masa, i masena fragmentacija navedeni su u tabeli 14. Jedinjenja su identifikovana poređenjem MS spektara i retencionih vremena (t_R) sa dostupnim standardima koji su analizirani pod istim uslovima i na osnovu poređenja tačne mase, $[M-H]^-$ deprotonovanog molekula (molekulskog jona) i njegove MS^2 fragmentacije sa odgovarajućim spektralnim karakteristikama datim u dostupnoj literaturi.

U cilju pronalazaženja faktora koji bi mogli da posluže kao potencijalni pokazatelji razlike između četiri sorte krompira različitog porekla i dužine vegetacije iz tri sistema gajenja na osnovu vrednovanja njihovog fenolnog profila u jezgru i kori krtola, izvršena je analiza glavnih komponenata. Visina, odnosno površina ispod pika identifikovanih fenolnih jedinjenja posmatrani su kao numeričke varijable. Rezultati PCA analize fenolnog profila jezgra i kore krompira prikazani su na slici 15. Analiza glavnih komponenata na osnovu identifikovanih fenolnih jedinjenja u uzorcima kore krompira rezultirala je desetokomponentnim modelom koji objašnjava 92,73% ukupne varijabilnosti među podacima, dok PCA za uzorke jezgra krtola rezultira osmocomponentnim modelom koji objašnjava 94,13% varijabiliteta. U oba slučaja, rezultati ukazuju na razdvajanje uzoraka na osnovu sorte krompira kojoj pripadaju, kao i na osnovu dužine vegetacije. Naime, kod uzoraka kore krtola (Slika 15A), na osnovu identifikovanih fenolnih jedinjenja, duž PC1 ose koja objašnjava 30,46% varijabiliteta, se izdvajaju dve grupe objekata. Prvu čine uzorci krompira srednje rane sorte crvene boje pokožice - Laura i Red Fantasy, dok drugu grupu objekata čine sorte bele boje pokožice - Marabel i Jelly. Duž PC3 ose, koja objašnjava 12,97% varijabiliteta među podacima, se dodatno može primetiti da dolazi do razdvajanja unutar uzoraka sorti bele boje pokožice Marabel i Jelly na osnovu dužine vegetacije, jer je sorta Marabel rana bela sorta, dok je Jelly kasna bela sorta. Stoga se može reći, da se polifenolni profil može iskoristiti kao pokazatelj razlike između sorti (genotipova) i dužine vegetacije krompira. Sličan trend se može primetiti i kod uzoraka jezgra krtola (Slika 15B) gde se duž PC2 ose takođe može videti razdvajanje uzoraka crvenih i belih sorti. Najveći uticaj na razdvajanje, i u jednom i u drugom slučaju, imaju fenolne kiseline, njihovi derivati i glikozidi koji su identifikovani u uzorcima sorti crvene boje pokožice, dok je kod sorti bele boje pokožice veći udeo identifikovanih klasa flavonoida, što je u skladu i sa literaturnim podacima koji potvrđuju da sekundarni metaboliti u krompiru doprinose kolorističkim i senzornim karakteristikama ove biljne kulture (Ignat, Volf, and Popa 2011) i da sadržaj fenola u krompiru utiče na boju krtola, pri čemu jezgro i/ili kora krompira mogu biti potpuno ili delimično pigmentisani (Burgos et al. 2013). Takođe je potvrđeno da postoji širok spektar fenolnih kiselina i antocijana kvantifikovanih u različitim koncentracijama u zavisnosti od sorte krompira, pri čemu se ističe da crvene sorte sadrže uglavnom fenolne kiseline i glikozide (Shiroma-Kian et al. 2008; Vinson et al. 2012) što je potvrđeno i u okviru ove disertacije.



Slika 15. Analiza glavnih komponenta na osnovu identifikovanih fenolnih jedinjenja u uzorcima kore (A) i jezgra (B) četiri sorte krompira (M - Marabel, F - Red Fantasy, L - Laura, J - Jelly) iz tri sistema gajenja (K - konvencionalni, I - integralni, O - organski način proizvodnje).

Tabela 14. Polifenolna jedinjenja identifikovana u jezgri i kori četiri sorte krompira iz tri sistema gajenja korišćenjem UHPLC-LTQ Orbitrap MS/MS.

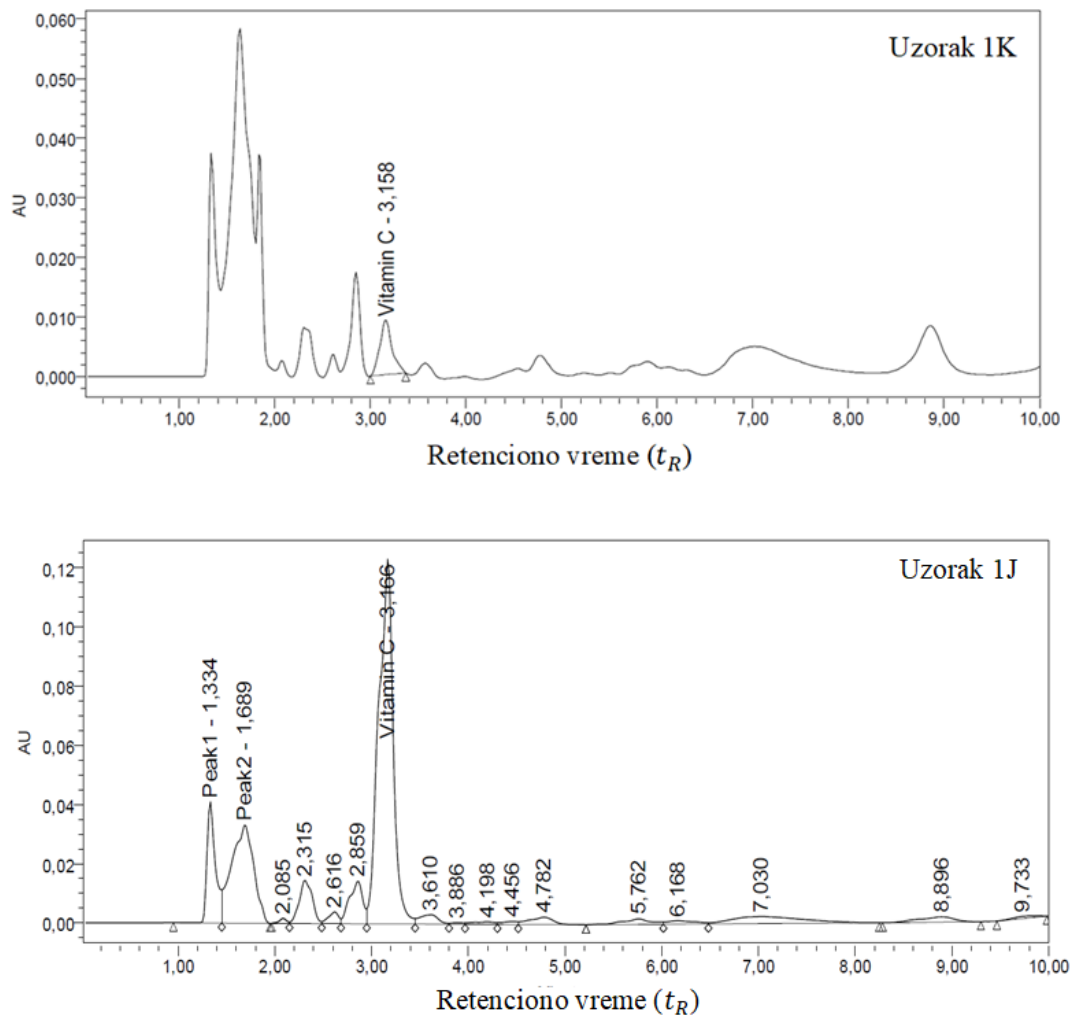
Broj pika	t_R , min	Identifikovana jedinjenja	Molekulska formula [M-H] ⁻	Izračunata masa, [M-H] ⁻	Nađena masa, [M-H] ⁻	Greška u Δppm	MS ² Fragmenti, (% pika)	Referenca
Fenolne kiseline i derivati kiseline								
1	4,50	Protokatehuinska kiselina (PCA)	C ₇ H ₅ O ₄ ⁻	153,01933	153,01838	0,96	109(100), 123(8), 125(1), 138(1)	10.1007/s11947-019-02320-z
2	4,59	3- <i>O</i> -Kafeoilhinska kiselina (hlorogena kiselina, 3-CQA)	C ₁₆ H ₁₇ O ₉ ⁻	353,08781	353,08561	2,20	135(8), 173(3), 179(44), 191(100)	10.1016/j.chroma.2013.09.017
3	5,10	5- <i>O</i> -Kafeoilhinska kiselina (neohlorogena kiselina, 5-CQA)	C ₁₆ H ₁₇ O ₉ ⁻	353,08781	353,08529	2,51	173(6), 179(7), 191(100)	10.1016/j.chroma.2013.09.017
4	5,21	<i>p</i> -Hidroksibenzojeva kiselina (<i>p</i> -HbA)	C ₇ H ₅ O ₃ ⁻	137,02442	137,02348	0,94	93(100), 109(2), 119(2)	10.1021/acs.jafc.6b05179
5	5,26	3- <i>O</i> -Feruloilhininska kiselina (3- <i>O</i> -FerQA)	C ₁₇ H ₁₉ O ₉ ⁻	367,10346	367,10146	1,99	134(6), 173(3), 191(2), 193(100)	10.1155/2018/3678795
6	5,34	Homovanilinska kiselina (HVA)	C ₉ H ₉ O ₄ ⁻	181,05063	181,04943	1,20	101(1), 109(4), 119(7), 135(2), 137(100), 163(4), 166(6)	10.1002/jsfa.9889
7	5,36	Gentizinska kiselina (GA)	C ₇ H ₅ O ₄ ⁻	153,01933	153,01842	0,92	109(100), 110(1), 125(4), 135(2)	10.1007/s00425-017-2718-4
8	5,42	5- <i>O</i> -Kafeoilhinska kiselina isomer (5- <i>O</i> -CQA isomer)	C ₁₆ H ₁₇ O ₉ ⁻	353,08781	353,08577	2,04	173(4), 179(6), 191(100)	10.1016/j.chroma.2013.09.017
9	5,58	Kofeinska kiselina (CA)	C ₉ H ₇ O ₄ ⁻	179,03498	179,03396	1,03	135(100)	10.1111/ijfs.14361
10	5,73	Rozmarinska kiselina (RosA)	C ₁₈ H ₁₅ O ₈ ⁻	359,07724	359,07537	1,87	135(1), 179(100), 341(1)	10.1016/j.chroma.2013.09.017
11	5,80	4- <i>O</i> -Feruloilhininska kiselina (4- <i>O</i> -FerQA)	C ₁₇ H ₁₉ O ₉ ⁻	367,10346	367,10141	2,05	173(100), 193(6), 323(1)	10.1155/2018/3678795
12	6,01	4- <i>O</i> -Feruloilhininska kiselina (4- <i>O</i> -FerQA izomer)	C ₁₇ H ₁₉ O ₉ ⁻	367,10346	367,10161	1,84	173(100), 193(6), 323(1)	10.1155/2018/3678795
13	6,23	<i>p</i> -Kumarinska kiselina (<i>p</i> -CoA)	C ₉ H ₇ O ₃ ⁻	163,04007	163,03899	1,08	91(2), 119(100)	10.1002/jsfa.9968
14	6,32	Dikafeoilhinska kiselina (diCQA)	C ₂₅ H ₂₃ O ₁₂ ⁻	515,11950	515,11771	1,79	173(10), 179(8), 191(4), 203(6), 299(4), 335(12), 353(100)	10.1155/2018/3678795
15	6,43	Sinapinska kiselina (SinA)	C ₁₁ H ₁₁ O ₅ ⁻	223,06120	223,05967	1,52	147(1), 149(2), 164(100), 177(2), 179(22), 205(1), 208(28)	10.1007/s00425-017-2718-4
16	6,44	Vanillin (Vanilin)	C ₈ H ₇ O ₃ ⁻	151,04007	151,03906	1,01	89(6), 101(5), 107(4), 119(6), 123(4), 131(7), 136(100)	10.1021/acs.jafc.6b05179
17	6,49	Ferulinska kiselina (FA)	C ₁₀ H ₉ O ₄ ⁻	193,05063	193,04918	1,45	117(3), 134(89), 149(100), 178(54)	10.1111/ijfs.14361
18	6,57	Dikafeoilhinska kiselina isomer (diCQA izomer)	C ₂₅ H ₂₃ O ₁₂ ⁻	515,11950	515,11728	2,22	173(10), 179(8), 191(4), 203(6), 299(4), 335(12), 353(100)	10.1155/2018/3678795
19	7,10	Kafeoil-sinapil-hinska kiselina (CSHA)	C ₂₇ H ₂₇ O ₁₃ ⁻	559,14572	559,14344	2,28	173(4), 179(1), 223(2), 335(5), 353(6), 397(100), 527(1)	10.3390/ijms17030394
20	7,73	Cimetna kiselina (CA)	C ₉ H ₇ O ₂ ⁻	147,04515	147,04406	1,09	57(1), 59(2), 99(3), 103(100), 105(1), 115(3), 129(11)	10.1007/s00425-017-2718-4
21	5,12	Subulatin	C ₃₂ H ₃₃ O ₁₈ ⁻	705,16724	705,16691	0,33	321(45), 443(71), 513(100), 543(51), 661(63), 687(46), 688(61)	10.1016/j.foodchem.2019.01.018
22	5,41	Subulatin izomer	C ₃₂ H ₃₃ O ₁₈ ⁻	705,16724	705,16722	0,02	321(45), 443(71), 513(100), 543(51), 661(63), 687(46), 688(61)	10.1016/j.foodchem.2019.01.017
23	5,45	Tetrametoksi-cimetna kiselina heksuronid	C ₁₉ H ₂₃ O ₁₂ ⁻	443,11950	443,11740	2,10	134(1), 193(7), 249(4), 267(100), 411(2), 425(5)	
24	5,75	Tetrametoksi-cimetna kiselina heksuronid izomer	C ₁₉ H ₂₃ O ₁₂ ⁻	443,11950	443,11766	1,84	193(7), 249(12), 253(4), 267(100), 411(11), 425(14)	
25	7,96	Etil kafeat	C ₁₁ H ₁₁ O ₄ ⁻	207,06628	207,06513	1,15	133(1), 134(7), 135(18), 161(23), 178(4), 179(100)	10.3136/fstr.16.327

Broj pika	t _R , min	Identifikovana jedinjenja	Molekulska formula [M-H] ⁻	Izračunata masa, [M-H] ⁻	Nađena masa, [M-H] ⁻	Greška u Δppm	MS2 Fragmenti, (% pika)	Referenca
Glikozidi								
26	3,45	Heksozid trihidroksi-benzoeve kiseline	C ₁₃ H ₁₅ O ₁₀ ⁻	331,06707	331,06606	1,01	125(22), 167(12), 168(73), 169(24), 211(7), 223(7), 313(100)	
27	4,06	Heksozid dihidroksi-benzoeve kiseline	C ₁₃ H ₁₅ O ₉ ⁻	315,07216	315,07060	1,55	108(11), 109(10), 152(43), 153(100), 163(9), 165(17), 225(9)	10.1021/jf0605300
28	4,17	Heksozid hidroksi-metoksi-benzoeve kiseline	C ₁₄ H ₁₇ O ₉ ⁻	329,08781	329,08643	1,38	152(2), 167(100)	
29	4,30	Pentozil-heksozid hidroksi-metoksi-benzoeve kiseline	C ₁₉ H ₂₅ O ₁₃ ⁻	461,13007	461,12838	1,68	149(1), 152(12), 167(100), 293(11), 329(1), 417(1)	
30	4,33	Heksozid siringinske kiseline	C ₁₅ H ₁₉ O ₁₀ ⁻	359,09837	359,09689	1,48	182(2), 197(100)	10.1016/j.foodchem.2018.03.125
31	4,42	Pentozil-heksozid dihidroksi-benzoeve kiseline	C ₁₈ H ₂₃ O ₁₃ ⁻	447,11442	447,11280	1,61	152(77), 163(66), 177(67), 179(26), 207(37), 297(23), 315(100)	
32	4,43	Izomer heksozida hidroksi-metoksi-benzoeve kiseline	C ₁₈ H ₁₇ O ₆ ⁻	329,10306	329,09850	4,56	152(2), 167(100)	
33	4,47	Izomer heksozida siringinske kiseline	C ₁₅ H ₁₉ O ₁₀ ⁻	359,09837	359,09675	1,62	182(2), 197(100)	10.1016/j.foodchem.2018.03.125
34	4,63	Heksozid kafeinske kiseline	C ₁₅ H ₁₇ O ₉ ⁻	341,08781	341,08617	1,64	135(2), 179(100)	10.3390/ijms17030394
35	4,77	Izomer pentozida dihidroksi-benzoeve kiseline	C ₁₂ H ₁₃ O ₈ ⁻	285,06159	285,05984	1,75	108(5), 109(6), 151(3), 152(25), 153(100), 163(3), 165(4)	10.1093/jxb/erq234
36	4,86	Heksozid izomer 1 kafeinske kiseline	C ₁₅ H ₁₇ O ₉ ⁻	341,08781	341,08592	1,89	107(6), 135(100), 161(2), 179(77), 297(2)	10.3390/ijms17030394
37	4,90	Hydroxy-benzoic acid hexoside	C ₁₃ H ₁₅ O ₈ ⁻	299,07724	299,07543	1,81	93(1), 137(100)	10.18891/jjfc.17.2_102
38	4,95	Heksozid homovanilinska kiselina	C ₁₅ H ₁₉ O ₉ ⁻	343,10346	343,10255	0,91	137(3), 181(100)	10.1016/j.foodres.2014.01.032
39	4,97	Pentozid dihidroksi-benzoeve kiseline	C ₁₂ H ₁₃ O ₈ ⁻	285,06159	285,05974	1,85	108(5), 109(9), 151(6), 152(32), 153(100), 163(5), 241(45)	10.1093/jxb/erq234
40	5,00	Heksozid izomer 2 kafeinske kiseline	C ₁₅ H ₁₇ O ₉ ⁻	341,08781	341,08592	1,89	107(6), 135(100), 161(2), 179(77), 297(2)	10.3390/ijms17030394
41	5,12	Heksozid Feruloilhininska kiselina	C ₂₃ H ₂₉ O ₁₄ ⁻	529,15628	529,15508	1,20	175(100), 353(10)	
42	5,34	Kaempferol 3-O-[2"-heksozil-(2"-heksozil)]-heksozid	C ₃₃ H ₃₉ O ₂₁ ⁻	771,19893	771,19887	0,06	271(25), 300(49), 301(51), 505(30), 591(100), 609(29), 753(13)	10.1007/s11105-017-1043-1
43	5,52	Dihidrokaempferol 3-O-heksozid	C ₂₁ H ₂₁ O ₁₁ ⁻	449,10894	449,10740	1,54	259(40), 269(100), 287(69), 311(2), 342(1), 421(6), 431(21)	10.1016/j.foodchem.2017.01.118
44	5,90	Heksozid kumarinske kiseline	C ₁₅ H ₁₇ O ₈ ⁻	325,09289	325,09117	1,72	101(9), 113(8), 119(65), 159(7), 161(47), 163(100), 307(4)	10.3390/ijms17030394
45	5,93	Kvercetin 3-O-(6"-ramnozil)-heksozid	C ₂₇ H ₂₉ O ₁₆ ⁻	609,14611	609,14488	1,23	179(3), 255(5), 271(5), 300(33), 301(100), 302(23), 343(7)	10.1016/j.chemosphere.2019.05.072
46	6,17	Biohanin A 7-O-heksozid	C ₂₂ H ₂₁ O ₁₀ ⁻	445,11402	445,11401	0,02	283(100)	10.1007/BF02974274
47	6,25	Kaempferol 3-O-(6"-ramnozil)-heksozid	C ₂₇ H ₂₉ O ₁₅ ⁻	593,15119	593,15000	1,19	229(2), 255(1), 257(3), 267(1), 285(100), 286(10), 327(2)	10.1155/2018/3678795

Broj pika	t_R , min	Identifikovana jedinjenja	Molekulska formula [M-H] ⁻	Izračunata masa, [M-H] ⁻	Nađena masa, [M-H] ⁻	Greška u Δppm	MS2 Fragmenti, (% pika)	Referenca
Flavonoidi								
Izoflavon								
48	6.78	Retuzin	C ₁₉ H ₁₇ O ₇ ⁻	357.09798	357.09541	2.57	147(4), 176(7), 177(18), 283(34), 313(100), 327(31), 339(6)	10.1590/S0100-40422009000500008
49	9.19	Biohanin A	C ₁₆ H ₁₁ O ₅ ⁻	283.06120	283.05956	1.64	211(13), 239(64), 240(21), 255(2), 265(3), 268(100), 269(7)	10.1016/j.foodcont.2016.09.020
Flavon								
50	8.44	Apigenin	C ₁₅ H ₁₀ O ₅ ⁻	269.04555	269.04433	1.22	149(42), 151(25), 181(18), 201(35), 224(19), 225(100), 227(21)	10.1080/10942912.2014.978010
51	10.04	Hrizin	C ₁₅ H ₁₀ O ₄ ⁻	253.05063	253.04929	1.34	145(10), 151(30), 169(11), 183(6), 187(15), 211(44), 213(100)	10.1016/j.lwt.2011.12.036
52	10.54	Acacetin	C ₁₆ H ₁₁ O ₅ ⁻	283.06120	283.05940	1.80	268(100)	10.1016/j.jplph.2004.08.010
Flavonol								
53	8.09	Isorhamnetin	C ₁₆ H ₁₁ O ₇ ⁻	315.05103	315.04963	1.39	171(1), 300(100), 301(1)	10.1016/j.plantsci.2019.110393
54	8.56	Kaempferol	C ₁₅ H ₁₀ O ₆ ⁻	285.04046	285.03861	1.85	151(60), 213(51), 229(51), 239(48), 241(48), 257(49), 285(100)	10.1002/jfsa.10180
55	8,81	Rhamnocitrin	C ₁₆ H ₁₁ O ₆ ⁻	299.05611	299.05449	1.62	284(100)	10.1590/S0100-40422009000500008
Flavanon								
56	9.81	Pinocembrin	C ₁₅ H ₁₁ O ₄ ⁻	255.06628	255.06483	1,45	145(8), 151(56), 169(11), 183(10), 187(16), 211(100), 213(33)	10.1080/00032719.2017.1399413
57	9.99	Izosakuranetin	C ₁₆ H ₁₃ O ₅ ⁻	285.07685	285.07534	1,51	151(16), 164(84), 175(12), 226(12), 241(24), 243(100), 270(91)	https://chemport.eas.org/cgi-bin/sdsci?APP=cp_scifinder&SERVICE=&CL=scifinder&SID=174560-0360524569-103&FID=REDISPLAY&LANG=english&R=983503
58	7.99	Hesperetin	C ₁₆ H ₁₃ O ₆ ⁻	301,07176	301,06978	1,98	161(1), 253(2), 286(100)	10.1016/j.foodchem.2020.126181
Flavanonol								
59	7,19	Dihidrokaempferol	C ₁₅ H ₁₁ O ₆ ⁻	287,05611	287,05411	2,00	125(1), 201(4), 243(14), 259(100), 269(5)	10.1007/s00425-017-2718-4
Strigolakton								
60	9.05	Solanacol	C ₁₉ H ₁₇ O ₆ ⁻	341,10306	341,10111	1,95	179(100), 263(3), 279(3), 297(5), 305(3), 323(9)	10.1002/pca.2796 Comprehensive Natural Products II: Chemistry and Biology

4.5. Analiza askorbinske kiseline – određivanje sadržaja vitamina C

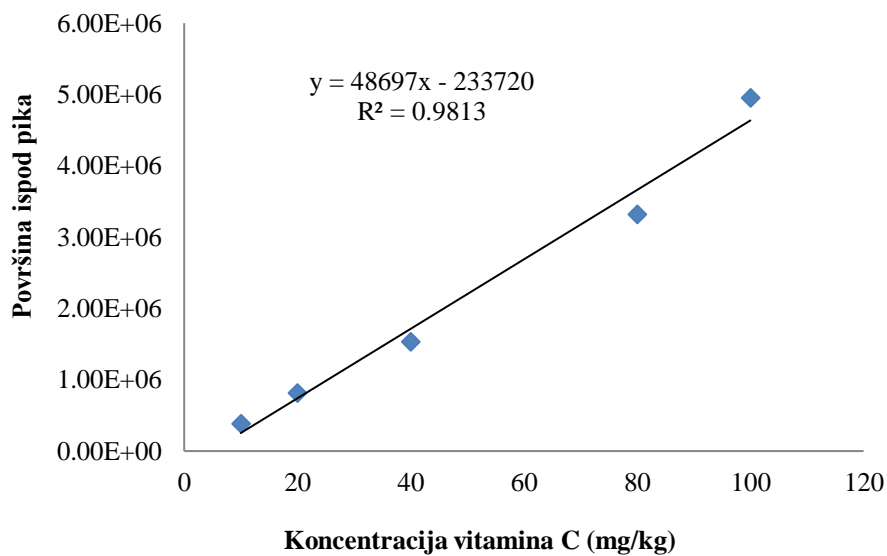
Sadržaj vitamina C u uzorcima kore i jezgra krompira određen je primenom visoko-efikasne tečne hromatografije. Primer hromatograma uzorka kore i jezgra sorte Marabel proizvedene u konvencionalnom sistema gajenja prikazan je na Slici 16.



Slika 16. Izgled hromatograma uzorka kore (1K) i jezgra (1J) sorte Marabel proizvedene u konvencionalnom sistemu gajenja.

Kvantifikacija je postignuta pomoću jednačine prave, dobijene metodom najmanjih kvadrata na osnovu površine ispod pikova za seriju standardnih rastvora askorbinske kiseline (Slika 17). Rezultati su izraženi kao mg vitamina C/100 g uzorka kore, odnosno jezgra krompira (Tabela 15). Fridmanovim testom i Vilkoksonovim testom ranga proverena je mogućnost korišćenja sadržaja vitamina C kao potencijalnog pokazatelja genotipa i načina proizvodnje krompira. Najveći sadržaj vitamina C nađen je kod uzorka iz integralnog sistema gajenja (129,12 mg/100 g), zatim kod uzorka iz organskog sistema gajenja (118,02 mg/100 g), dok je najmanji sadržaj vitamina C u krtolama utvrđen kod uzorka iz konvencionalnog sistema gajenja (107,18 mg/100 g) (Tabela 15). Ovakvi rezultati su u saglasnosti sa dosadašnjim istraživanjima (Hajšlová et al. 2005; Gvozden 2016), međutim rezultati testova pokazuju da između načina proizvodnje ne postoji statistički značajna razlika na osnovu sadržaja vitamina C, dok je razlika između sorti krompira statistički

značajna (Tabela 16). Naime, najveći sadržaj vitamina C je određen kod uzoraka kasne bele sorte Jelly (149,32 mg/100 g) i rane bele sorte Marabel (139,21 mg/100 g), zatim nešto niži sadržaj vitamina C kod uzoraka srednje rane crvene sorte Red Fantasy (120,16 mg/100 g) i najniži kod sorte Laura (63,74 mg/100 g). Viši sadržaj askorbinske kiseline kod sorti bele boje pokožice - Jelly i Marabel, kao i kod srednje rane sorte crvene boje pokožice Red Fantasy ukazuju da ove sorte imaju veću otpornost na stresne uslove (Sharma et al. 2012). Takođe, utvrđene razlike ukazuju na uticaj sorte na nivo nakupljanja vitamina C u krtoli, što potvrđuje činjenica da je u uzorcima belih sorti sadržaj vitamina C veći nego kod uzoraka crvene sorte. Ovakvi nalazi su u saglasnosti sa dosadašnjim istraživanjima i navodima drugih autora (Dale, Griffiths, and Todd 2003; Love et al. 2003; Wang-Pruski 2007; Burgos et al. 2009; Ierna and Melilli 2009).



Slika 17. Kalibraciona prava za seriju standardnih rastvora askorbinske kiseline.

Tabela 15. Parametri deskriptivne statistike za sadržaj vitamina C (mg/100g uzorka) u uzorcima kore i jezgra četiri sorte krompira iz tri sistema gajenja za 2015. godinu proizvodnje; K, I, O - način proizvodnje (K - konvencionalni, I - integralni, O - organski sistem gajenja); M, F, L, J – sorta krompira (M - Marabel, F - Red Fantasy, L - Laura, J - Jelly). Naglašene vrednosti predstavljaju ukupan prosečan sadržaj vitamina C u sortama, odnosno u odgovarajućem načinu proizvodnje.

Način proizvodnje/Sorta	2015		Način proizvodnje/Sorta	2015		Način proizvodnje/Sorta	2015		Način proizvodnje/Sorta	2015		Način proizvodnje	
	kora	jezgro		kora	jezgro		kora	jezgro		kora	jezgro		
KM	srednja v	13,14	73,97	srednja v	12,87	105,52	srednja v	18,96	59,76	srednja v	31,02	113,48	Konvencionalni 107,18 ± 41,70
	medijana	12,80	66,69	medijana	12,89	111,09	medijana	17,62	55,98	medijana	28,59	112,07	
	stdev	3,62	31,56	KF stdev	4,72	46,57	KL stdev	7,20	11,48	KJ stdev	11,11	18,62	
	min	9,21	44,19	Min	7,13	43,49	min	11,70	50,53	min	21,77	93,27	
	max	17,74	118,33	max	18,55	156,40	max	28,91	76,54	max	45,12	136,54	
IM	srednja v	20,33	175,23	srednja v	17,33	111,08	srednja v	15,30	39,49	srednja v	17,63	120,09	Integralni 129,12 ± 67,59
	medijana	18,30	153,78	medijana	16,55	92,92	medijana	12,87	38,04	medijana	18,14	112,66	
	stdev	6,81	45,98	IF stdev	5,79	68,62	IL stdev	5,45	8,95	IJ stdev	3,07	30,22	
	min	14,56	149,24	Min	11,92	53,80	min	12,00	31,80	min	13,48	92,12	
	max	30,18	244,13	max	24,30	204,66	max	23,45	50,10	max	20,77	162,91	
OM	srednja v	15,52	119,41	srednja v	19,05	94,64	srednja v	14,13	43,57	srednja v	12,81	152,92	Organski 118,02 ± 49,94
	medijana	15,72	116,82	medijana	19,38	94,97	medijana	15,23	41,81	medijana	12,86	146,39	
	stdev	1,40	7,13	OF stdev	4,56	42,31	OL stdev	5,99	10,69	OJ stdev	3,13	38,74	
	min	13,66	114,20	Min	13,55	48,98	min	6,17	32,48	min	9,69	119,40	
	max	16,99	129,82	max	23,90	139,64	max	19,88	58,19	max	15,85	199,51	
Sorta	Marabel		Red Fantasy		Laura		Jelly						
	139,21 ± 57,04		120,16 ± 53,48		63,74 ± 17,81		149,32 ± 33,81						

Tabela 16. Fridmanov test i Vilkoksonov test ranga za sadržaj vitamina C u uzorcima četiri sorte krompira M, F, L, J (M - Marabel, F - Red Fantasy, L - Laura, J - Jelly) iz tri načina proizvodnje K, I, O (K - konvencionalni, I - integralni, O - organski sistem gajenja). Naglašene vrednosti ukazuju na postojanje statistički značajne razlike između postupaka ekstrakcije.

Vitamin C				Vilkoksonov test ranga			Razlike
Sorta	Sr. vrednost	Stdev	Fridmanov test*	M	F	L	
M	139,21	57,04	N: 12	/	1,098	2,903	M (L) F (L) J (L)
F	120,16	53,48	χ^2 : 18,000	1,098	/	2,746	
L	63,74	17,81	df: 3	2,903	2,746	/	
J	149,32	33,81	Stat. značajnost: $p < 0,001$	0,392	1,334	3,059	

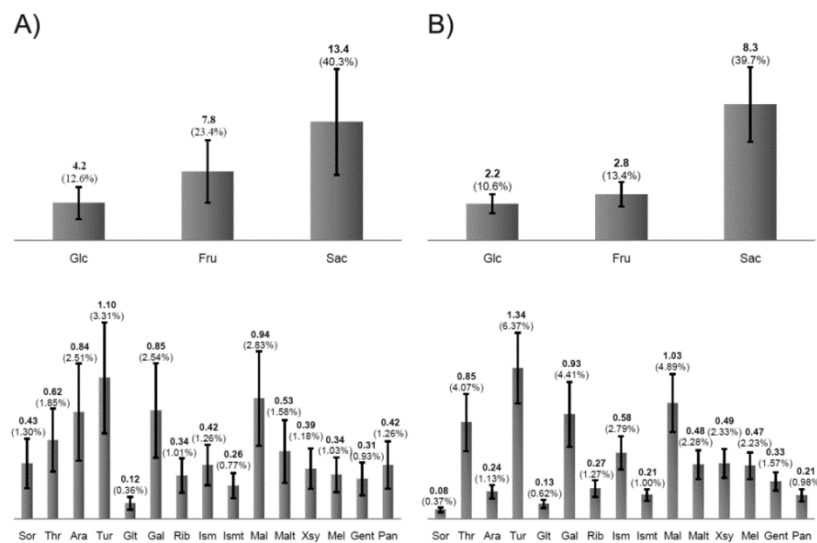
*Vrednosti se statistički značajno razlikuju ako je χ^2 -vrednost > 7,700

Način proizvodnje			
K	107,18	41,70	N: 16
I	129,12	67,59	χ^2 : 0,125
O	118,02	49,94	df: 2
			Stat. značajnost: 0,939

*Vrednosti se statistički značajno razlikuju ako je χ^2 -vrednost > 6,500

4.6. Šećerni profil krtola krompira

U uzorcima kore i jezgra analiziranih krtola kvantifikovano je devetnaest saharida, uključujući šest monosaharida, sedam disaharida, tri trisaharida, dva alditola i jedan polisaharid – skrob. Podaci su dati u formi Excel tabele (Tabela P1) i predstavljaju prosečnu vrednost tri ponovljena merenja. Fruktosa, glukoza i saharoza identifikovani su kao najzastupljeniji šećeri (makrokomponente) i u kori i u jezgru krtola (Lombardo, Pandino, and Mauromicale 2017) (Slika 18), što se moglo očekivati pošto ovi šećeri igraju glavnu ulogu u obezbeđivanju energije za rast biljke (Kaneko et al. 2002) posebno u periodu klijanja (Prado et al. 2000). Ostali šećeri (mikrokomponente) - sorbitol, trehaloza, arabinoza, turanoza, galaktitol, galaktoza, ksiloza, melibioza, maltoza, gentiobioza, izomaltoza, izomaltotrioza, riboza, panoza i maltotrioza su pronađeni u tragovima, što je u skladu sa postojećim istraživanjima (Burton 1989; Woolfe, Woolfe, and Poats 1987).



Slika 18. Sadržaj makro- i mikrokomponentata (Glc – glukoza, Fru – fruktoza, Sac – saharoza, Tre – trehaloza, Mal – maltoza, Ara – arabinoza, Tur – turanoza, Rib – riboza, Gent – gentiobioza, Ism – izomaltoza, Pan – panoza, Ismt – izomaltotrioza, Malt – maltotrioza, Mel – melibioza, Gal – galaktoza, Xsy – ksiloza, Sor – sorbitol, Glt – galaktitol) u jezgru (A) i kori (B) krtola krompira tokom trogodišnjeg perioda izražen u g/kg, dok je relativni odnos prema ukupnoj količini šećera dat u procentima. Vertikalne linije označavaju intervale poverenja od 0,95.

Da bi se utvrdio izvor varijacije između načina proizvodnje, godina proizvodnje i sorti krompira, i kako bi se utvrdilo koji se šećeri i na koji način mogu koristiti kao indikatori botaničkog porekla i sistema gajenja, primenjena je MANOVA korišćenjem opšteg linearnog modula, dela softvera Statistica (Statistica v.10, Statsoft Inc. Tulsa, Oklahoma, SAD). Ukupno 684 podatka za vrednost koncentracija šećernih komponentata su korišćene kao ulazni podaci za MANOVA proračune, dobijeni kao vrednost 36 koncentracija (3 načina proizvodnje \times 4 sorte \times 3 proizvodne godine) merene za svaku od 19 varijabli. Izvedene su dve multivarijantne analize varijanse. Prva je korišćena za modelovanje uticaja faktora (F_1 – F_3) na sadržaj šećera u jezgru krtola, dok je druga analiza korišćena za modelovanje uticaja faktora (F_1 – F_3) na sadržaj šećera u kori krompira. Primenjeni su sledeći faktori i model interakcije bez kvadrata (jednačina 7):

$$Y_{j,k} = b_0 + b_1F_1 + b_2F_2 + b_3F_3 + b_{12}F_1F_2 + b_{13}F_1F_3 + b_{23}F_2F_3 + b_{123}F_1F_2F_3 \quad (7)$$

gde je Y_j koncentracija šećera u jezgru, Y_k - koncentracija šećera u kori, F_1 –predstavlja tri načina proizvodnje (konvencionalni (K), integralni (I), organski (O)), F_2 – opisuje razlike između četiri

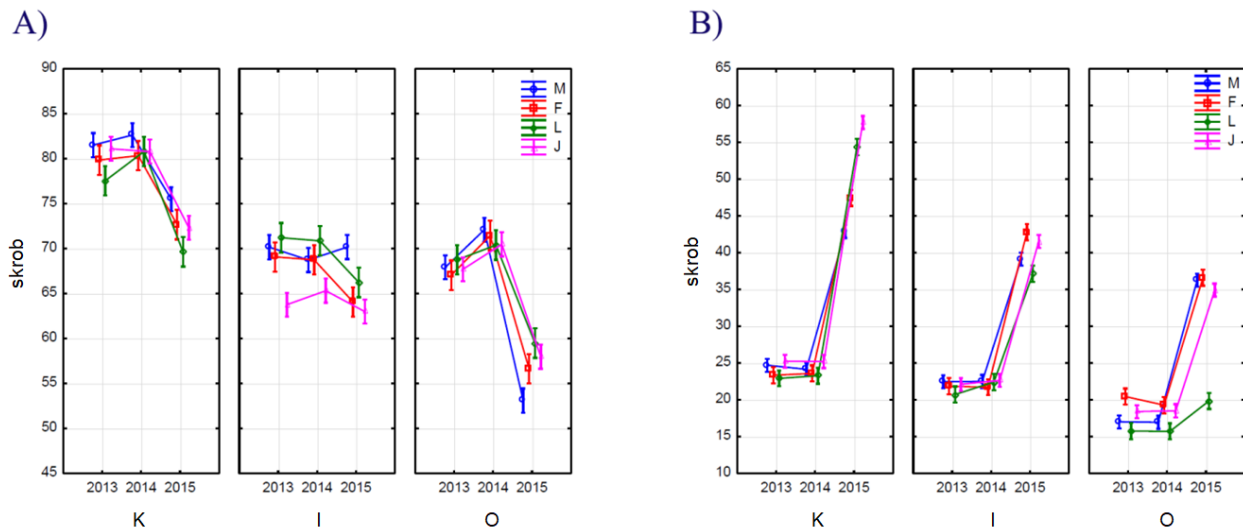
sorte krompira (Marabel (M), Red Fantasy (F), Laura (L) i Jelly (J)) i F_3 – predstavlja tri godine proizvodnje (2013, 2014. i 2015).

Sadržaj skroba u jezgru i kori krtola analiziran je zasebno, ali na isti način kao što je gore opisano, korišćenjem faktorske analize varijanse. Statistički parametri sa unapred definisanim nivoom značajnosti $p = 0,05$ sumirani su u tabeli 17. Svi faktori (načini proizvodnje, sorte krompira, godine proizvodnje) i njihove unakrsne sprege su statistički značajne, sa izuzetkom interakcije $F_2 \times F_3$ (Tabela 17). Uzimajući u obzir F vrednosti povezane sa svakim faktorom, može se zaključiti da godina proizvodnje i sistemi gajenja najviše utiču na sadržaj skroba i u koru i u jezgru krtola.

Prosečan sadržaj skroba u periodu od tri godine posmatran po načinima proizvodnje pokazuje da je najveći sadržaj skroba u kori i jezgru krtola zabeležen u konvencionalnom sistemu gajenja (33,0% i 78,1%, redno), zatim sledi integralni sistem (28,2% i 67,5%, redno), dok je najmanji sadržaj skroba identifikovan u uzorcima iz organskog sistema gajenja (22,7% i 65,2%, redno) (Slika 19a, b). To se može objasniti činjenicom da konvencionalni sistem gajenja zahteva ekstenzivnu primenu pesticida i đubriva, čime se obezbeđuje rast i razvoj krtola krompira što rezultira da gomolje u fazi pune zrelosti imaju povećan sadržaj suve supstance (Tein et al. 2014) koja se uglavnom sastoji od skroba (66–80%) (X. Q. Li et al. 2006). U integralnom sistemu gajenja količina pesticida i đubriva je smanjena, dok je u sistemu organskog ratarstva njihova upotreba zabranjena. Uz to, razlog što je u krtolima dobijenim organskom proizvodnjom manji sadržaj skroba leži u činjenici da biljka troši određenu količinu skroba za svoj rast i razvoj, jer se ne primenjuju đubriva. Stoga se skrob može smatrati važnim potencijalnim indikatorom načina proizvodnje (Lombardo, Pandino, and Mauromicale 2017).

Tabela 17. Univarijantni test značajnosti faktorskih efekata na sadržaj skroba u jezgru i kori krompira. Vrednosti za uzorake kore krtola krompira su podebljane. DF–stepen slobode; SS–zbir kvadrata; MS–srednji kvadrat. Faktori: F_1 – način proizvodnje: konvencionalni (K), integralni (I), organski (O); F_2 – sorte krompira: Marabel (M), Red Fantasy (F), Laura (L) i Jelly (J); F_3 –godina proizvodnje: 2013, 2014, 2015. Unapred definisana statistička značajnost je na $p = 0,05$. Svi prikazani rezultati su statistički značajni osim onih označenih sa „a“.

Faktor	DF	Skrob			
		SS	MS	F	p
Odsečak	1	426557,9	426557,9	318201,3	<0,001
		66924,12	66924,12	113767,8	< 0,001
F_1	2	2603,4	1301,7	971,0	< 0,001
		1569,74	784,87	1334,2	< 0,001
F_2	3	65,6	21,9	16,3	< 0,001
		172,61	57,54	97,8	< 0,001
F_3	2	1191,6	595,8	444,5	< 0,001
		7372,91	3686,46	6266,8	< 0,001
$F_1 \times F_2$	6	178,3	29,7	22,2	< 0,001
		248,93	41,49	70,5	< 0,001
$F_1 \times F_3$	4	352,7	88,2	65,8	< 0,001
		516,33	129,08	219,4	< 0,001
$F_2 \times F_3$	6	4,6	0,8	0,6	0,75 ^a
		103,58	17,26	29,3	< 0,001
$F_1 \times F_2 \times F_3$	12	110,2	9,2	6,8	< 0,001
		369,33	30,78	52,3	< 0,001



Slika 19. Grafički prikaz faktora MANOVA koji utiču na sadržaj skroba u uzorcima jezgra krtola krompira (A) i u kori (B) tokom trogodišnjeg perioda. Na y-osi je koncentracija skroba; godine proizvodnje i načini proizvodnje (K - konvencionalni, I - integralni, O - organski) su ucrtani na x-osu. Vertikalne linije označavaju intervale poverenja od 0,95. Sorte krompira: F – Red Fantasy, L – Laura, M – Marabel, J – Jelly.

Posmatrano po godini proizvodnje, statistički značajna razlika je zabeležena u sadržaju skroba, kako u kori krompira, tako i u jezgru krtola (Slika 19a, b). Sadržaj skroba u kori krtola je statistički različit u 2015. godini, dok između 2013. i 2014. godine nema razlike. Najveći prosečan sadržaj skroba u kori krtola zabeležen je u 2015. godini (41,1%), dok je manji sadržaj zabeležen u 2014. godini (21,4%), a zatim u uzorcima iz 2013. godine proizvodnje (21,3%). Ovo se može objasniti uzimanjem u obzir prinos krompira namenjenog tržištu. Sadržaj skroba u ljusci krtola je u negativnoj korelaciji sa tržišnim prinosom (2015 – 43,9 t/ha, 2014 – 45,2 t/ha, 2013 – 52,8 t/ha) (Gvozden 2016). Drugim rečima, veće krtole, koji ostvaruju veći tržišni prinos, imaju manji procenat skroba u kori zbog promene proporcija između zapremine i površine epidermisa, odnosno kore krtola.

Sa druge strane, sadržaj skroba u jezgru krtola ima suprotnu tendenciju u odnosu na sadržaj skroba u kori krompira (Slika 19a, b). Najmanji sadržaj skroba u jezgru zabeležen je u uzorcima iz 2015. godine (65,1%), dok je najveći sadržaj zabeležen u uzorcima iz 2014. (73,5%) i 2013. godine (72,1%), uzimajući u obzir sve sorte krompira i sisteme gajenja (načine proizvodnje). Ovaj trend se može objasniti činjenicom da je vegetativna sezona 2015. godine bila najtoplija. Visoke vrednosti srednjih dnevnih temperatura vazduha (srednja temperatura u julu mesecu 2015. iznosila je 24,6 °C, sa svega 22 mm padavina) i jaka suša veoma su negativno uticali na prinos suve materije, odnosno skroba u krtolama (Gvozden 2016). Visoke temperature tokom dana, a posebno tokom noći, u kombinaciji sa pojačanim intenzitetom sunčeve svetlosti mogu biti uzrok intenzivnije biosinteze skroba, njegovog prelaska iz jezgra, preko kore krtola u nadzemne delove biljke, gde se akumulira (Santacruz et al. 2004). Istovremeno, ovi parametri smanjuju procenat suve supstance, a samim tim i procenat skroba u jezgru krtola.

Posmatrajući i koru i jezgro krtola, uzorci iz 2013. godine su pokazali niži sadržaj skroba u odnosu na uzorke iz 2014. godine. Ovo je u skladu sa činjenicom da je 2013. bila sušna godina i da je temperatura vazduha u periodu kritičnom za razvoj krompira bila preko 23,0 °C (Gvozden 2016), što je znatno iznad optimalnog za rast i razvoj useva krompira. Ovako visoka temperatura u najkritičnijim fazama rasta i razvoja krompira značajno smanjuje prinose i snižava kvalitet krtola, posebno kada je temperatura zemljišta iznad 20,0 °C (Barkley 2005; Tadesse, Lommen, and Struik

2001). Na osnovu ovih rezultata se može konstatovati da je 2014. godina bila mnogo povoljnija za uzgoj useva krompira.

Posmatrano po sortama, najveći sadržaj skroba u kori krtola u trogodišnjem proseku imala je srednje kasna sorta bele boje pokožice Jelly (49,4%), zatim rana sorta bele boje pokožice Marabel (49,3%) i srednje rana sorta crvene boje pokožice Red Fantasy (49,3%), dok je najmanji sadržaj skroba u krtoli utvrđen kod srednje rane crvene sorte Laura (48,2%). Dakle, skrob može poslužiti i kao indikator botaničkog porekla, odnosno ukazuje na razlike između sorti i pokazatelj je dužine vegetacije, što znači da pokazuje razliku između kasnih i ranih sorti (Slika 19b). Najveći sadržaj skroba u kori krompira srednje kasne sorte Jelly rezultat je dužeg vegetacionog perioda i dugog perioda akumulacije organske, fotosintetske materije (Wolf, Marani, and Rudich 1991). S druge strane, sorte Marabel i Laura imaju najmanji sadržaj skroba u kori, što je u skladu sa činjenicom da su to sorte sa krupnim krtolama, a poznato je da krupnije krtole imaju niži sadržaj suve supstance, a time i niži sadržaj skroba (Wolf, Marani, and Rudich 1991).

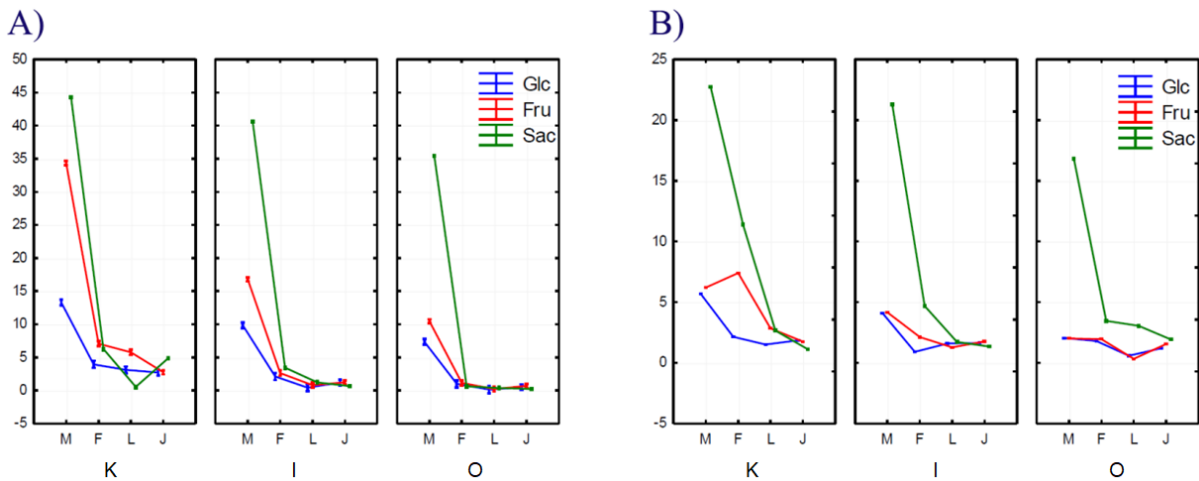
Statistički parametri multivarijantne analize varijanse za šećerne makrokomponente u uzorcima jezgra i kore krtola, sa unapred definisanim nivoom značajnosti $p = 0,05$, sumirani su u tabeli 18. Način proizvodnje, sorte krompira, godine proizvodnje i njihovi termini unakrsnog spajanja su statistički značajni. MANOVA statistički parametri pet najzastupljenijih šećernih mikrokomponenti u jezgru i kori krtola sumirani su u tabeli 18. Potpuni statistički izveštaj za svih 15 mikrokomponenti dat je u tabeli P2.

Kako bi se lakše sagledao uticaj faktora multivarijantne analize varijanse na sadržaj šećernih makrokomponentata (Glc, Fru i Sac) grafički je prikazana raspodela srednjih vrednosti i 95% interval poverenja (Slika 20a, b). Ispitivani faktori su imali značajan uticaj na sadržaj ova tri šećera kako u kori tako i u jezgru krtola. U ukupnom proseku, veći sadržaji su nađeni u jezgru krtola (Slika 20a), u poređenju sa korom (Slika 20b). Posmatrano po načinu proizvodnje, najveći sadržaj tri najzastupljenija šećera u krtolama identifikovan je u konvencionalnom sistemu, zatim sledi integralni sistem gajenja, dok je najmanji sadržaj glukoze, fruktoze i saharoze identifikovan u uzorcima iz organskog sistema gajenja (Slika 20a, b). Ovo je u skladu sa činjenicom da se kod većine sorti koje su proizvedene u organskom sistemu gajenja dobijaju krtole krompira pogodnije za preradu, jer krtole sadrže manje saharoze. Ovaj neredukujući šećer može se pretvoriti u redukujuće šećere i dovesti do stvaranja akrilamida (kancerogenog jedinjenja i neurotoksina) (De Wilde et al. 2006), putem Maillardove reakcije (Muttucumaru et al. 2015). Zbog toga je visok sadržaj glukoze i fruktoze kao redukujućih šećera u krompiru nepoželjna osobina (Haase 2007; Ohara-Takada et al. 2005; Sowokinos 2007).

Posmatrano po sortama, najveći sadržaji saharoze, glukoze i fruktoze, u trogodišnjem proseku u jezgru i u kori krtola, identifikovani su kod sorte Marabel. Sorta Red Fantasy je sadržala nešto manje, dok je najmanji sadržaj identifikovan kod sorti Laure i Jelly (Slika 20a, b). Ovi rezultati su u saglasnosti sa činjenicom da je sorta Jelly odabrana sa posebnom namerom da se koristi za industrijsku preradu. Rezultati MANOVE u slučaju sadržaja glukoze u jezgru potvrđuju postojanje statistički značajne razlike između sorte Marabel, sa jedne strane, i preostale tri sorte sa druge strane, kao i između Red Fantasy i ostalih sorti (Slika 20a). Na osnovu koncentracije glukoze nije utvrđena statistički značajna razlika između sorti Laura i Jelly (Slika 20a), ali činjenica da ove sorte imaju nizak sadržaj redukujućih šećera, čini ih veoma pogodnim za industrijsku preradu. Uzimajući u obzir koncentraciju glukoze u kori, kao i koncentracije saharoze i fruktoze kako u jezgru tako i u kori krtola, postoji statistički značajna razlika između sve četiri sorte krompira (Slika 20a, b). U skladu sa navedenim, ovi šećeri mogu poslužiti kao indikatori botaničkog porekla, kao i načina proizvodnje (sistema gajenja).

Tabela 18. Univarijantni test značajnosti uticaja faktorskih efekata na sadržaj šećernih makrokomponenti (Glc – glukoza, Fru – fruktoza, Sac – saharoza) u jezgru i kori krompira. Vrednosti za uzorake kore krtola krompira su podebljane. DF–stepen slobode; SS–zbir kvadrata; MS–srednji kvadrat. Faktori: F_1 – način proizvodnje: konvencionalni (K), integralni (I), organski (O); F_2 – sorte krompira: Marabel (M), Red Fantasy (F), Laura (L) i Jelly (J); F_3 –godina proizvodnje: 2013, 2014, 2015. Unapred definisana statistička značajnost je na $p = 0,05$. Svi prikazani rezultati (interakcije) su statistički značajni.

Faktor	DF	Glc				Fru				Sac			
		SS	MS	F	p	SS	MS	F	p	SS	MS	F	p
Odsečak	1	1246,84	1246,84	2921,61	<0,001	4220,42	4220,42	19734,86	<0,001	11519,39	11519,39	213279,40	<0,001
		377,23	377,23	473250,6	< 0,001	669,16	669,16	647850,00	< 0,001	5099,74	5099,74	804870,50	< 0,001
F_1	2	186,70	93,35	218,74	<0,001	1374,16	687,08	3212,81	<0,001	336,20	168,10	3112,30	<0,001
		27,63	13,81	17328,50	< 0,001	146,05	73,02	70699,50	< 0,001	151,60	75,80	11963,60	< 0,001
F_2	3	1381,24	460,41	1078,85	<0,001	6290,28	2096,76	9804,55	<0,001	27502,21	9167,40	169732,80	<0,001
		115,88	38,63	48460,60	< 0,001	130,59	43,53	42145,20	< 0,001	5803,33	1934,44	305305,40	< 0,001
F_3	2	466,04	233,02	546,01	<0,001	1727,54	863,77	4039,02	<0,001	3322,80	1661,40	30760,50	<0,001
		116,52	58,26	73090,10	< 0,001	240,22	120,11	116284,50	< 0,001	1151,11	575,55	90837,20	< 0,001
$F_1 \times F_2$	6	37,86	6,31	14,79	<0,001	1347,09	224,51	1049,84	<0,001	164,93	27,49	508,90	<0,001
		34,53	5,76	7220,10	< 0,001	81,15	13,52	13093,70	< 0,001	257,03	42,84	6761,00	< 0,001
$F_1 \times F_3$	4	57,41	14,35	33,63	<0,001	617,68	154,42	722,07	<0,001	161,01	40,25	745,30	<0,001
		40,62	10,15	12738,80	< 0,001	117,70	29,42	28487,30	< 0,001	216,39	54,10	8538,00	< 0,001
$F_2 \times F_3$	6	755,87	125,98	295,20	<0,001	3337,00	556,17	2600,66	<0,001	9170,47	1528,41	28298,30	<0,001
		233,95	38,99	48915,30	< 0,001	268,01	44,67	43246,10	< 0,001	5183,33	863,89	136343,90	< 0,001
$F_1 \times F_2 \times F_3$	12	68,67	5,72	13,41	<0,001	593,47	49,46	231,26	<0,001	590,70	49,22	911,40	<0,001
		64,56	5,38	6749,30	< 0,001	185,63	15,47	14976,50	< 0,001	298,28	24,86	3923,10	< 0,001



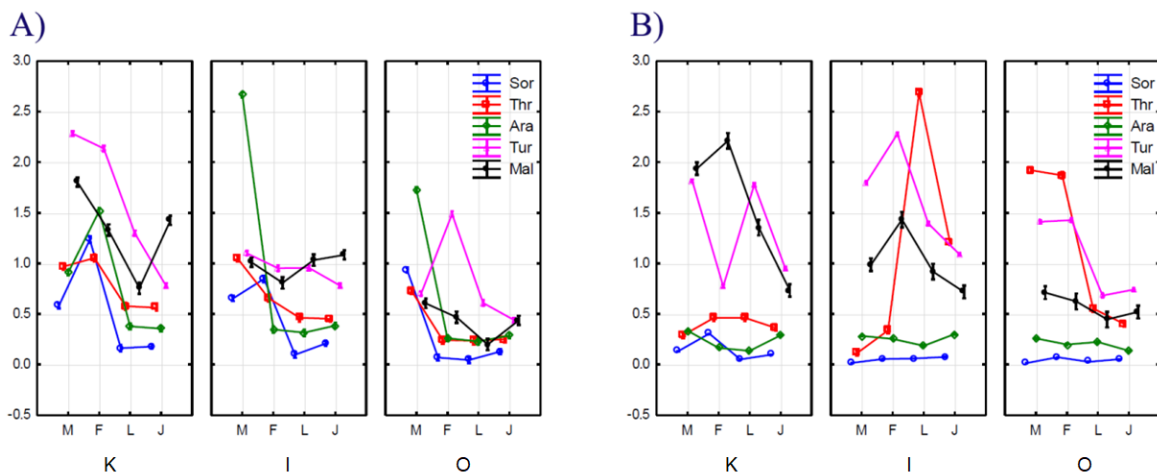
Slika 20. Grafički prikaz uticaja faktora MANOVA za šećerne makrokomponente: glukoza (Glc), fruktoza (Fru), saharoza (Sac) u uzorcima jezgra (A) i kore (B) krompira za trogodišnji period proizvodnje. Koncentracije šećera su prikazane na y-osi; sorte krompira (F – Red Fantasy, L – Laura, M – Marabel, J – Jelly) i sistemi gajenja (K – konvencionalni, I – integralni, O – organski) su prikazani na x-osi. Vertikalne linije označavaju intervale poverenja od 0,95.

Pored šećernih makrokomponenti, u uzorcima jezgra i kore krtola, identifikovani su sledeći šećeri u količinama od 0,3–6%: sorbitol, trehaloza, arabinoza, turanoza, galaktitol, galaktoza, ksiloza, melibioza, maltoza, gentiobioza, izomaltoza, izomaltotrioza, riboza, panoza i maltotrioza (Slika 18, Tabela P1). S obzirom na udeo ovih šećera u uzorcima, oni se smatraju mikrokomponentama. Analizom njihovog sadržaja u jezgru, rezultati MANOVE ukazuju da su svi mikrošećeri, osim panoze, doveli do statistički značajnih razlika među načinima proizvodnje (Tabela P2). Rezultati takođe ukazuju na postojanje statistički značajne razlike između koncentracija arabinoze, turanoze, galaktoze, maltoze i melibioze u uzorcima jezgra krompira i sorbitola, trehaloze, arabinoze, turanoze, izomaltoze, maltoze, panoze, riboze i gentiobioze u uzorcima kora krtola (Tabela P2). Iste šećerne mikrokomponente u kori, sa izuzetkom riboze, bile su glavni faktor za diferencijaciju načina proizvodnje.

Osim što su šećeri glavni izvor ugljenika i energije, šećerne mikrokomponente deluju i kao signalni molekuli koji regulišu mnoge razvojne, fiziološke procese u biljkama (Gonzali et al. 2005; Bolouri Moghaddam and Van den Ende 2013). U okviru ove disertacije poseban akcenat se stavlja na Sor, Tre, Ara, Tur i Mal pošto su, prema rezultatima MANOVE, ova jedinjenja dovela do statistički značajnih razlika između svih vrsta proizvodnje i sorti krompira (Tabela P3). Takođe, ovi šećeri imaju značajnu ulogu kao signalni molekuli u metabolizmu biljaka. Naime, usled temperaturnog šoka biljke, maltoza i trehaloza se akumuliraju u hloroplastima. Zbog toga su koncentracije maltoze i trehaloze veće u biljkama koje su bile podvrgnute temperaturnom stresu. Pored toga, treba imati u vidu da su sadržaji skroba i maltoze u pozitivnoj korelaciji, što znači da se, u slučaju da je biljka bila izložena niskim temperaturama (hladnom stresu), sadržaj maltoze i skroba povećava, a ako je biljka izložena visokim temperaturama (podvrgnuta vrućem stresu), sadržaj ovih šećera se smanjuje (Kaplan and Guy 2004). Ovo je u skladu sa činjenicom da se nivo skroba smanjuje na višim temperaturama jer se tada metabolizam biljaka ubrzava. Štaviše, trehaloza se može koristiti kao regulatorni molekul za rast biljkaka ako je u obliku trehaloza-6-fosfata i kao šećer za procenu vremena sazrevanja biljaka (Bolouri Moghaddam and Van den Ende 2013), dok turanoza utiče na rast semena (Gonzali et al. 2005). S druge strane, koncentracije alditola, sorbitola i manitola su u korelaciji sa tolerancijom biljke na stres, ali njihova akumulacija može da ukaže i na tolerantnost biljke na salinitet i nedostatak vode, odnosno sušu (Krasensky and Jonak 2012). Slično, arabinoza se može koristiti kao signalni molekul koji ukazuje na to koliki je stepen tolerancije biljke na sušu

jer je arabinoza važan deo ćelijskog zida biljke, a od fleksibilnosti zida zavisi nivo tolerancije biljke. Glavna komponenta ćelijskog zida biljke je i pektin - lanac ramnoze i galakturonske kiseline, dok se bočni lanci sastoje od arabinoze i galaktoze. Fleksibilnost lanca zavisi od bočnih lanaca i, ako je koncentracija arabinoze i galaktoze veća, zid postaje fleksibilniji i biljka otpornija na sušu (Moore, Farrant, and Driouich 2008).

U ukupnom proseku, sadržaj maltoze, turanoze i trehaloze je veći u uzorcima kore nego u uzorcima jezgra krompira, dok sadržaji arabinoze i sorbitola imaju suprotan trend (Slika 18, Slika 21a, b). Posmatrano po sistemima gajenja u trogodišnjem proseku, sadržaji maltoze, turanoze i sorbitola su najveći u konvencionalnom sistemu, nešto niže u integralnom i najniže u uzorcima iz organskog sistema gajenja. Sadržaj trehaloze i arabinoze je najveći u uzorcima iz integralnog sistema gajenja. Najmanji sadržaj trehaloze utvrđen je u konvencionalnom sistemu, dok je najmanje arabinoze identifikovano u organskom sistemu gajenja (Slika 21a, b).



Slika 21. Grafički prikaz uticaja faktora MANOVA za šećerne mikrokomponente: sorbitol (Sor), trehalozu (Tre), arabinozu (Ara), turanozu (Tur) i maltozu (Mal) u uzorcima jezgra (A) i kore (B) krompira tokom perioda proizvodnje od tri godine. Koncentracije šećera su prikazane na y-osi; sorte krompira (F – Red Fantasy, L – Laura, M – Marabel, J – Jelly) i sistemi gajenja (K – konvencionalni, I – integralni, O – organski) su prikazani na x-osi. Vertikalne linije označavaju intervale poverenja od 0,95.

Posmatrano po sortama krompira, sve navedene mikrokomponente dovele su do statistički značajnih razlika među njima. Ovo dokazuje da se mikrokomponente šećera mogu koristiti kao potencijalni indikatori botaničkog porekla zbog postojanja statistički značajnih razlika između varijeteta - sorti sa belim epidermisom (Marabel i Jelly) s jedne strane, i sorti sa crvenim epidermisom (Laura i Fantasy) sa druge. Pored toga, analiza sadržaja Mal, Tre, Tur, Sor i Ara pokazala je da se oni mogu koristiti kao indikatori različite dužine vegetacije. Na primer, sadržaj trehaloze može ukazati na određenu dužinu vegetacije, jer je najniža koncentracija ovog šećera izmerena u Jelly (0,41%), sorti koja se smatra kasnom sortom, dok su značajno veće koncentracije identifikovane u sortama Marabel, Laura i Fantasy (0,64%, 0,63% i 0,59%, redno), koje su rane i srednje rane sorte. Na osnovu koncentracija sorbitola i arabinoze, utvrđene su statistički značajne razlike između sorti Marabel i Fantasy, s jedne, i Laura i Jelly, s druge strane (Slika 21a, b). Najveća koncentracija ovih šećera izmerena je kod sorti Marabel i Fantasy (Sor - 0,85% i 0,96%, Ara - 1,07% i 0,48%, redno), što potvrđuje da su ove sorte otpornije na sušu i visoke temperature, jer Sor i Ara se mogu smatrati pokazateljima tolerancije biljaka na visoke temperaturne klimatske uslove. Niži sadržaji sorbitola i arabinoze izmereni su u uzorcima sorti Laura i Jelly (Sor - 0,16 i 0,27%, Ara - 0,25 i 0,30%, redno), što odgovara činjenici da ove sorte imaju nizak nivo redukujućih šećera, što još jednom potvrđuje činjenicu da su ove sorte pogodnije za industrijsku preradu.

4.7. Elementalna analiza – određivanje sadržaja makro- i mikroelemenata

U uzorcima jezgra i kore analiziranih krtola kvantifikovano je šesnaest elemenata, uključujući makro- (glavne) elemente (Ca, Mg i K) i mikroelemente (u tragovima) (As, Cd, Co, Cr, Cu, Hg, Mn, Ni, Pb, Se i Zn, u koje su uračunati Fe i Na zbog niže koncentracije u uzorcima u poređenju sa koncentracijama makroelemenata). Podaci su dati u obliku Excel tabele (Tabela P4), i predstavljaju srednju vrednost tri ponovljena merenja. Kalcijum, magnezijum i kalijum identifikovani su kao najzastupljenije komponente (makroelementi) kako u jezgru tako i u kori krtola, što se moglo očekivati pošto ovi elementi igraju glavnu ulogu u rastu i razvoju biljaka. Ostale komponente (mikroelementi) nađene su u tragovima što je u skladu sa postojećim istraživanjima (Tack 2014).

U cilju utvrđivanja značajnih izvora varijacije među načinima proizvodnje, dela gomolja (kora/jezgro) i sorti krompira i ukazivanja na to koji elementi i na koji način se mogu koristiti kao indikatori genotipova krompira i sistema gajenja, primenjena je MANOVA. Ona je izvedena korišćenjem opšteg linearnog modula, dela softvera Statistica. Kao zavisne varijable korišćene su koncentracije elemenata. Kao kategoričke nezavisne varijable (faktori) korišćeni su način, sorte i analizirani delovi (kora/jezgro) krompira. Model MANOVA koji uključuje odsečak, jednostavne linearne i interakcijske termine do trećeg reda, predstavljen je u sledećem obliku (jednačina 8):

$$Y_{j,k} = b_0 + b_1F_1 + b_2F_2 + b_3F_3 + b_{12}F_1F_2 + b_{13}F_1F_3 + b_{23}F_2F_3 + b_{123}F_1F_2F_3 \quad (8)$$

gde je Y_j koncentracija metala u jezgru, Y_k - koncentracija metala u kori, dok su faktori dati kao: F_1 – predstavlja tri načina proizvodnje (konvencionalni (K), integralni (I), organski (O)), F_2 – opisuje razlike između četiri sorte krompira (Marabel (M), Red Fantasy (F), Laura (L) i Jelly (J)) i F_3 – predstavlja deo krompira (jezgro i kora).

Ukupno 384 podatka za vrednost koncentracija metala su korišćena kao ulazni podaci za MANOVA proračune, dobijeni kao vrednost 24 koncentracije (3 vrste proizvodnje \times 4 sorte \times 2 dela krompira (jezgro i kora)) merene za svaku od 16 varijabli. Pre MANOVE nije urađen varijabilni predtretman.

Uzimajući u obzir sadržaj metala kao multivarijantne promenljive, značaj svakog od faktora je prvo testiran na multivarijantnom nivou (tj. uzimajući u obzir sve varijable istovremeno) korišćenjem nekoliko statističkih parametara (Pilajev trag, Hottelingov T2, Vilkssov lambda i Rojev najveći koren, Tabela P5).

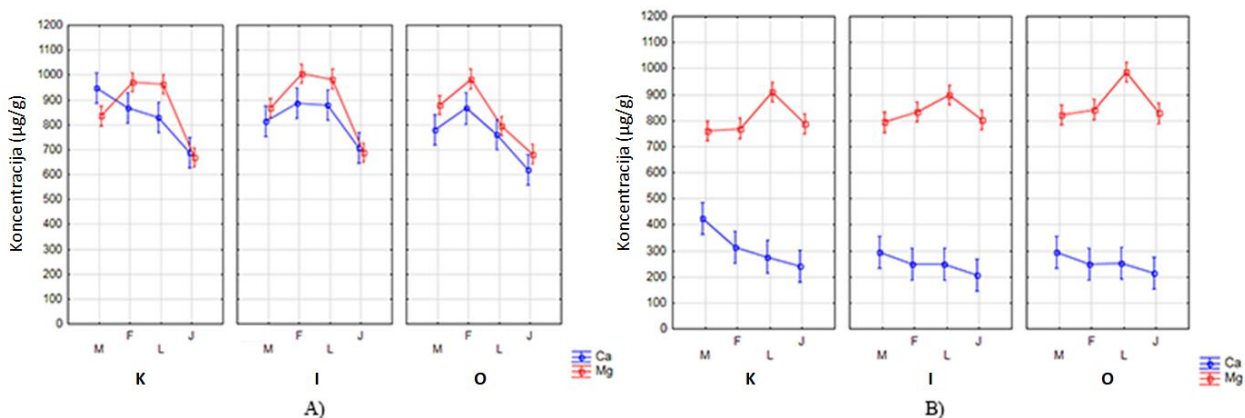
Nakon završetka prve faze MANOVE, uključujući svih 16 elemenata, zaključeno je da su svi faktori i njihove interakcije pokazali značajnost na $p = 0,05$, s obzirom na sve multivarijantne mere i zadržani su za dalje istraživanje na univarijantnom nivou (druga faza MANOVE). Nakon univarijantnih testova zaključeno je da selen (Se) ne pokazuje statistički značajnu razliku ni po jednom testiranom faktoru, dok su arsen (As) i živa (Hg) u većini uzoraka ispod granice detekcije (Tabela P4), tako da je konačno odabrano 13 elemenata za dalje razmatranje. Treća faza MANOVE uključivala je testiranje varijanse homogenosti pomoću Levenovog testa i *post hoc* testova za poređenje faktorskih sredina korišćenjem Tukey-ovog HSD i Fišerovog LSD testa sa unapred definisanom značajnošću $p = 0,05$. Uslov homogenosti varijanse je zadovoljen kod većine faktora i za sve ispitivane elemente nisu uočena značajna odstupanja reziduala od normalne raspodele. U četvrtoj fazi testirana je distribucija normalnosti reziduala kako bi se osiguralo da model pokriva sve relevantne informacije.

Da bi se rezultati poređenja srednjih vrednosti prikazali na uočljiviji način, elementi su, osim podele na makro- i mikroelemente, dalje podeljeni u pet grupa, prema sličnosti njihovih koncentracija u kori i jezgru krtola. Prvu grupu čine makronutrijenti Ca i Mg (čije su prosečne koncentracije od 538

$\mu\text{g/g}$ do $848 \mu\text{g/g}$), a drugu grupu čini K, koji ima prosečnu koncentraciju $15,266 \text{ mg/g}$. Treću, četvrtu i petu grupu čine elementi u tragovima uključujući gvožđe i natrijum (grupa III – Cd, Co i Cr, sa prosečnim koncentracijama $0,114 - 0,652 \mu\text{g/g}$; grupa IV – Mn, Ni i Pb sa srednjim koncentracijama u rasponu od $1,307 \mu\text{g/g}$ do $7,089 \mu\text{g/g}$, grupa V - Cu, Fe, Zn i Na, sve u rasponu prosečnih koncentracija od $15,471 - 146,673 \mu\text{g/g}$). Rezultati poređenja srednjih vrednosti su dati i kao grafički prikaz aritmetičkih sredina i 95% intervala poverenja.

Statistički parametri MANOVE za makroelemente u jezgru i kori krtola, sa unapred definisanim nivoom značajnosti $p = 0,05$, sumirani su u tabeli P6. Način proizvodnje, sorte krompira i deo krompira, njihovi termini unakrsne sprege su statistički značajni. MANOVA statistički parametri devet istaknutih mikroelemenata uključujući i gvožđe i natrijum u jezgru i kori krtola sumirani su u tabeli P7.

U cilju lakšeg sagledavanja uticaja ispitivanih faktora na sadržaj makro komponentata (Ca i Mg) prikazane su srednje vrednosti i 95% intervali poverenja na Slici 22a, b. Ispitivani faktori su značajno uticali na sadržaj ova dva elementa kako u kori tako i u jezgru krtola. Ukupno, veći sadržaj ova dva elementa je pronađen u kori (Ca: $0,80 \text{ mg/g}$; Mg: $0,86 \text{ mg/g}$) (Tabela P4, Slika 22a), u poređenju sa jezgrom (Ca: $0,27 \text{ mg/g}$; Mg: $0,84 \text{ mg/g}$) (Tabela P4, Slika 22b). Pored toga, primećeno je da je sadržaj Ca značajno manji u uzorcima jezgra krompira u odnosu na koru (Slika 22) što je posledica manje pokretljivosti kalcijuma u odnosu na magnezijum (Senbayram et al. 2015; Subramanian et al. 2011). Naime, smatra se da se kalcijum transportuje vodom u ksilemu i da se kretanje Ca od korena do izdanka odvija uglavnom putem protoka mase u procesu transpiracije. U skladu sa tim se može objasniti nedostatak Ca kod biljaka sa niskim stepenom transpiracije, kao što su gomolje *S. tuberosum*. Iako se pokazalo da koren na krtolama i stolonima snabdeva krtole vodom, ne postoje direktni dokazi za put transporta kalcijuma do krtola (Busse and Palta 2006). Dodatno, razlog smanjene pokretljivosti Ca leži u činjenici da se joni kalcijuma vezuju za pektine koji su neophodni za jačanje ćelijskog zida (Subramanian et al. 2011) i na taj način Ca poboljšava stabilnost membrane i utiče na otpornost krompira na stres okoline, uključujući toplotu i infekciju mikrobima i nematodama (Subramanian et al. 2011; Busse and Palta 2006).



Slika 22. Uticaj faktora MANOVA na sadržaj makroelemenata: Ca i Mg u kori krompira (A) i u jezgru (B) za trogodišnji period proizvodnje. Koncentracije ($\mu\text{g/g}$) elemenata Ca i Mg su nanete na y-osu; sorte krompira (F – Red Fantasy, L – Laura, M – Marabel, J – Jelly) i sistemi gajenja (K – konvencionalni, I – integralni, O – organski) su ucrtani na x-osu. Vertikalne linije označavaju intervale poverenja od 0,95.

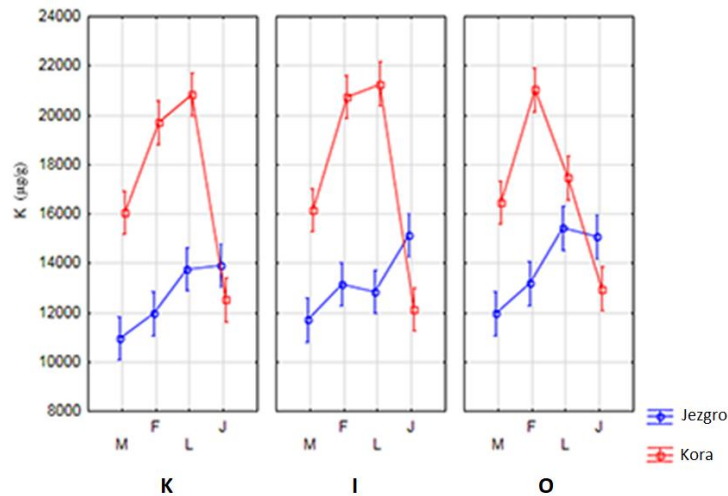
Za razliku od Ca, Mg ima daleko veću pokretljivost i lako se transportuje do aktivnih rastućih delova biljkaka u kojima je potrebno formiranje hlorofila, aktiviranje enzima za biosintezu proteina i izvoz floema fotosintata kako bi se obezbedio vegetativni i generativni rast (Senbayram et al. 2015). Ovime se može objasniti visoka koncentracija Mg u jezgru krtola (Slika 22, Tabela P4). Addiscott je pokazao da povećana koncentracija K izaziva preusmeravanje Mg u podzemne delove biljke (krtole) što je dodatno objašnjenje visoke koncentracije Mg u gomolji.

Pomenuti makroelementi u jezgru i kori krtola bili su glavni faktor za diferencijaciju sorti krompira i načina proizvodnje. Posmatrano po sortama, najveći sadržaj Ca u krtolama u trogodišnjem proseku utvrđen je kod rane sorte bele boje pokožice - Marabel (1,19 mg/g), zatim rane sorte crvene boje pokožice - Red Fantasy (1,14 mg/g) i Laura (1,08 mg/g), dok je najmanji sadržaj Ca u krtoli utvrđen kod kasne sorte bele boje pokožice - Jelly (0,89 mg/g). Najveći sadržaj Mg u krtolama u trogodišnjem proseku utvrđen je kod sorte Laura (1,85 mg/g), zatim Red Fantasy (1,80 mg/g) i Marabel (1,65 mg/g), dok je najmanji sadržaj Mg identifikovan kod sorte Jelly (1,48 mg/g). Dakle, Ca i Mg mogu poslužiti i kao indikatori genotipova krompira, odnosno ukazuju na razlike između sorti i kao indikatori vremena berbe, što znači da pokazuje razliku između kasnih i ranih sorti (Slika 22). Najmanji sadržaj Ca i Mg u krtolama krompira srednje kasne sorte Jelly rezultat je produženog vegetacionog perioda i dugog perioda akumulacije organske materije - pektina, lignina i organskih kiselina - koje vezuju kalcijum u komplekse u biljnim tkivima (Subramanian et al. 2011) i molekula hlorofila gde Mg igra ulogu centralnog atoma u kompleksu hloroplasta koji apsorbuje svetlost. Zbog toga kasne sorte imaju manji sadržaj Ca i Mg. S druge strane, Marabel i Laura su sorte sa krupnim krtolama, a poznato je da krupnije krtole imaju manji sadržaj suve supstance, manji sadržaj skroba i organske supstance (Dramićanin et al. 2018), a samim tim i nizak stepen akumulacije Ca (Subramanian et al. 2011). Stoga se veći sadržaj ukupanog Ca u ove dve sorte može objasniti većim sadržajem slobodnog Ca u njima (Subramanian et al. 2011). Takođe, sadržaj Mg ukazuje na razliku između crvenih i belih sorti. Veća koncentracija Mg je u crvenim sortama, što može biti povezano sa nižom koncentracijom skroba u njima (Dramićanin et al. 2018; Gerendás and Führs 2013).

Po načinu proizvodnje najveći prosečni sadržaj Ca u kori i jezgru krtola identifikovan je u konvencionalnom sistemu (0,83 mg/g i 0,31 mg/g, redno), a zatim u integralnom sistemu (0,82 mg/g i 0,25 mg/g, redno), dok je najniži sadržaj Ca identifikovan u uzorcima iz organskog sistema gajenja (0,76 mg/g i 0,25 mg/g, redno) (Tabela P4, Slika 22). Objašnjenje za to leži u činjenici da konvencionalni sistem gajenja zahteva ekstenzivnu primenu pesticida i đubriva na bazi kalcijumovih soli, što obezbeđuje razvoj i rast biljaka krompira (Busse and Palta 2006). S druge strane, primena velikih količina đubriva na bazi kalijumovih ili amonijačnih soli često povećava rizik od nedostatka Mg. Visoke koncentracije ovih katjona u zemljištu ometaju unos Mg u biljke (Senbayram et al. 2015). Ovim se može objasniti zašto je sadržaj Mg u uzorcima kore i jezgra krtola niži u konvencionalnom sistemu, a zatim sledi integralni i organski sistem gajenja (Tabela P4).

Pored Ca i Mg, K je jedan od glavnih hranljivih sastojaka, neophodan za rast i razvoj biljaka. Kalijum igra važnu ulogu u održavanju tonusa, bujnosti i efikasnosti rasta krompira, i važan je hranljivi sastojak biljke te stoga utiče na kvalitet krtola krompira. Ima jednu od glavnih uloga u fiziološkim procesima biljke poboljšavajući kvalitet gomolja i omogućavajući lakšu preradu krompira, povećava otpornost krtola na povrede i utiče na koncentraciju suve supstance (Ashley, Grant, and Grabov 2006). Kao što je navedeno u dosadašnjim istraživanjima, K je zastupljeniji u kori krompira u odnosu na uzorke jezgra (Sowokinos 2007) što je potvrđeno i u okviru ove disertacije (Tabela P4, Slika 23). Postoji pozitivna korelacija između koncentracija kalijuma i magnezijuma, dok su s druge strane K i Ca antagonisti (Senbayram et al. 2015). Prosečan sadržaj K u krompiru varira između 2,6% i 3,6% u zavisnosti od sorte (Gvozden 2016). U tom smislu, sadržaj K se može koristiti kao specifičan indikator genotipa krompira, odnosno kao indikator dužine

vegetacije. Konkretno, pokazano je da postoji statistički značajna razlika između crvenih (Red Fantasy i Laura) i belih sorti (Marabel i Jelly), kao i između kasnih i ranih sorti (Slika 23).



Slika 23. Uticaj faktora MANOVA na sadržaj makroelementa kalijuma u kori krompira i u jezgru za trogodišnji period proizvodnje. Koncentracije K ($\mu\text{g/g}$) su nanete na y-osu; sorte krompira (F – Red Fantasy, L – Laura, M – Marabel, J – Jelly) i sistemi gajenja (K – konvencionalni, I – integralni, O – organski) su ucrtani na x-osu. Vertikalne linije označavaju intervale poverenja od 0,95.

Najveća koncentracija K izmerena je u uzorcima jezgra kasne bele sorte Jelly ($14,71 \text{ mg/g}$), dok je u uzorcima kore iste sorte koncentracija K bila najniža ($12,54 \text{ mg/g}$). To odgovara činjenici da je Jelly kasna sorta, zbog čega se K, kao mineral visoke pokretljivosti (Busse and Palta 2006) prenosi iz površinskih slojeva u unutrašnjost krtole. Veće koncentracije K u jezgru krtola izmerene su kod rane sorte Marabel ($27,76 \text{ mg/g}$), zatim kod crvenih ranih sorti Red Fantasy ($33,25 \text{ mg/g}$) i Laura ($33,87 \text{ mg/g}$). Najveće količine K izmerene su u uzorcima kore crvenih krtola. Veća koncentracija K u uzorcima crvene sorte može se objasniti korelacijom između sadržaja suve supstance i koncentracije skroba sa K jer što je manja koncentracija suve supstance i skroba, veća je koncentracija K (Dramićanin et al. 2018; Ashley, Grant, and Grabov 2006).

Slično kao i kod Ca i Mg, koncentracija K u uzorcima zavisi od načina proizvodnje krompira. Najveća koncentracija K izmerena je u uzorcima iz organske proizvodnje ($30,89 \text{ mg/g}$), zatim u uzorcima iz integralne ($30,78 \text{ mg/g}$), dok je najniža koncentracija izmerena u uzorcima dobijenim u konvencionalnom sistemu gajenja ($29,92 \text{ mg/g}$). Specifični K-transportni sistemi u ćelijama korena razvijeni su u biljkama kako bi se obezbedilo dovoljno unosa K (Senbayram et al. 2015). Međutim, status kalijuma u biljci može biti dodatno pogoršan u prisustvu visokih koncentracija drugih jednovalentnih katjona kao što su Na^+ i NH_4^+ koji su sastavni deo đubriva i ometaju unos kalijuma (Ashley, Grant, and Grabov 2006). Pošto je upotreba đubriva tipična za konvencionalnu proizvodnju, time se može objasniti niža koncentracija K u uzorcima proizvedenim na ovaj način.

Osim makroelemenata, u jezgru i u korama krtola, kvantifikovani su sledeći mikroelementi: Cd, Co, Cr, Mn, Ni, Pb, Cu, Zn uključujući Fe i Na (Tabela P4). Koncentracija ovih mikronutrijenata zavisi od pH vrednosti zemljišta, redoks potencijala, kapaciteta izmene katjona, aktivnosti mikroba, strukture zemljišta, organske supstance i sadržaja vode (White and Broadley 2009). Koncentracije se povećavaju kako se pH smanjuje (Mengel et al. 2001; Tack 2014). Zemljište na kojem su vršena ogledna ispitivanja pripada tipu aluvijuma. Po agrohemijским svojstvima ovo zemljište pripada

kiselim zemljištima, sa pH vrednošću od 6,50 do 5,22 (Gvozden 2016). U tom pH opsegu mikroelementi (teški metali) su često prisutni u zemljišnom rastvoru kao organski kompleksi, koji igraju važnu ulogu u transportu ovih metala u zemljištu, a zatim u biljci (Mengel et al. 2001), ili kao slobodni joni, ili joni adsorbovani na mineralne ili organske površine, kao rastvorena jedinjenja ili precipitati (White and Broadley 2009). Ukupni prosečni sadržaj svih ovih mikroelemenata, uključujući Fe i Na, je veći u uzorcima kore nego u uzorcima jezgra krtola (Tabela P4, Slika 24), te se može reći da kora deluje kao selektivni filter za određene metale i sprečava njihovo kretanje kroz krtole (Angelova et al. 2010) što je posebno važno u slučaju teških metala.

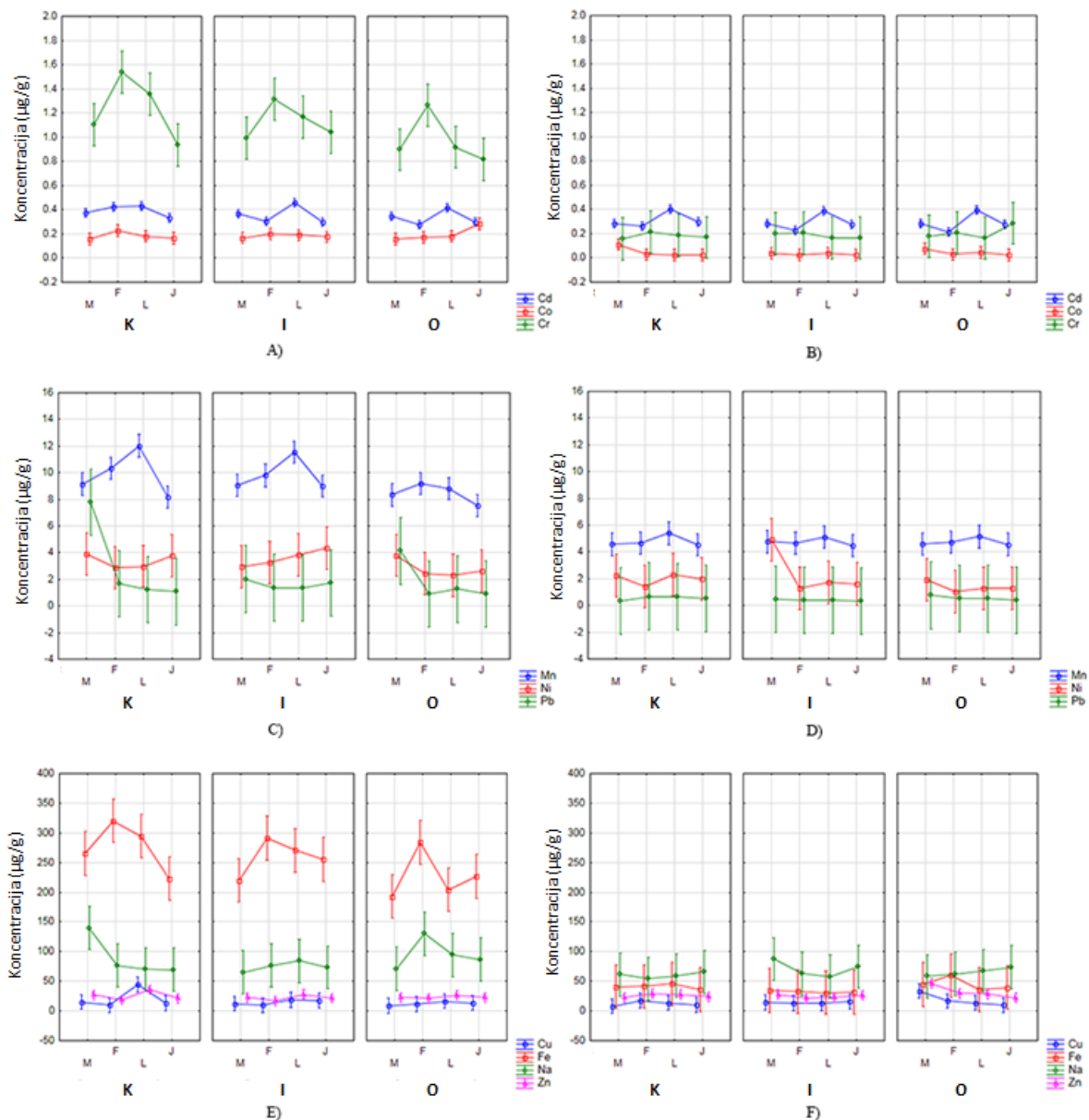
Kao što je već pomenuto, da bi se olakšala interpretacija rezultata, mikroelementi su podeljeni u tri grupe. Prva se sastoji od Co, Cd i Cr. Veća koncentracija ovih elemenata je u kori u odnosu na jezgro (Slika 24A i 24B) što se može objasniti činjenicom da je pokretljivost ovih elemenata (Co, Cr) veoma mala (Mengel et al. 2001). Drugo moguće objašnjenje je da se elementi poput Cd lako prenose iz gomolja u gornje delove biljke (Reid, Dunbar, and McLaughlin 2003). Neka istraživanja pokazuju da Co nije lako pokretljiv jer se javlja pretežno u kristalnim rešetkama feromagnezijumskih minerala i kao takav nije dostupan biljkama. Ali, nakon oslobađanja iz ovih minerala, Co^{2+} se nalazi u izmenjenom obliku ili kao kompleks i to se odražava u većoj dostupnoj količini Co. Sa druge strane, Cr se obično javlja u relativno nerastvornim jedinjenjima. $FeCr_2O_4$ ili Cr^{3+} se čvrsto vezuju za organsku supstancu. Iz tog razloga, translokacija Cr iz zemljišta u biljke je generalno beznačajna (Mengel et al. 2001), dok se Cd lako translocira preko tonoplasta pomoću protonskog antiporta do vakuola gde se akumulira (Wang et al. 2015). Takođe, u nekim studijama je uočeno da je mehanizam transporta kobalta kroz membrane biljaka nepoznat, ali je utvrđeno da je koncentracija Co bila mnogo veća u kasnoj fazi rasta biljaka (Mengel et al. 2001). Ovo potvrđuju rezultati ove disertacije, gde je koncentracija Co veća u uzorcima kasne sorte Jelly (0,23 $\mu\text{g/g}$) u poređenju sa ranim sortama (Tabela P4, Slika 24). Za razliku od Co, koncentracija Cd je najniža u Jelly sorti (0,59 $\mu\text{g/g}$), što se može objasniti dužim vremenom vegetacije ove sorte što dovodi do prenošenja Cd u gornje delove biljke, odnosno napuštanje prizemnog dela biljke (Wang et al. 2015). Na razliku u sortama ukazuje i Cr činjenicom da je njegova koncentracija veća u uzorcima crvenih sorti krompira (Red Fantasy – 1,58 $\mu\text{g/g}$ i Laura – 1,32 $\mu\text{g/g}$) u odnosu na sorte bele boje pokožice (Marabel – 1,18 $\mu\text{g/g}$ i Jelly – 1,14 $\mu\text{g/g}$). Pored toga, koncentracije Cd, Cr i Co mogu se koristiti kao indikatori načina proizvodnje krompira. Naime, koncentracije Cd i Cr su najniže u uzorcima proizvedenim u sistemu organske poljoprivrede (0,87 $\mu\text{g/g}$ i 1,18 $\mu\text{g/g}$, redno), a najveće u konvencionalnom sistemu (1,00 $\mu\text{g/g}$ i 1,41 $\mu\text{g/g}$, redno). To se može objasniti činjenicom da je glavni faktor kontaminacije zemljišta, a samim tim i useva, hromom i kadmijumom korišćenje komercijalnih fosfatnih đubriva koja mogu da sadrže različite količine ovih metala. Postoje indicije da su nivoi Co i Cd približno udvostručeni u nekim oblastima za koje se smatra da su uglavnom posledica đubrenja fosfatom. Korišćenjem organskih („prirodnih“) đubriva sa manjim unosom Cr i Cd u zemljište, pretpostavlja se da organski uzgojeni usevi sadrže niže nivoe Cd u poređenju sa konvencionalnim poljoprivrednim proizvodima (Jorhem and Slanina 2000; Mengel et al. 2001). Koncentracija Co je bila veća u uzorcima krompira proizvedenim u organskom načinu proizvodnje.

Slično Co, Cd i Cr, druga grupa mikroelemenata, Mn, Pb i Ni, takođe se može koristiti kao potencijalni indikator načina proizvodnje, genotipova krompira i dužine vegetacije. Njihova koncentracija je takođe veća u uzorcima kore u poređenju sa jezgrom krtola (Slika 24C i 24D; Tabela P4). Najveće koncentracije Mn i Pb izmerene su kod ranih sorti (Marabel - 13,50 $\mu\text{g/g}$ i 2,66 $\mu\text{g/g}$, Red Fantasy - 14,45 $\mu\text{g/g}$ i 1,85 $\mu\text{g/g}$ i Laura - 16,01 $\mu\text{g/g}$ i 1,80 $\mu\text{g/g}$, redno), dok su najniže koncentracije ovih elemenata bile u uzorcima kasne sorte – Jelly (12,76 $\mu\text{g/g}$ Mn i 1,64 $\mu\text{g/g}$ Pb). Mangan i nikel, s druge strane, ukazuju na razlike u crvenim i belim sortama. Sadržaj Mn je veći u crvenim u odnosu na bele sorte, dok Ni pokazuje suprotnu tendenciju (Slika 24C i 24D; Tabela P4). Koncentracija sva tri elementa je najniža u uzorcima organskog krompira, a veća u uzorcima proizvedenim u integralnoj i konvencionalnoj proizvodnji (Tabela P4). Ovo se može objasniti činjenicom da nivoi (koncentracije) ovih metala imaju tendenciju da rastu usled čestue upotrebe

stajnjaka, đubriva i pesticida (Hariri et al. 2015). Mangan pokazuje statistički značajnu razliku između načina proizvodnje (Tabela P7) i značajno više Mn je detektovano na đubrenim parcelama, što je tipično za integralnu i konvencionalnu proizvodnju, u poređenju sa neđubrenim parcelama (tipično za organsku proizvodnju) za sve sorte (Mansour et al. 2009).

Treću grupu elemenata u tragovima čine Cu i Zn, uključujući Fe i Na. Iako se visoke koncentracije Fe, Zn, Na i Cu javljaju u mnogim zemljištima, fitodostupnost ovih mineralnih elemenata je često ograničena svojstvima zemljišta. Visoka pH vrednost je jedan od glavnih ograničavajućih faktora fitodostupnosti ovih elemenata. Takođe, efikasnost usvajanja hraniva zavisi od nasledne osnove biljnih kultura. To je razlog zašto su krtole često loši izvori Fe i Na i zašto je koncentracija ovi metala obično veoma niska (White and Broadley 2009; Kachout et al. 2012) pa se oni mogu svrstati u grupu mikroelemenata. S druge strane, koncentracije treće grupe elemenata su veće u uzorcima kore krompira u odnosu na jezgro (Slika 24E i 24F). Bakar se u biljci apsorbira u veoma malim količinama zbog čega je njegova koncentracija u većini biljnih vrsta niska, a sam mehanizam apsorpcije Cu još uvek nije razjašnjen (Mengel et al. 2001). Opseg koncentracije Cu u uzorcima krompira, obuhvaćenim ovom disertacijom, je od 24 µg/g do 31 µg/g (Tabela P4). Izmerene su veće koncentracije Cu u uzorcima ranih sorti (Marabel – 30,81 µg/g, Red Fantasy – 26,24 µg/g i Laura – 31,81 µg/g), u odnosu na kasnu sortu (Jelly – 24,57 µg/g), dok je kod sadržaja Na trend obrnut (Marabel – 0,13 mg/g, Red Fantasy – 0,14 mg/g, Laura – 0,14 mg/g i Jelly – 0,15 mg/g). Međutim, ove razlike nisu statistički značajne, pa se Cu i Na ne mogu koristiti kao indikatori dužine vegetacije. S druge strane, razlike u koncentracijama Fe i Zn su statistički značajne (Tabela P7). Izmerene su veće koncentracije Fe u uzorcima crvenih sorti krompira Red Fantasy (0,34 mg/g) i Laura (0,29 mg/g) u odnosu na Marabel (0,27 mg/g) i Jelly (0,27 mg/g). Razlog je činjenica da su sorte crvenog krompira bogatije fenolnim kiselinama (Lei et al. 2014) koje su sposobne da mobilizuju Fe iz minerala u zemljištu koje biljka preuzima i tako eksploatiše zemljište (Mengel et al. 2001). Najveća koncentracija Zn izmerena je u uzorcima sorte Laura (56,51 µg/g), zatim Marabel (56,46 µg/g) i Red Fantasy (45,71 µg/g). Najmanja koncentracija Zn je u kasnoj sorti Jelly (43,78 µg/g). Ovo ukazuje na mogućnost korišćenja Fe i Zn kao indikatora dužine vegetacije.

U pogledu načina proizvodnje, veća koncentracija Cu uočena je u uzorcima krompira proizvedenim u sistemu organskog gajenja. Sličan trend je uočen i nakon analize sadržaja Na i Zn, gde je njihova koncentracija takođe bila veća u uzorcima iz organske proizvodnje, dok je koncentracija Fe niža u uzorcima iz organske, ali viša u uzorcima iz konvencionalne proizvodnje (Tabela P4). Međutim, upotreba ovih elemenata kao indikatora načina proizvodnje nije adekvatna jer ne postoji statistički značajna razlika između koncentracija ovih elemenata u uzorcima proizvedenim u različitim proizvodnim sistemima.

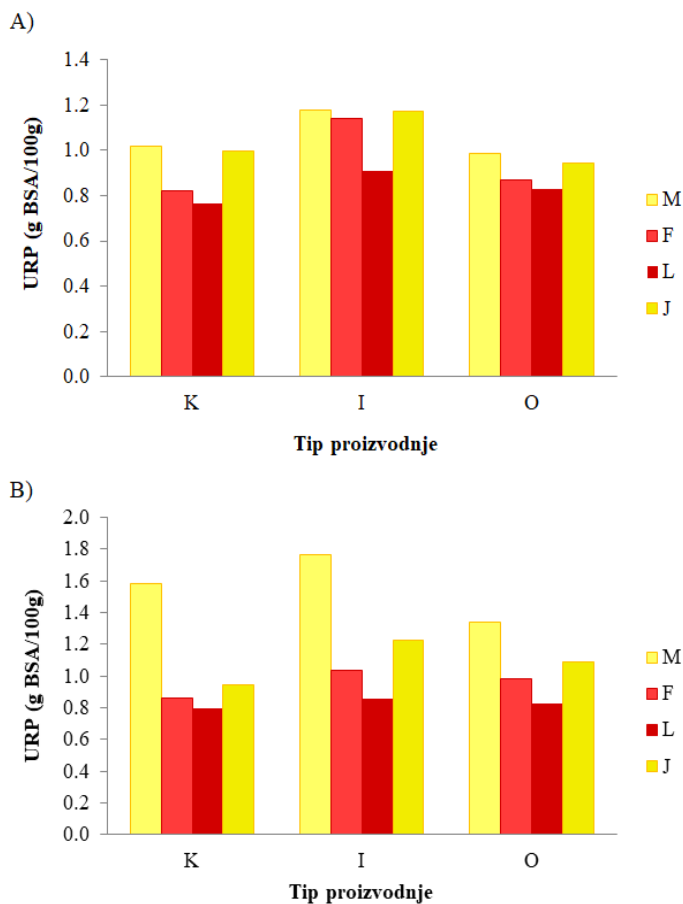


Slika 24. Uticaj faktora MANOVA na sadržaj mikroelementa Cd, Co i Cr u uzorcima kore (A) i jezgra (B) krompira, Mn, Ni i Pb u kori krompira (C) i u jezgru (D), i Cu, Fe, Na i Zn u uzorcima kore (E) i jezgra (F) za trogodišnji period proizvodnje. Koncentracije elemenata (µg/g) su nanete na y-osu; sorte krompira (F – Red Fantasy, L – Laura, M – Marabel, J – Jelly) i sistemi gajenja (K – konvencionalni, I – integralni, O – organski) su ucrtani na x-osu. Vertikalne linije označavaju intervale poverenja od 0,95.

4.8. Određivanje sadržaja ukupnih ekstraktibilnih (rastvorljivih) proteina i SDS poliakrilamidna gel elektroforeza (SDS-page)

Sadržaj ukupnih ekstraktibilnih (rastvorljivih) proteina

Sadržaj ukupnih rastvorljivih proteina (URP) je određen prema Bradfordovoj metodi. Sadržaj ekstraktibilnih proteina je određen korišćenjem jednačine prave dobijene na osnovu prethodno pripremljene i snimljene standardne serije rastvora BSA, a rezultati su izraženi kao g ekvivalent BSA na 100 g uzorka jezgra odnosno kore krompira (Tabela 19, Slika 25). Sadržaj URP je veći u uzorcima jezgra četiri sorte krompira iz tri sistema gajenja ($1,11 \pm 0,33$) u poređenju sa sadržajem ukupnih rastvorljivih proteina u uzorcima kore krtola ($0,97 \pm 0,18$) (Tabela 19, Slika 25). Fridmanovim testom i Vilkoksonovim testom ranga, proverena je mogućnost korišćenja sadržaja URP kao potencijalnog pokazatelja genetskih razlika među sortama krompira i uticaj sistema gajenja (proizvodnje) na akumulaciju proteina u krtolama. Rezultati neparametrijskih testova u okviru ove disertacije pokazuju da između načina proizvodnje postoji statistički značajna razlika na osnovu sadržaja URP, i da se integralni način proizvodnje razlikuje od organskog i konvencionalnog sistema gajenja krtola krompira (Tabela 20). Naime, najveći sadržaj URP određen je kod uzoraka iz integralnog sistema gajenja (2,31 g BSA/100 g), zatim kod uzoraka iz organskog sistema gajenja (1,97 g BSA/100 g), dok je najmanji sadržaj URP u krtolama utvrđen kod uzoraka iz konvencionalnog sistema gajenja (1,95 g BSA/100 g) (Tabela 19, Slika 25). Ovakvi rezultati su u saglasnosti sa dosadašnjim istraživanjima (Lehesranta et al. 2007; Wichrowska and Szczepanek 2020), koja tvrde da je u krtolama krompira koje rastu u uslovima povećanog stresa usled nedovoljnog snabdevanja hranljivim supstancama povećana zastupljenost, odnosno akumulacija velikog broja proteina koji su uključeni u razgradnju drugih makromolekula i u aktiviranje hidrolitičkih reakcija kao odgovor na pomenuti stres (Zörb et al. 2006).



Takođe, neparametrijski testovi ukazuju i da je razlika između sorti krompira statistički značajna (Tabela 20, Slika 25). Naime, najveći sadržaj URP je određen kod uzoraka rane bele sorte Marabel (2,62 g BSA/100 g) i kasne bele sorte Jelly (2,12 g BSA/100 g), zatim nešto niži sadržaj URP kod uzoraka srednje rane crvene sorte Red Fantasy (1,90 g BSA/100 g) i najniži kod srednje rane crvene sorte Laura (1,66 g BSA/100 g). Viši sadržaj ukupnih rastvorljivih proteina kod belih sorti Marabel i Jelly, ukazuju da ove sorte imaju veću otpornost na stresne uslove u pređenju sa ranim crvenim sortama Red Fantasy i Laura (Lehesranta et al. 2007; Wichrowska and Szczepanek 2020).

Slika 25. Sadržaj ukupnih rastvorljivih proteina (g BSA/100 g) u uzorcima kore (A) i jezgra (B) četiri sorte krompira (M - Marabel, F - Red Fantasy, L - Laura, J - Jelly) proizvedenim u tri sistema gajenja (K - konvencionalni, I - integralni, O - organski) iz 2015. godine proizvodnje.

Tabela 19. Rezultati deskriptivne statistike sadržaja ukupnih rastvorljivih proteina (g BSA/100 g) u uzorcima jezgra i kore četiri sorte krompira (M - Marabel, F - Red Fantasy, L - Laura, J - Jelly) proizvedenim u tri sistema gajenja (K - konvencionalni, I - integralni, O - organski sistem gajenja) iz 2015. godine proizvodnje.

Način proizvodnje/Sorta	2015		Način proizvodnje/Sorta	2015		Način proizvodnje/Sorta	2015		Način proizvodnje/Sorta	2015		Način proizvodnje	
	kora	jezgro		kora	jezgro		kora	jezgro		kora	jezgro		
KM	srednja v	1,02	1,58	srednja v	0,82	0,86	srednja v	0,76	0,80	srednja v	0,99	0,94	Konvencionalni 1,95±0,49
	Medijana	0,98	1,57	medijana	0,82	0,82	medijana	0,76	0,82	medijana	0,96	0,96	
	Stdev	0,17	0,34	KF Stdev	0,02	0,13	KL stdev	0,18	0,07	KJ stdev	0,12	0,07	
	Min	0,86	1,18	Min	0,80	0,76	min	0,55	0,69	min	0,90	0,85	
	Max	1,26	2,01	Max	0,84	1,05	max	0,97	0,85	max	1,16	1,01	
IM	srednja v	1,17	1,76	srednja v	1,14	1,03	srednja v	0,91	0,85	srednja v	1,17	1,22	Integralni 2,31±0,46
	Medijana	1,11	1,79	medijana	1,11	1,04	medijana	0,91	0,85	medijana	1,15	1,26	
	Stdev	0,23	0,14	IF Stdev	0,08	0,11	IL stdev	0,05	0,04	IJ stdev	0,14	0,10	
	Min	0,97	1,57	Min	1,07	0,93	min	0,85	0,80	min	1,04	1,07	
	Max	1,50	1,90	Max	1,25	1,13	max	0,96	0,89	max	1,35	1,31	
OM	srednja v	0,99	1,34	srednja v	0,87	0,99	srednja v	0,83	0,82	srednja v	0,94	1,09	Organski 1,97±0,29
	Medijana	0,96	1,37	medijana	0,87	0,98	medijana	0,84	0,82	medijana	0,93	1,09	
	Stdev	0,09	0,15	OF Stdev	0,12	0,06	OL stdev	0,08	0,05	OJ stdev	0,10	0,13	
	Min	0,91	1,15	Min	0,74	0,92	min	0,75	0,78	min	0,83	0,95	
	Max	1,11	1,48	Max	0,98	1,07	max	0,90	0,88	max	1,08	1,23	
Sorta	Marabel		Red Fantasy		Laura		Jelly						
	2,62±0,39		1,90±0,24		1,66±0,15		2,12±0,26						

Tabela 20. Fridmanov test i Vilkoksonov test ranga za sadržaj ukupnih rastvorljivih proteina (g BSA/100 g) u uzorcima četiri sorte krompira M, F, L, J (M-Marabel, F-Red Fantasy, L-Laura, J-Jelly) iz tri načina proizvodnje K, I, O (K-konvencionalni, I-integralni, O-organski sistem gajenja). Naglašene vrednosti ukazuju na postojanje statistički značajne razlike između sorti krompira.

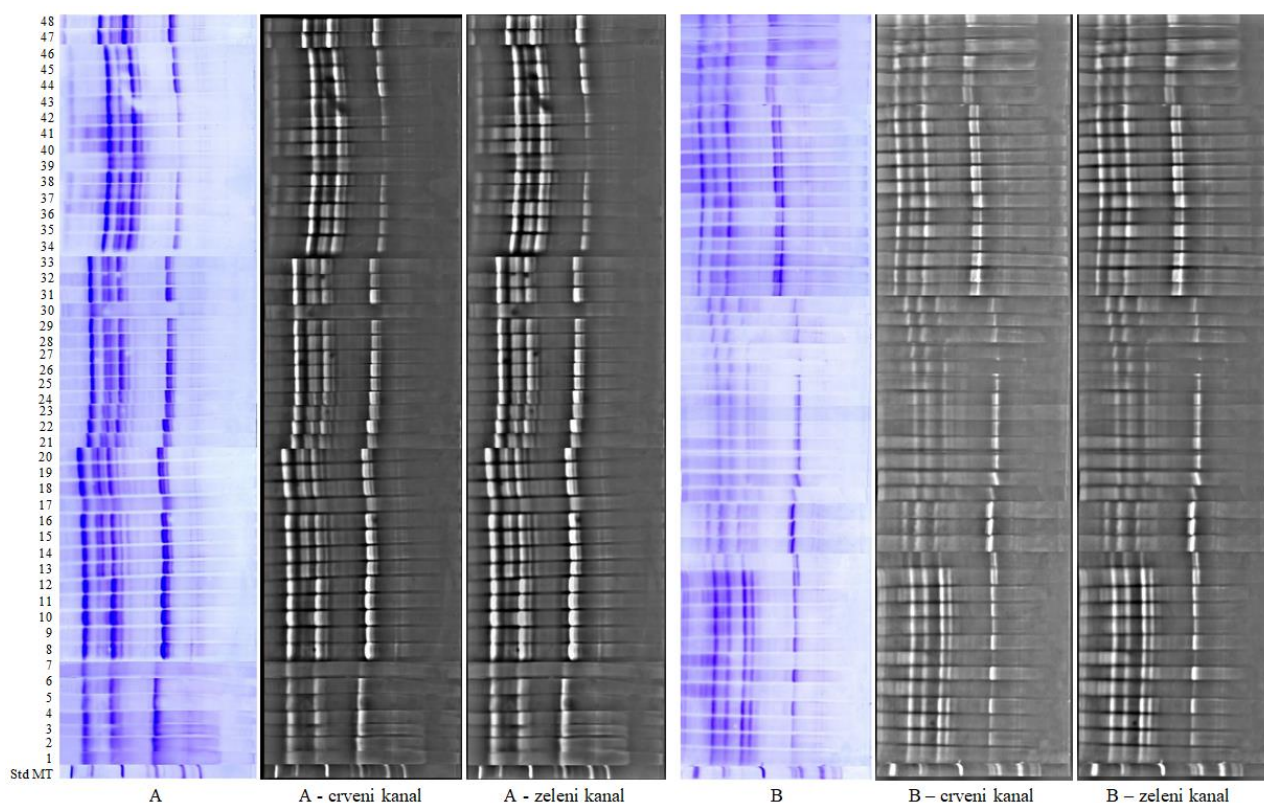
URP (g BSA/100g)				Vilkoksonov test ranga						Razlike*
Sorta	Sr. vrednost	Stdev	Fridmanov test	M		F		L		
				Z	p	Z	p	Z	p	
M	2,62	0,39	N: 12	/		3,059	0,002	3,059	0,002	M (F, L, J) F (M, L, J) L (M, F, J) J (M, F, L)
F	1,90	0,24	χ^2 : 31,400	3,059	0,002	/		2,746	0,006	
L	1,66	0,15	df: 3	3,059	0,002	2,746	0,006	/		
J	2,12	2,12	Stat. značajnost: p < 0,001	2,746	0,006	2,824	0,005	3,059	0,002	
Način proizvodnje				K		I				
K	1,95	0,49	N: 16	/		3,309	<0,001			I (K, O)
I	2,31	0,46	χ^2 : 14,625	3,309	<0,001	/				
O	1,97	0,29	df: 2 Stat. značajnost: p < 0,001	1,396	0,163	3,309	<0,001			

SDS poliakrilamidna gel elektroforeza (SDS-PAGE)

Natrijum-dodecilsulfat poliakrilamid gel elektroforeza (SDS-PAGE - sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis) u redukujućim uslovima je izvedena po metodi koju su predložili Fling i Gregerson. U okviru ove disertacije analizirano je 48 uzoraka kore i 48 uzoraka jezgra krompira četiri sorte iz tri sistema gajenja iz 2015. godine proizvodnje. Nakon završene SDS analize, dobijeni gelovi za uzorke kora i jezgra krtola su za dalju obradu i multivarijantnu analizu sačuvani u obliku JPEG (eng. Joint Photographic Experts Group, JPEG) formata jer je efikasniji u poređenju sa TIFF formatom, jer sadrži više informacija po bitu (Milojković-Opsenica et al. 2013). Za obradu slike korišćen je elektronski dostupan softver ImageJ (ver.1.43q Wayne Rasband, National Institutes of Health, USA; <http://rsb.info.nih.gov/ij>), nakon čega su dobijene vrednosti korišćene za multivarijantnu analizu.

Na osnovu izgleda gelova moglo se uočiti da postoji razlika između intenziteta zona kod uzoraka jezgra krtola u poređenju sa uzorcima kore krtola (Slika 26), kao i razlika između intenziteta zona kod belih sorti (Jelly i Marabe) sa jedne strane i crvenih sorti (Red Fantasy i Laura) sa druge strane. U cilju prevođenja slika gelova za uzorke kore i jezgra krtola u matrice podataka za multivarijantnu analizu, gelovi su analizirani zasebno u okviru programa ImageJ. Analiza fotografija gelova pomoću ImageJ softvera podrazumevala je nekoliko koraka. Slike gelova u JPEG format su prvo otvorene preko opcije File/Open. Nakon toga su rotirane za 90° (Image/Transform/Rotate 90 Degrees Right) u cilju dobijanja profila pojedinih zona uzoraka. Zatim su označene površine gelova gde su zone odnosno ispitivani uzorci i standardi, i te površine su isečene od ostatka slike. Zone su označene duž cele ploče, od startne mrlje sa jedne strane do završetka gela sa druge strane, i isečene primenom opcije Selection/Image/Crop. S obzirom da su zone na gelovima različite boje, radi povećanja selektivnosti razdvajanja primenjeni su crveni, zeleni i plavi kanal (Image/Color/Split Channels). Nakon toga su, radi uklanjanja pozadine, šuma signala i izoštravanja slike primenjeni odgovarajući filteri, a sve u cilju odabira najboljih kanala za dobijanje matrice podataka za multivarijantnu analizu. Da bi se uklonila pozadina korišćen je bandpass filter (Process/FFT/Bandpass), dok je za odstranjivanje šuma signala primenjen median filter

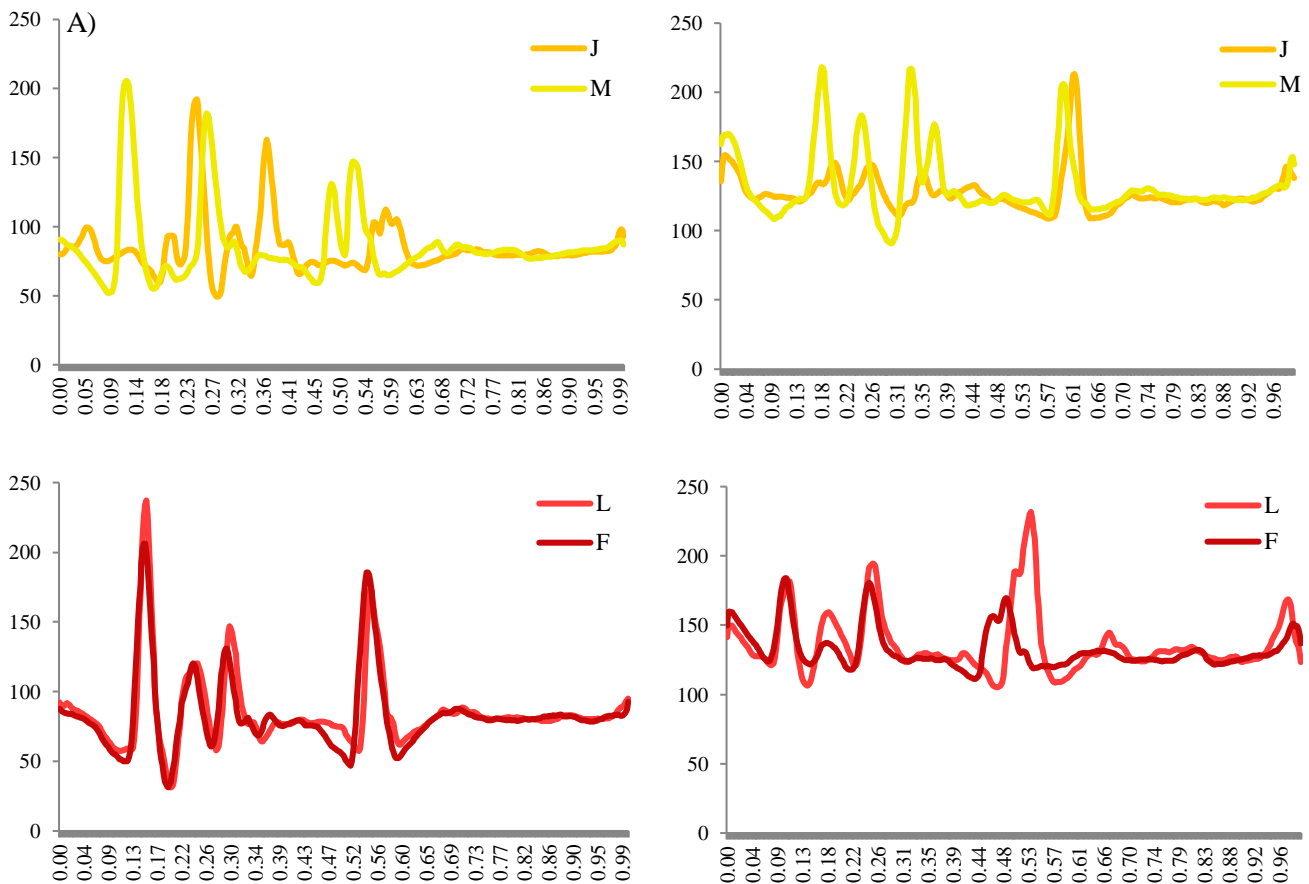
(Process/Filter/Median) sa širinom od pet piksela. Kako je nakon primenjenih filtera rezolucija plavog kanala bila jako mala, plavi kanal je zanemaren, dok su prilikom dalje obrade proteinskog profila kako kod gelova uzoraka kore tako i kod gelova uzoraka jezgra krtola korišćeni crveni i zeleni kanal (Slika 26). Crtanje profila za uzorke kore i jezgra krtola (Analyse/Plot Profile) je izvedeno za svaki uzorak ponaosob i za svaki kanal posebno. Dobijeni profili predstavljaju grafički prikaz zavisnosti intenziteta zona (izražen u pikselima) u funkciji rastojanja (R_F vrednosti). Na ovaj način su slike gelova pretvorene u matrice podataka (48×458 za uzorke kore i 48×466 za uzorke jezgra krtola krompira) koje su transportovane u *Excel* u cilju dalje multivarijantne analize. Kako je ceo proteinski profil i intenzitet zona veći kod matrice crvenog kanala u odnosu na zeleni kanal, to je za dalju analizu odabrana matrica dobijena analizom crvenog kanala.



Slika 26. Slike gelova proteinskog profila za uzorke jezgra (A) i kore (B) krtola krompira četiri sorte (Marabel (uzorci 1-12), Red Fantasy (uzorci 13-24), Laura (uzorci 25-36) i Jelly (uzorci 37-48)) iz tri sistema gajenja (Konvencionalni – uzorci 1-4; 13-16; 25-28; 37-40; Integralni – uzorci 5-8; 17-20; 29-32; 41-44; Organski – uzorci 9-12; 21-24; 33-36; 45-48) dobijene obradom gelova nakon SDS elektroforeze u softverskom paketu ImageJ.

Na osnovu slike 27. koja je dobijena pomoću pomenutih matrica se može primetiti da kasna bela sorta Jelly i rana bela sorta Marabel imaju pikove različitog intenziteta koji odgovaraju različitim R_F vrednostima, odnosno molekulskim masama proteina kako kod uzoraka jezgra, tako i kod uzoraka kore krompira. Uzorci kasne sorte imaju pikove manjeg intenziteta u poređenju sa ranom sortom. S druge strane, proteinski profil odnosno intenzitet traka uzoraka jezgra srednje ranih crvenih sorti Red Fantasy i Laura je jako sličan, međutim kod uzoraka kore to nije slučaj. Intenziteti traka uzoraka kore ukazuju na mogućnost postojanja razlike i između ove dve sorte. Takođe, u poređenju sorti bele boje pokožice (Marabel i Jelly) sa sortama crvene boje pokožice (Red Fantasy i Laura), jasno se vidi da postoji razlika u intenzitetu traka, odnosno visini pikova, koja ukazuje na razliku među genotipovima krompira. To bi dalje moglo ukazati na to da se proteinski profil krtola

može koristiti kao potencijalni pokazatelj razlike između sorti (genotipova krompira) i dužine vegetacije krompira.



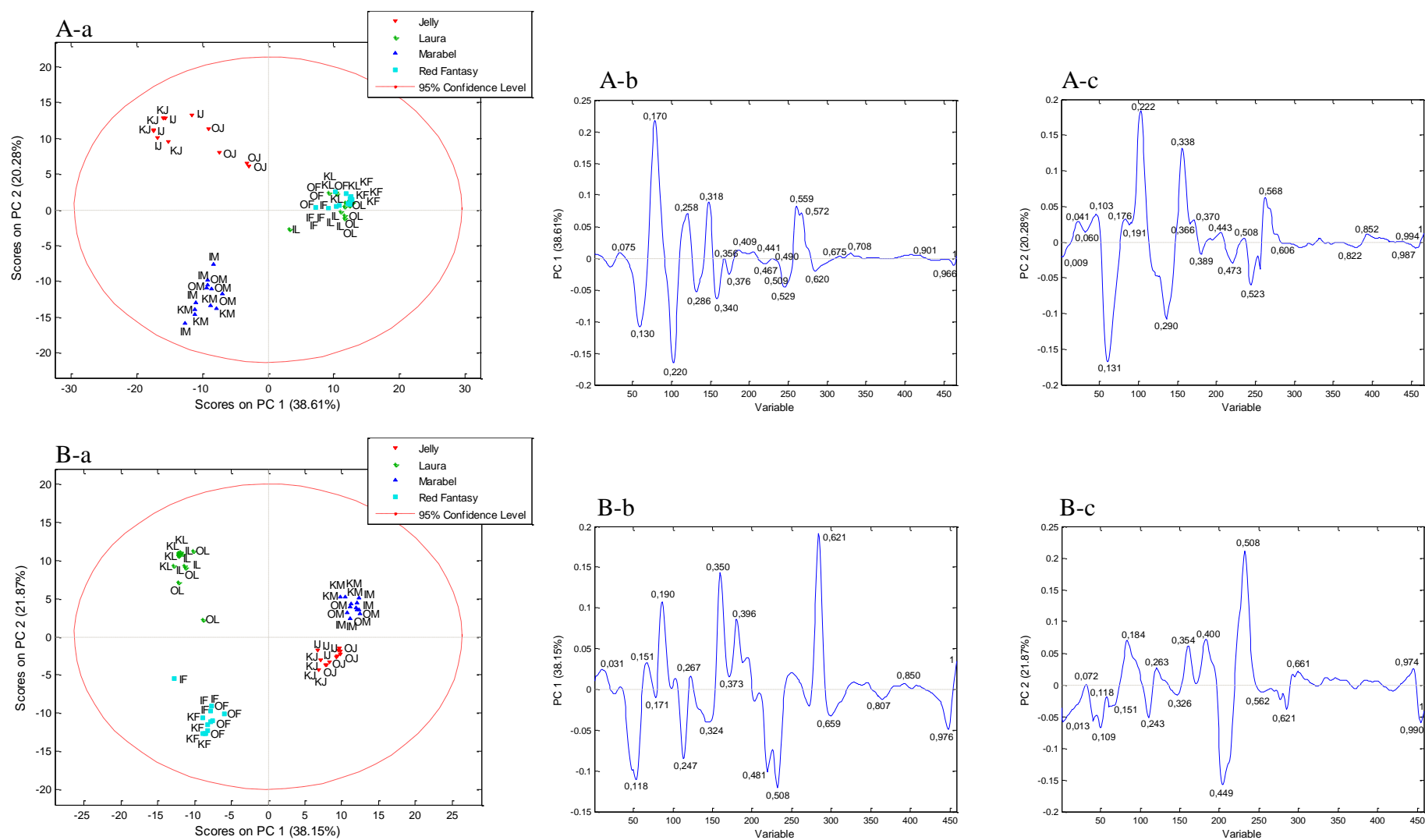
Slika 27. Proteinski profili uzoraka jezgra (A) i kore (B) krtola krompira četiri sorte (M - Marabel, J – Jelly, F - Red Fantasy, L - Laura) iz tri sistema gajenja dobijeni obradom gelova nakon SDS elektroforeze u softverskom paketu ImageJ.

Kako bi se potvrdilo postojanje razlike između sorti i mogućnost korišćenja proteinskog profila kao parametra za razlikovanje genotipova krompira i uzoraka različite dužine vegetacije, urađena je analiza glavnih komponenta kako za uzorke jezgra tako i za uzorke kore krtola krompira. S obzirom na postojanje zona različitih boja na gelovima, multivarijantna metoda analize je primenjena za oba kanala zasebno, a veličina matrice podataka iznosila je 48×458 za uzorke kore, odnosno 48×466 za uzorke jezgra krtola krompira. Varijable su predstavljene kao intenziteti razdvojenih zona (izražene u pikselima), počev od polazne mrlje do kraja gela, za svaki uzorak ponaosob u funkciji rastojanja (R_F vrednosti). Kako bi se nuliralo pomeranje zona ispitivanih uzoraka unutar jedne ili više ploča, što može biti posledica razlika u temperaturi, vlažnosti, instrumentalne nestabilnosti i slučajnih grešaka prilikom eksperimentalnog rada, primenjena je korekcija položaja pikova u vidu procedure „savijanja” - korelacija optimizacije savijanja (COW - Correlation Optimized Warping). U cilju svođenja varijabli na jednaku težinu primenjena je metoda normiranja podataka (SNV) i srednje centriranje (Mean Center). Na osnovu rezultata PCA potvrđeno je da postoji razlika između matrica crvenog i zelenog kanala, pri čemu je crveni kanal izabran kao onaj koji najbolje ukazuje na razdvajanje i razlikovanje uzoraka koji pripadaju različitim sortama krompira.

Analiza glavnih komponenata je primenjena na matrice podataka za uzorke jezgra i uzorke kore krtola krompira zasebno sa ciljem da se podaci vizualizuju i da se smanji dimenzionalnost multivarijantnog problema na svega dve dimezije (komponente).

Na osnovu grafika skorova (Slika 28A-a) prve dve komponente, koje opisuju 58,89% varijabiliteta među podacima, za uzorke jezgra može se utvrditi raspored, odnosno grupisanje uzoraka četiri sorte krompira u tri grupe objekata što odgovara rezultatima dobijenim analizom proteinskog profila na osnovu gelova (Slika 27). Naime, duž PC1 ose dolazi do razdvajanja uzoraka belih sorti (Jelly i Marabel) koji su pozicionirani sa leve strane, i crvenih sorti (Red Fantasy i Laura) sa desne strane grafika skorova. Duž PC2 ose na grafiku skorova se mogu uočiti dve podgrupe belih sorti, odnosno dolazi do razdvajanja uzoraka na osnovu dužine vegetacije. Uzorci bele kasne sorte Jelly su pozicionirani u gornjem levom kvadrantu, dok su uzorci rane bele sorte Marabel u donjem kvadrantu. Između uzoraka crvenih sorti, nema jasnog razdvajanja. Takođe, na osnovu načina proizvodnje uzorci se ne odvajaju jasno jedni od drugih, što se može objasniti eventualno sličnim proteinskim profilom karakterističnim za konvencionalni, integralni i organski sistem gajenja.

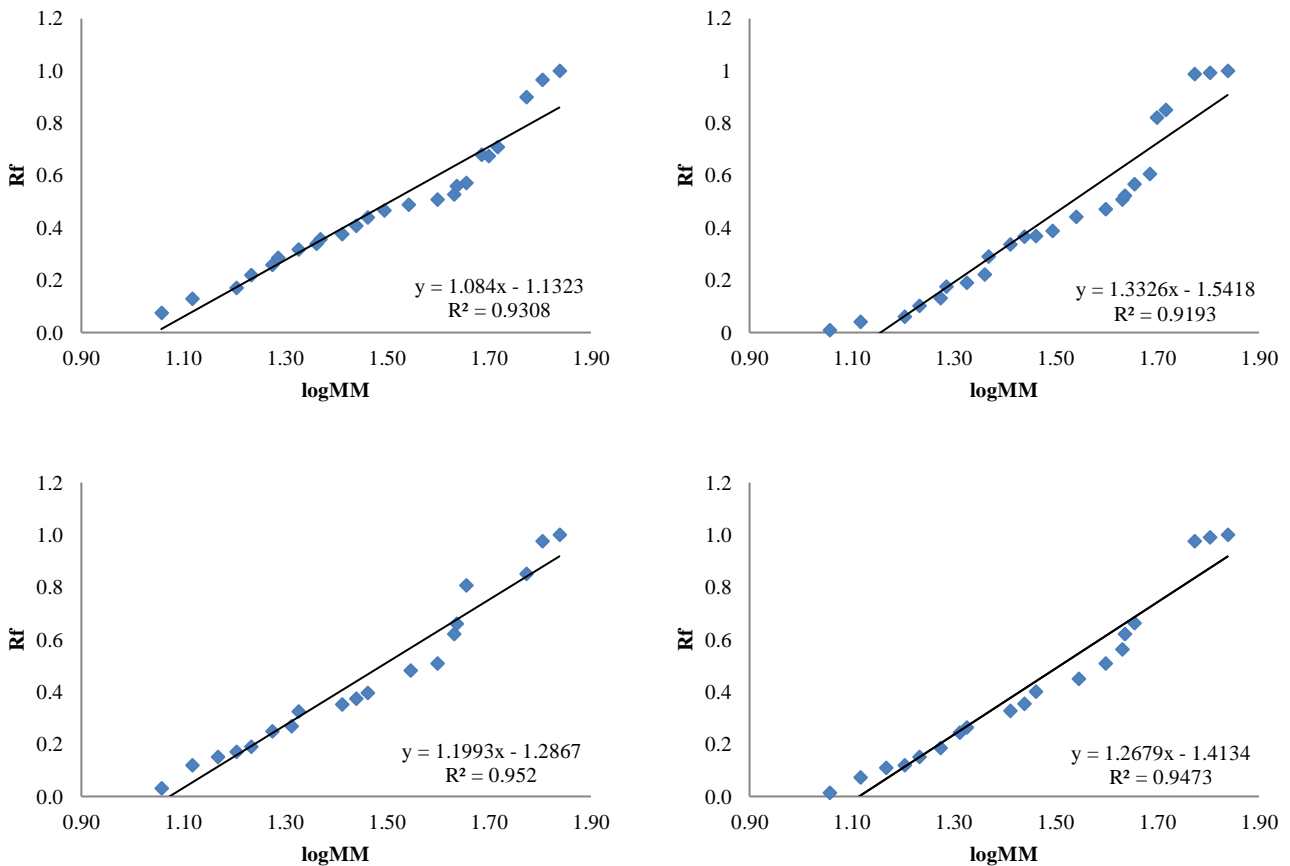
Grafik vektora latentnih varijabli (Slika 28A-b i c) pokazuje povezanost između varijabli i principa razdvajanja, odnosno može se koristiti za identifikaciju varijabli sa doprinosom na razdvajanje uzoraka na grafiku skorova duž prve dve glavne komponente. Kako bi se vrednosti varijabli, odnosno parametra R_F dovele u vezu sa molekulskim masama proteina urađena je linearna regresija, odnosno zavisnost logaritamske vrednosti molekulskih masa analiziranih proteina i R_F vrednosti analiziranih traka (Tabela 21, Slika 29). Kako su dobijene relativno visoke vrednosti koeficijenta korelacije, to je omogućilo dovođenje molekulskih masa u vezu sa R_F vrednostima i komentarisanje rezultata PCA u skladu sa tim (Slika 29).



Slika 28. PCA: grafik skorova za uzorke jezgra (A-a) i kore (B-a) krtola četiri sorte krompira (M - Marabel, F - Red Fantasy, L - Laura, J - Jelly) proizvedenim u tri sistema gajenja (K - konvencionalni, I - integralni, O - organski) i grafici vektora latentnih varijabli duž prve dve glavne komponente za uzorke jezgra (PC1 – A-b; PC2 – A-c) i kore krtola (PC1 – B-b; PC2 – B-c).

Tabela 21. Vrednosti molekularskih masa proteina (MM - kDa) i parametra R_F sa doprinosom na razdvajanje uzoraka jezgra i kore četiri sorte krompira iz tri sistema gajenja na grafiku skorova duž prve dve glavne komponente (PC1 i PC2). Crvene vrednosti predstavljaju pozitivan uticaj na razdvajanje uzoraka duž dve glavne komponente.

Jezgro				Kora			
MM (kDa)	logMM	R_F - PC1	R_F - PC2	MM (kDa)	logMM	R_F - PC1	R_F - PC2
11,4	1,06	0,075	0,009	11,4	1,06	0,031	0,013
13,1	1,12	0,130	0,041	13,1	1,12	0,118	0,072
16,0	1,20	0,170	0,060	14,7	1,17	0,151	0,109
17,1	1,23	0,220	0,103	16,0	1,20	0,171	0,118
18,8	1,27	0,258	0,131	17,1	1,23	0,190	0,151
19,3	1,29	0,286	0,176	18,8	1,27	0,247	0,184
21,2	1,33	0,318	0,191	20,5	1,31	0,267	0,243
23,0	1,36	0,340	0,222	21,2	1,33	0,324	0,263
23,4	1,37	0,356	0,290	25,8	1,41	0,350	0,326
25,8	1,41	0,376	0,338	27,5	1,44	0,373	0,354
27,5	1,44	0,409	0,366	29,0	1,46	0,396	0,400
29,0	1,46	0,441	0,370	35,2	1,55	0,481	0,449
31,2	1,49	0,467	0,389	39,7	1,60	0,508	0,508
34,8	1,54	0,490	0,443	42,8	1,63	0,621	0,562
39,7	1,60	0,509	0,473	43,3	1,64	0,659	0,621
42,8	1,63	0,529	0,508	45,2	1,66	0,807	0,661
43,3	1,64	0,559	0,523	59,4	1,77	0,850	0,974
45,2	1,66	0,572	0,568	63,7	1,80	0,976	0,990
48,5	1,69	0,680	0,606	68,9	1,84	1	1
50,1	1,70	0,675	0,822				
52,1	1,72	0,708	0,852				
59,4	1,77	0,901	0,987				
63,7	1,80	0,966	0,994				
68,9	1,84	1	1				



Slika 29. Grafik zavisnosti logaritamske vrednosti molekulske mase proteina (logMM) za uzorke jezgra (A) i kore (B) krtola krompira u funkciji rastojanja (R_F vrednosti) za prve dve glavne komponente (PC1 i PC2).

Kao varijable sa najvećim pozitivnim uticajem na razdvajanje duž PC1 ose imaju vrednosti parametara R_F 0,075; 0,170; 0,258; 0,318; 0,409; 0,441; 0,490; 0,559; 0,572; 0,675; 0,708; 0,901 i 1 (Slika 28A-b) koje odgovaraju proteinima molekulske mase 11,4; 16,0; 18,8; 21,2; 27,5; 29,0; 34,8; 43,3; 45,2; 50,1; 52,1; 59,4; 68,9 kDa (Tabela 21, Slika 29). Najveći negativan uticaj na razdvajanje duž PC1 ose imaju vrednosti parametara R_F 0,130; 0,220; 0,286; 0,340; 0,356; 0,376; 0,467; 0,509; 0,529; 0,620; 0,966 (Slika 28A-b) koje odgovaraju proteinima preostalih molekulske mase (Tabela 21, Slika 29). Upravo ove varijable su odgovorne za razdvajanje uzoraka crvenih sorti od belih. S druge strane, na razdvajanje duž PC2 ose najpozitivniji uticaj imaju vrednosti parametara R_F 0,041; 0,060; 0,103; 0,176; 0,191; 0,222; 0,338; 0,366; 0,370; 0,443; 0,508; 0,568; 0,852; 0,994 i 1 (Slika 28A-c) koje odgovaraju proteinima molekulske mase 13,1; 16,0; 17,1; 19,3; 21,2; 23,0; 25,8; 27,5; 29,0; 34,8; 42,8; 45,2; 52,1; 63,7 i 68,9 kDa i ove varijable su odgovorne za razdvajanje uzoraka kasne bele sorte Jelly od sorte Marabel (Slika 28A-a i c). Kao dominantne trake, odnosno zone, koje su odgovorne za odvajanje uzoraka rane bele sorte Marabel duž PC2 ose su zone koje odgovaraju R_F vrednostima 0,009; 0,131; 0,290; 0,389; 0,473; 0,523; 0,606; 0,822 i 0,987 (Slika 28A-c).

Na osnovu grafika skorova (Slika 28B-a) prve dve komponente, koje opisuju 60,02% varijabiliteta među podacima, za uzorke kore može se utvrditi raspored, odnosno grupisanje uzoraka četiri sorte krompira u četiri grupe objekata što odgovara rezultatima dobijenim analizom proteinskog profila na osnovu gelova koji su ukazivali na postojanje razlike između svih sorti krompira (Slika 27) kao i

rezultatima neparametrijskih testova za sadržaj URP koji takođe ukazuju na postojanje statistički značajne razlike između svih sorti krompira međusobno (Tabela 20). Naime, duž PC1 ose dolazi do razdvajanja uzoraka belih sorti (Jelly i Marabel) koji su pozicionirani sa desne strane, i crvenih sorti (Red Fantasy i Laura) sa leve strane grafika skorova. Duž PC2 ose na grafiku skorova se mogu uočiti dve podgrupe belih sorti, odnosno dolazi do razdvajanja uzoraka na osnovu dužine vegetacije. Uzorci bele kasne sorte Jelly su pozicionirani u donjem desnom kvadrantu, dok su uzorci rane bele sorte Marabel u gornjem kvadrantu. Takođe se duž PC2 ose izdvajaju i dve podgrupe crvenih sorti, odnosno dolazi do razdvajanja uzoraka sorte Red Fantasy (donji levi kvadrant) i sorte Laura (gornji levi kvadrant). Kao i kod uzoraka jezgra krtola, na osnovu načina proizvodnje uzorci se ne odvajaju jasno od drugih, što se može objasniti eventualno sličnim proteinskim profilom karakterističnim za konvencionalni, integralni i organski sistem gajenja.

Na grafiku vektora latentnih varijabli (Slika 28B-b i c) kao varijable sa najvećim pozitivnim uticajem na razdvajanje duž PC1 ose imaju vrednosti parametra R_F 0,031; 0,151; 0,190; 0,267; 0,350; 0,373; 0,396; 0,621; 0,850; i 1 (Slika 28B-b) koje odgovaraju proteinima molekulskih masa 11,4; 14,7; 17,1; 20,5; 25,8; 27,5; 29,0; 42,8; 59,4 i 68,9 kDa (Tabela 21, Slika 29). Najveći negativan uticaj na razdvajanje duž PC1 ose imaju vrednosti parametra R_F 0,118; 0,171; 0,247; 0,324; 0,481; 0,508; 0,659; 0,807 i 0,976 (Slika 28B-b) koje odgovaraju proteinima preostalih molekulskih masa (Tabela 21, Slika 29). Upravo ove varijable su odgovorne za razdvajanje uzoraka crvenih sorti od belih. S druge strane, na razdvajanje duž PC2 ose najpozitivniji uticaj imaju vrednosti parametra R_F 0,184; 0,263; 0,354; 0,400; 0,508; 0,661 i 0,974 (Slika 28B-c) koje odgovaraju proteinima molekulskih masa 18,8; 21,2; 27,5; 29,0; 39,7; 45,2 i 52,4 kDa i ove varijable su odgovorne za razdvajanje uzoraka rane bele sorte Marabel od kasne bele sorte Jelly (Slika 28B-a i c), ali i za razdvajanje crvenih sorti Red Fantasy i Laura. Kao dominantne trake, odnosno zone, koje su odgovorne za odvajanje uzoraka sorte Red Fantasy od sorte Laura duž PC2 ose su zone koje odgovaraju R_F vrednostima 0,013; 0,072; 0,109; 0,118; 0,151; 0,243; 0,326; 0,449; 0,562; 0,621; 0,990 i 1 (Slika 28B-c).

5. ZAKLJUČAK

U okviru ove disertacije su određene morfološke karakteristike 144 uzorka krompira i to po 12 uzoraka četiri sorte/genotipa krompira iz tri sistema gajenja i tri uzastopne godine proizvodnje. Određena je prosečna masa svake krtole (PMK), njena prosečna dužina (PDK), obim krtole (OK) sa i bez kore i poluprečnik (PK) krtole i sadržaj vode u 144 uzorka kore i 144 uzorka jezgra krtola krompira. Dobijeni rezultati potvrđuju da je veličina, odnosno krupnoća krtola, jako varijabilna i podložna jakim uticajima agroekoloških i agrotehničkih faktora - klimatski uslovi, genotip, fenofaze razvoja i tehnologija gajenja. Krtole dobijene u konvencionalnom sistemu gajenja su krupnije u poređenju sa krtolama proizvedenim u integralnom sistemu gajenja, dok je prosečna masa krtola i veličina krtola najmanja kod uzoraka krompira iz organskog sistema gajenja. Veličina, odnosno krupnoća krtola kao i sadržaj vode u krtolama su usko vezani i za meteorološke uslove u periodu rasta krtola krompira u 2013., 2014. i 2015. godini. Posmatrano po godinama izvođenja oglada, najveće vrednosti za PMK, PDK, OK i PK utvrđene su kod sorti krompira iz 2013. godine proizvodnje, zatim iz 2014. godine, dok su najmanje vrednosti ustanovljene kod sorti iz 2015. godine proizvodnje. Kada je u pitanju sortiment krompira, rezultati u okviru ove disertacije ukazuju na to da su sorte Marabel, Red Fantasy i Laura, iako rane i srednje rane sorte, krupnijih krtola i imaju veće vrednosti morfoloških parametara u poređenju sa kasnom sortom Jelly. Ovi rezultati ukazuju da rane i srednje rane sorte koje se odlikuju ranom tuberizacijom i brzim nalivanjem krtola, u uslovima toplih i sušnih leta najčešće daju krupnije krtole i veće prinose od srednje kasnih i kasnih sorti, koje zameću veliki broj krtola i imaju duži vegetacioni period. Što se tiče zavisnosti sadržaja vode u uzorcima od sistema gajenja, rezultati ukazuju na to da uzorci krompira proizvedeni u trogodišnjem periodu u konvencionalnom sistemu gajenja imaju najniži prosečni sadržaj vode kako u kori tako i u jezgru, zatim slede uzorci iz integralnog, dok je najveći sadržaj vode određen u uzorcima iz organskog sistema gajenja.

U ovom radu je urađena optimizacija postupka ekstrakcije u cilju razvoja optimalne procedure za izolovanje frakcije antioksidanasa iz krtola krompira. Primenjeno je pet različitih postupaka ekstrakcije. Za optimizaciju su odabrana 24 uzorka krompira i to po 6 uzoraka svake sorte, odnosno po dva uzorka svake sorte iz svakog od tri sistema gajenja iz 2015. godine proizvodnje. Za svaki tip ekstrakcije je određen ukupan sadržaj polifenola (TPC) i antioksidativni kapacitet (RSA). Dobijeni rezultati su obrađeni primenom neparametrijskih statističkih testova (Fridmanov test i Vilkoksonov test ranga) sa ciljem da se odabere najbolji metod ekstrahovanja polifenolnih jedinjenja. Kako je najveći sadržaj ukupnih polifenola i antioksidativni kapacitet određen u uzorcima koji su ekstrahovani 80% metanolom i smešom aceton - voda i kako su rezultati Fridmanovog testa i Vilkoksonov testa ranga ukazali na postojanje statistički značajne razlike između ova dva tipa ekstrakcije u odnosu na preostale tri, zaključeno je da su se kao dva najbolja postupka za izolovanje polifenolnih jedinjenja pokazala upravo ova dva postupka ekstrakcije. Na taj način je proces optimizacije i izbor postupka ekstrakcije sa pet, sveden na dva. U cilju dalje optimizacije i odabira jednog potencijalno najboljeg postupka ekstrakcije urađena je kvantifikacija polifenola i određen je polifenolni profil uzoraka kore i jezgra krompira.

Kvantifikacija fenolnih jedinjenja u uzorcima je urađena primenom UHPLC-DAD MS/MS. U 48 uzoraka ekstrakta krompira, po 24 uzorka za svaki tip ekstrakcije (ekstrakcije 1 i 3), kvantifikovano je jedanaest polifenolnih jedinjenja. Na osnovu rezultata koji su dobijeni UHPLC-DAD MS/MS analizom urađena je analiza glavnih komponenata. Rezultati ukazuju na postojanje razlike između uzoraka krompira u kojima su polifenoli ekstrahovani 80% metanolom (ekstrakcija 1) i uzoraka kod kojih je ekstrakcija vršena smešom aceton-voda (70:30, v/v) (ekstrakcija 3). Na osnovu kvantifikovanih polifenola i analizom glavnih komponenata se nije mogla uočiti razlika između sorti i načina proizvodnje krompira. Za utvrđivanje postojanja statistički značajne razlike između ova dva tipa ekstrakcije na osnovu svakog pojedinačnog polifenolnog jedinjenja, urađen je uporedni

t – test i na osnovu dobijenih rezultata ovog testa ekstrakcija 1 je odabrana kao potencijalno najbolja metoda za ekstrahovanje polifenolnih jedinjenja iz uzoraka krompira.

Na osnovu rezultata za TPC i RSA je zaključeno da je sadržaj ukupnih polifenola i vrednost antioksidativne aktivnosti za sve tri godine proizvodnje veći u uzorcima kore u odnosu na uzorke jezgra krtola. Kada su u pitanju sorte krompira, veći sadržaj ukupnih polifenola i vrednost antioksidativne aktivnosti je u uzorcima srednje ranih crvenih sorti Red Fantasy i Laura u poređenju sa srednje ranom belom sortom Marabel i kasnom belom sortom Jelly. Što se tiče načina proizvodnje, ukoliko se uzmu u obzir srednje vrednosti TPC i RSA u trogodišnjem periodu, vrednosti oba parametra su najveća kod uzoraka iz organskog sistema gajenja.

Primenom UHPLC-LTQ OrbiTrap XL metode identifikovano je šezdeset najzastupljenijih fenolnih jedinjenja u uzorcima krtola krompira. U cilju pronalaženja faktora koji bi mogli da posluže kao potencijalni pokazatelji razlike između četiri sorte krompira različitog porekla i dužine vegetacije iz tri sistema gajenja na osnovu vrednovanja njihovog fenolnog profila u jezgru i kori krtola, izvršena je analiza glavnih komponenata. Rezultati su ukazali na razdvajanje uzoraka na osnovu sorte krompira kojoj pripadaju, kao i na osnovu dužine vegetacije. Najveći uticaj na razdvajanje imaju fenolne kiseline, njihovi derivati i glikozidi koji su identifikovani u uzorcima crvenih sorti, dok je kod belih sorti veći udeo identifikovanih klasa flavonoida.

Sadržaj vitamina C u uzorcima kore i jezgra krompira određen je primenom visoko-efikasne tečne hromatografije. Analizom dobijenih rezultata proverena je mogućnost korišćenja sadržaja vitamina C kao potencijalnog pokazatelja genotipa i načina proizvodnje krompira. Najveći sadržaj vitamina C je određen kod uzoraka kasne bele sorte Jelly i rane bele sorte Marabel, zatim nešto niži sadržaj kod uzoraka srednje rane crvene sorte Red Fantasy i najniži kod sorte Laura. Što se tiče načina proizvodnje, najveći sadržaj vitamina C nađen je kod uzoraka iz integralnog sistema gajenja, zatim kod uzoraka iz organskog sistema gajenja, dok je najmanji sadržaj vitamina C u krtolama utvrđen kod uzoraka iz konvencionalnog sistema gajenja.

Prema literaturnim podacima do sada nije izvršena sveobuhvatna analiza šećernog profila krtola krompira i nije objavljena nijedna studija koja ispituje mogućnost korišćenja ovog profila kao potencijalnog indikatora sorte/genotipa krompira, načina gajenja i dužine vegetacije. U okviru ove disertacije je određen šećerni profil uzoraka jezgra i kore krompira. Kvantifikovano je devetnaest saharida, uključujući šest monosaharida, sedam disaharida, tri trisaharida, dva alditola i jedan polisaharid – skrob. Analize su pokazale da su šećerne makrokomponente, fruktoza, glukoza i saharoza, identifikovane kao najzastupljeniji šećeri i u jezgru i u kori krompira, dok su šećerne mikrokomponente – sorbitol, trehaloza, arabinoza, turanoza, galaktitol, galaktoza, ksiloza, melibioza, maltoza, gentiobioza, izomaltoza, izomaltotrioza, riboza, panoza i maltotrioza pronađene u tragovima. Pored toga, skrob se pokazao posebno interesantnim zbog korisnih funkcionalnih karakteristika i činjenice da definiše unutrašnji i/ili spoljašnji kvalitet proizvoda. Takođe, rezultati ukazuju da odnos sadržaja skroba i redukujućih šećera određuje kvalitet i mogućnost upotrebe krompira za industrijsku preradu. Uzimajući u obzir rezultate dobijene u okviru ove disertacije, može se zaključiti da je šećerni profil parametar od velike važnosti za procenu proizvodnih karakteristika, kvaliteta i biološke vrednosti krtola krompira. Naime, rezultati ukazuju na to da skrob, kao i sve šećerne makro i mikrokomponente potencijalno mogu da se koriste kao indikatori razlika između sistema gajenja krompira, godina proizvodnje, botaničkog porekla, dužine vegetacije i klimatskih uslova.

Slično analizi šećernog profila, prema saznanjima autora, nema objavljenih studija koje ispituju mogućnost korišćenja mineralnog profila kao parametra za procenu proizvodnih karakteristika, utvrđivanje genotipova krompira i dužine vegetacije, kao i zaštitu geografskog porekla i procenu autentičnosti. Samo je ograničen broj istraživanja urađen da bi se utvrdila distribucija elemenata unutar krtola. Nije objavljena nijedna studija koja ispituje sastav krompira u pogledu elemenata za

tako veliki broj uzoraka kao u okviru ove doktorske disertacije. Reprezentativni set od 96 uzoraka (48 uzoraka kore i 48 uzoraka jezgra) četiri sorte krompira gajene u tri poljoprivredna sistema u periodu od tri godine, okarakterisan je na osnovu sastava elemenata. Kvantifikovano je ukupno 16 elemenata. U cilju utvrđivanja izvora varijacije između načina proizvodnje (sistema gajenja), delova krompira (kora/jezgro) i sorti, sprovedena je multivarijantna analiza varijanse (MANOVA). Analize su pokazale da su makrokomponente Ca, Mg i K identifikovane kao najzastupljeniji elementi kako u uzorcima jezgra tako i u kori krompira. Dobijeni rezultati ukazuju na to da razlike u sadržaju Ca, Mg i K su direktna posledica postojanja razlike između sorti i dužine vegetacije, kao i da koncentracija ovih elemenata u uzorcima zavisi od načina gajenja, odnosno sistema proizvodnje krompira. Najveće koncentracije izmerene su u uzorcima iz organske proizvodnje, zatim u uzorcima iz integralne, dok je najniža koncentracija izmerena u uzorcima dobijenim u konvencionalnom sistemu gajenja. Ipak, treba imati u vidu da na pravilno usvajanje i skladištenje ovih elemenata utiču fiziološke karakteristike useva, mineralna ishrana i faktor sortnih karakteristika - u kojoj meri je genotip osetljiv ili nije osetljiv na fiziološki stres, što može direktno uticati na stepen apsorpcije Ca, Mg i K. Stoga je mogućnost upotrebe sadržaja ovih elemenata kao parametra u definisanju „profila“ ispitivanih sorti i načina gajenja krompira ograničena. U poređenju sa makrokomponentama, mikrokomponente, Cd, Co, Cr, Mn, Ni, Pb, Cu, Zn, uključujući Fe i Na, su pronađene u tragovima. U ukupnom proseku, sadržaj svih ovih elemenata je veći u uzorcima kore nego u jezgru krtola. Rezultati analiza ukazuju na mogućnost korišćenja sadržaja Co, Cd i Cr, Mn, Pb i Ni kao potencijalnih indikatora načina proizvodnje, genotipova krompira i dužine vegetacije. S druge strane, upotreba Fe, Zn, Na i Cu kao indikatora načina proizvodnje nije adekvatna jer ne postoji statistički značajna razlika između koncentracija ovih elemenata u uzorcima proizvedenim u različitim sistemima gajenja. Uzimajući u obzir sve dobijene rezultate, može se zaključiti da je mineralni profil parametar od izuzetnog značaja za procenu proizvodnih karakteristika, utvrđivanje autentičnosti genotipova krompira i dužine vegetacije, s tim da rezultati ove disertacije ukazuju i na potrebu novih istraživanja kako bi se razumeli fiziološki procesi koji dovode do variranja u sadržaju mineralnih komponentata.

Proteinski profil je još jedan od parametara fitohemijskog profila krtola čija je mogućnost upotrebe kao pokazatelja porekla i načina proizvodnje krompira proverena u okviru ove disertacije. Primenom bradfordove metode određen je sadržaj ukupnih rastvorljivih proteina (URP), dok je SDS elektroforetska analiza iskorišćena za određivanje profila 48 uzoraka kore i 48 uzoraka jezgra krompira četiri sorte iz tri sistema gajenja iz 2015. godine proizvodnje. Dobijeni rezultati ukazuju da je sadržaj URP veći u uzorcima jezgra u poređenju sa uzorcima kore krtola. Takođe, rezultati ukazuju na statistički značajnu razliku između sorti krompira. Najveći sadržaj URP je određen kod uzoraka rane bele sorte Marabel i kasne bele sorte Jelly, zatim nešto niži sadržaj kod uzoraka srednje rane crvene sorte Red Fantasy i najniži kod srednje rane crvene sorte Laura. Neparametrijski testovi su pokazali da između načina proizvodnje takođe postoji statistički značajna razlika na osnovu sadržaja URP, i da se integralni način proizvodnje razlikuje od organskog i konvencionalnog sistema gajenja krtola krompira. S druge strane, nakon završene SDS analize, dobijeni gelovi za uzorke kora i jezgra krtola su iskorišćeni za dalju obradu i multivarijantnu analizu. Na osnovu samih izgleda gelova uočeno je da postoji razlika između intenziteta zona kod uzoraka jezgra krtola u poređenju sa uzorcima kore krtola, kao i razlika između intenziteta zona kod belih sorti (Jelly i Marabe) sa jedne strane i crvenih sorti (Red Fantasy i Laura) sa druge strane. Analizom glavnih komponentata, kako za uzorke jezgra tako i za uzorke kore krtola krompira, potvrđeno je postojanje razlike između sorti i po prvi put pokazano da je moguće iskoristiti proteinski profil kao parametar za razlikovanje genotipova krompira i uzoraka različite dužine vegetacije. Međutim, na osnovu načina proizvodnje uzorci se ne odvajaju jasno jedni od drugih, što se može objasniti eventualno sličnim proteinskim profilom karakterističnim za konvencionalni, integralni i organski sistem gajenja.

6. LITERATURA

1. Abdel, Hussein I., and Mona S.M. Mansour. 2017. "Polyphenols: Properties, Occurrence, Content in Food and Potential Effects." *Environmental Science and Engineering* 6: 232–61.
2. Akšić, Milica Fotirić, Tomislav Tosti, Milica Sredojević, Jasminka Milivojević, Mekjell Meland, and Maja Natić. 2019. "Comparison of Sugar Profile between Leaves and Fruits of Blueberry and Strawberry Cultivars Grown in Organic and Integrated Production System." *Plants* 8 (7): 205.
3. Alvani, Kamran, Xin Qi, Richard F. Tester, and Colin E. Snape. 2011. "Physico-Chemical Properties of Potato Starches." *Food Chemistry* 125 (3): 958–65.
4. Al-Weshahy, A., and V. A. Rao. 2012. *Potato Peel as a Source of Important Phytochemical Antioxidant Nutraceuticals and Their Role in Human Health-A Review*. IntechOpen.
5. Andre, Christelle M., Yvan Larondelle, and Danièle Evers. 2010. "Dietary Antioxidants and Oxidative Stress from a Human and Plant Perspective: A Review." *Current Nutrition & Food Science* 6 (1): 2–12.
6. Andre, Christelle M., Mouhssin Oufir, Cédric Guignard, Lucien Hoffmann, Jean-François Hausman, Danièle Evers, and Yvan Larondelle. 2007. "Antioxidant Profiling of Native Andean Potato Tubers (*Solanum Tuberosum* L.) Reveals Cultivars with High Levels of β -Carotene, α -Tocopherol, Chlorogenic Acid, and Petanin." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 55 (26): 10839–49.
7. André, Christelle M., Roland Schafleitner, Sylvain Legay, Isabelle Lefèvre, Carlos A. Alvarado Aliaga, Giannina Nomberto, Lucien Hoffmann, Jean-François Hausman, Yvan Larondelle, and Danièle Evers. 2009. "Gene Expression Changes Related to the Production of Phenolic Compounds in Potato Tubers Grown under Drought Stress." *Phytochemistry* 70 (9): 1107–16.
8. Angelova, V., Radka Ivanova, Galina Pevicharova, and Krasimir Ivanov. 2010. "Effect of Organic Amendments on Heavy Metals Uptake by Potato Plants." In *19th World Congress of Soil Science, Soil Solutions for a Changing World*. Vol. 16.
9. Arceusz, Agnieszka, Marek Wesolowski, and Pawel Konieczynski. 2013. "Methods for Extraction and Determination of Phenolic Acids in Medicinal Plants: A Review." *Natural Product Communications* 8 (12): 1934578X1300801238.
10. Aregbe, Afusat Yinka, Taihua Mu, and Hongnan Sun. 2019. "Effect of Different Pretreatment on the Microbial Diversity of Fermented Potato Revealed by High-Throughput Sequencing." *Food Chemistry* 290: 125–34.
11. Aronsson, H., G. Torstensson, and L. Bergström. 2007. "Leaching and Crop Uptake of N, P and K from Organic and Conventional Cropping Systems on a Clay Soil." *Soil Use and Management* 23 (1): 71–81.
12. Aruoma, Okezie I. 2003. "Methodological Considerations for Characterizing Potential Antioxidant Actions of Bioactive Components in Plant Foods." *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis* 523: 9–20.
13. Arvanitoyannis, Ioannis S., Olga Vaitisi, and Athanassios Mavromatis. 2008. "Potato: A Comparative Study of the Effect of Cultivars and Cultivation Conditions and Genetic Modification on the Physico-Chemical Properties of Potato Tubers in Conjunction with Multivariate Analysis towards Authenticity." *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 48 (9): 799–823.
14. Ashley, M. K., Murray Grant, and A. Grabov. 2006. "Plant Responses to Potassium Deficiencies: A Role for Potassium Transport Proteins." *Journal of Experimental Botany* 57 (2): 425–36.
15. Barkley, Shelley. 2005. "Botany of the Potato Plant." *Agriculture, Food and Rural Development, Government of Alberta*, 1–6.

16. Barta, Jan, and Veronika Bartova. 2008. "Patatin, the Major Protein of Potato (*Solanum Tuberosum* L.) Tubers, and Its Occurrence as Genotype Effect: Processing versus Table Potatoes." *Czech Journal of Food Sciences* 26 (5): 347–59.
17. Bárta, Jan, Veronika Bártoová, Zbyněk Zdráhal, and Ondrej Sedo. 2012. "Cultivar Variability of Patatin Biochemical Characteristics: Table versus Processing Potatoes (*Solanum Tuberosum* L.)." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 60 (17): 4369–78.
18. Behera, Kambaska Kumar, Afroz Alam, Sharad Vats, Hunuman Pd Sharma, and Vinay Sharma. 2012. "Organic Farming History and Techniques." In *Agroecology and Strategies for Climate Change*, 287–328. Springer.
19. Bethke, Paul C., Robert Sabba, and Alvin J. Bussan. 2009. "Tuber Water and Pressure Potentials Decrease and Sucrose Contents Increase in Response to Moderate Drought and Heat Stress." *American Journal of Potato Research* 86 (6): 519–32.
20. Bolouri Moghaddam, Mohammad Reza, and Wim Van den Ende. 2013. "Sugars, the Clock and Transition to Flowering." *Frontiers in Plant Science* 4: 22.
21. Bradford, Marion M. 1976. "A Rapid and Sensitive Method for the Quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein-Dye Binding." *Analytical Biochemistry* 72 (1–2): 248–54.
22. Burgos, Gabriela, Walter Amoros, Lupita Muñoa, Paola Sosa, Edith Cayhualla, Cinthia Sanchez, Carlos Díaz, and Merideth Bonierbale. 2013. "Total Phenolic, Total Anthocyanin and Phenolic Acid Concentrations and Antioxidant Activity of Purple-Fleshed Potatoes as Affected by Boiling." *Journal of Food Composition and Analysis* 30 (1): 6–12.
23. Burgos, Gabriela, Elisa Salas, Walter Amoros, Mariella Auqui, Lupita Munoa, Mieko Kimura, and Merideth Bonierbale. 2009. "Total and Individual Carotenoid Profiles in *Solanum Phureja* of Cultivated Potatoes: I. Concentrations and Relationships as Determined by Spectrophotometry and HPLC." *Journal of Food Composition and Analysis* 22 (6): 503–8.
24. Burgos, Gabriela, Thomas Zum Felde, Christelle Andre, and Stan Kubow. 2020. "The Potato and Its Contribution to the Human Diet and Health." In *The Potato Crop, Its Agricultural, Nutritional and Social Contribution to Humankind*, edited by Hugo Campos and Oscar Ortiz, 37–74. Switzerland: Springer, Cham.
25. Burlingame, Barbara, Beatrice Mouillé, and Ruth Charrondiere. 2009. "Nutrients, Bioactive Non-Nutrients and Anti-Nutrients in Potatoes." *Journal of Food Composition and Analysis* 22 (6): 494–502.
26. Burton, W. G. 1989. *The Potato*. 3rd edition. Harlow, Essex, England : New York: Wiley.
27. Busse, James S., and Jiwan P. Palta. 2006. "Investigating the in Vivo Calcium Transport Path to Developing Potato Tuber Using ⁴⁵Ca: A New Concept in Potato Tuber Calcium Nutrition." *Physiologia Plantarum* 128 (2): 313–23.
28. Butcher, David J. 2007. *Practical Inductively Coupled Plasma Spectroscopy*, John R. Dean, John Wiley and Sons, Chichester (2005), ISBN: 0-470-09349-8. Elsevier.
29. Camire, Mary Ellen, Stan Kubow, and Danielle J. Donnelly. 2009. "Potatoes and Human Health." *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 49 (10): 823–40.
30. Chen, Jie Yu, Han Zhang, Yelian Miao, and Mitsunaka Asakura. 2010. "Nondestructive Determination of Sugar Content in Potato Tubers Using Visible and near Infrared Spectroscopy." *Japan Journal of Food Engineering* 11 (1): 59–64.
31. Chung, Ill-Min, Jae-Kwang Kim, Yong-Ik Jin, Yong-Taek Oh, Mayakrishnan Prabakaran, Kyoung-Jin Youn, and Seung-Hyun Kim. 2016. "Discriminative Study of a Potato (*Solanum Tuberosum* L.) Cultivation Region by Measuring the Stable Isotope Ratios of Bio-Elements." *Food Chemistry* 212: 48–57.
32. Ciulu, Marco, Nadia Spano, Maria I. Pilo, and Gavino Sanna. 2016. "Recent Advances in the Analysis of Phenolic Compounds in Unifloral Honeys." *Molecules* 21 (4): 451.
33. Coïsson, Jean Daniel, E. Cereti, C. Garino, M. D'Andrea, M. Recupero, P. Restani, and Marco Arlorio. 2010. "Microchip Capillary Electrophoresis (Lab-on-Chip®) Improves Detection of

- Celery (*Apium Graveolens* L.) and Sesame (*Sesamum Indicum* L.) in Foods.” *Food Research International* 43 (5): 1237–43.
34. Čolović, Radmilo, Aleksandra Torbica, Dušica Ivanov, Jelena Tomić, Đuro Vukmirović, Jovanka Lević, and Ljubinko Lević. 2013. “Electrophoresis as a Method for Characterization of Protein Changes in Maize after Pelleting Process.” *Chemical Industry and Chemical Engineering Quarterly/CICEQ* 19 (2): 221–29.
35. Cooper, Julia, Roy Sanderson, Ismail Cakmak, Levent Ozturk, Peter Shotton, Andrew Carmichael, Reza Sadrabadi Haghighi, Catherine Tetard-Jones, Nikos Volakakis, and Mick Eyre. 2011. “Effect of Organic and Conventional Crop Rotation, Fertilization, and Crop Protection Practices on Metal Contents in Wheat (*Triticum Aestivum*).” *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 59 (9): 4715–24.
36. Dale, M. Finlay B., D. Wynne Griffiths, and Drummond T. Todd. 2003. “Effects of Genotype, Environment, and Postharvest Storage on the Total Ascorbate Content of Potato (*Solanum Tuberosum*) Tubers.” *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51 (1): 244–48.
37. De Wilde, Tineke, Bruno De Meulenaer, Frédéric Mestdagh, Yasmine Govaert, Wilfried Ooghe, Stéphanie Fraselle, Kürt Demeulemeester, Carlos Van Peteghem, André Calus, and Jean-Marie Degroodt. 2006. “Selection Criteria for Potato Tubers to Minimize Acrylamide Formation during Frying.” *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 54 (6): 2199–2205.
38. Devaux, André, Jean-Pierre Goffart, Athanasios Petsakos, Peter Kromann, Marcel Gatto, Julius Okello, Victor Suarez, and Guy Hareau. 2020. “Global Food Security, Contributions from Sustainable Potato Agri-Food Systems.” In *The Potato Crop, Its Agricultural, Nutritional and Social Contribution to Humankind*, edited by Hugo Campos and Oscar Ortiz, 3–35. Switzerland: Springer, Cham.
39. Dramićanin, Aleksandra M., Filip Lj Andrić, Dobrivoj Ž Poštić, Nebojša M. Momirović, and Dušanka M. Milojković-Opsenica. 2018. “Sugar Profiles as a Promising Tool in Tracing Differences between Potato Cultivation Systems, Botanical Origin and Climate Conditions.” *Journal of Food Composition and Analysis* 72: 57–65.
40. Everette, Jace D., Quinton M. Bryant, Ashlee M. Green, Yvonne A. Abbey, Grant W. Wangila, and Richard B. Walker. 2010. “Thorough Study of Reactivity of Various Compound Classes toward the Folin–Ciocalteu Reagent.” *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 58 (14): 8139–44.
41. Falcão, Soraia I., Miguel Vilas-Boas, Letícia M. Estevinho, Cristina Barros, Maria RM Domingues, and Susana M. Cardoso. 2010. “Phenolic Characterization of Northeast Portuguese Propolis: Usual and Unusual Compounds.” *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 396 (2): 887–97.
42. Farooq, Muhammad, and Kadambot HM Siddique. 2015. “Conservation Agriculture: Concepts, Brief History, and Impacts on Agricultural Systems.” In *Conservation Agriculture*, 3–17. Springer.
43. Fenech, Michael, and Lynnette R. Ferguson. 2001. *Vitamins/Minerals and Genomic Stability in Humans. Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*. Vol. 475. Elsevier.
44. Finckh, M. R., E. Schulte-Geldermann, and C. Bruns. 2006. “Challenges to Organic Potato Farming: Disease and Nutrient Management.” *Potato Research* 49 (1): 27–42.
45. Fling, Steven P., and Dale S. Gregerson. 1986. “Peptide and Protein Molecular Weight Determination by Electrophoresis Using a High-Molarity Tris Buffer System without Urea.” *Analytical Biochemistry* 155 (1): 83–88.
46. Folgado, Raquel, Kjell Sergeant, Jenny Renaut, Rony Swennen, Jean-Francois Hausman, and Bart Panis. 2014. “Changes in Sugar Content and Proteome of Potato in Response to Cold and Dehydration Stress and Their Implications for Cryopreservation.” *Journal of Proteomics* 98: 99–111.

47. French, Aaron, Marcelo Macedo, John Poulsen, Tyler Waterson, and Angela Yu. 2008. *Multivariate Analysis of Variance (MANOVA)*.
48. Friedman, Mendel. 1996. "Nutritional Value of Proteins from Different Food Sources. A Review." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 44 (1): 6–29.
49. Friedman, Mendel. 1997. "Chemistry, Biochemistry, and Dietary Role of Potato Polyphenols. A Review." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 45 (5): 1523–40.
50. Friedman, Mendel. 2015. "Chemistry and Anticarcinogenic Mechanisms of Glycoalkaloids Produced by Eggplants, Potatoes, and Tomatoes." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 63 (13): 3323–37.
51. Gabriel, Doreen, Steven M. Sait, William E. Kunin, and Tim G. Benton. 2013. "Food Production vs. Biodiversity: Comparing Organic and Conventional Agriculture." *Journal of Applied Ecology* 50 (2): 355–64.
52. Galdón, Beatriz Rodríguez, Lía Hernández Rodríguez, Domingo Ríos Mesa, Hernán Lorenzo León, Nadia Luna Pérez, Elena M. Rodríguez Rodríguez, and Carlos Díaz Romero. 2012. "Differentiation of Potato Cultivars Experimentally Cultivated Based on Their Chemical Composition and by Applying Linear Discriminant Analysis." *Food Chemistry* 133 (4): 1241–48.
53. Gallagher, Sean R. 2006. "One-dimensional SDS Gel Electrophoresis of Proteins." *Current Protocols in Immunology* 75 (1): 8.4. 1-8.4. 37.
54. Gašić, Uroš M. 2017. "Fitohemijski Markeri Botaničkog i Geografskog Porekla Meda." *Универзитет у Београду*.
55. Gerendás, Jóska, and Hendrik Fühns. 2013. "The Significance of Magnesium for Crop Quality." *Plant and Soil* 368 (1): 101–28.
56. Giannoccaro, Enzo, Ya-Jane Wang, and Pengyin Chen. 2006. "Effects of Solvent, Temperature, Time, Solvent-to-sample Ratio, Sample Size, and Defatting on the Extraction of Soluble Sugars in Soybean." *Journal of Food Science* 71 (1): C59–64.
57. Gibbons, Jean Dickinson, and Subhabrata Chakraborti. 2014. *Nonparametric Statistical Inference*. CRC press.
58. Gonzali, Silvia, Giacomo Novi, Elena Loreti, Fabio Paolicchi, Alessandra Poggi, Amedeo Alpi, and Pierdomenico Perata. 2005. "A Turanose-insensitive Mutant Suggests a Role for WOX5 in Auxin Homeostasis in Arabidopsis Thaliana." *The Plant Journal* 44 (4): 633–45.
59. Grembecka, Małgorzata, and Piotr Szefer. 2013. "Comparative Assessment of Essential and Heavy Metals in Fruits from Different Geographical Origins." *Environmental Monitoring and Assessment* 185 (11): 9139–60.
60. Gvozden, Goran M. 2016. "Ispitivanje Uticaja Konvencionalnog, Integralnog i Organskog Sistema Gajenja Na Produktivnost, Kvalitet i Biološku Vrednost Krompira." PhD Thesis, Univerzitet u Beogradu-Poljoprivredni fakultet.
61. Haase, N. U. 2007. "The Canon of Potato Science: 48. Maillard Reaction." *Potato Research* 50 (3): 407–9.
62. Hajšlová, J., V. Schulzova, P. Slanina, K. Janne, K. E. Hellenäs, and C. H. Andersson. 2005. "Quality of Organically and Conventionally Grown Potatoes: Four-Year Study of Micronutrients, Metals, Secondary Metabolites, Enzymic Browning and Organoleptic Properties." *Food Additives and Contaminants* 22 (6): 514–34.
63. Han, Jae-Sook, Nobuyuki Kozukue, Kyung-Soon Young, Kap-Rang Lee, and Mendel Friedman. 2004. "Distribution of Ascorbic Acid in Potato Tubers and in Home-Processed and Commercial Potato Foods." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 52 (21): 6516–21.
64. Hariri, Essa, Martine I. Abboud, Sally Demirdjian, Samira Korfali, Mohamad Mroueh, and Robin I. Taleb. 2015. "Carcinogenic and Neurotoxic Risks of Acrylamide and Heavy Metals from Potato and Corn Chips Consumed by the Lebanese Population." *Journal of Food Composition and Analysis* 42: 91–97.

65. Harris, Paul M. 2012. *The Potato Crop: The Scientific Basis for Improvement*. Springer Science & Business Media.
66. Heldt, Hans-Walter, and F. Heldt. 2005. "Secondary Metabolites Fulfill Specific Ecological Functions in Plants." *Plant Biochemistry* 3: 402–12.
67. Hoskin, Tanya. 2012. "Parametric and Nonparametric: Demystifying the Terms." In *Mayo Clinic*, 5:1–5.
68. Hou, Xiandeng, and Bradley T. Jones. 2000. *Inductively Coupled Plasma/Optical Emission Spectrometry. Encyclopedia of Analytical Chemistry*. Vol. 2000. John Wiley & Sons Chichester, UK.
69. Huang, Dejian, Boxin Ou, and Ronald L. Prior. 2005. "The Chemistry behind Antioxidant Capacity Assays." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53 (6): 1841–56.
70. Huberty, Carl J., and Stephen Olejnik. 2006. *Applied MANOVA and Discriminant Analysis*. John Wiley & Sons.
71. Hurtado-Fernández, Elena, María Gómez-Romero, Alegría Carrasco-Pancorbo, and Alberto Fernández-Gutiérrez. 2010. "Application and Potential of Capillary Electrophoresis Methods to Determine Antioxidant Phenolic Compounds from Plant Food Material." *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 53 (5): 1130–60.
72. Ierna, A., and M. G. Melilli. 2009. "Ascorbic Acid and Total Phenolics Content in Early Potatoes as Affected by Growing Season, Genotype and Harvest Time." In *III International Symposium on Human Health Effects of Fruits and Vegetables-FAVHEALTH 2009 1040*, 133–41.
73. Ierna, A., and B. Parisi. 2014. "Crop Growth and Tuber Yield of 'Early' Potato Crop under Organic and Conventional Farming." *Scientia Horticulturae* 165: 260–65.
74. Ignat, Ioana, Irina Volf, and Valentin I. Popa. 2011. "A Critical Review of Methods for Characterisation of Polyphenolic Compounds in Fruits and Vegetables." *Food Chemistry* 126 (4): 1821–35.
75. Ikanone, C. E. O., and P. O. Oyekan. 2014. "Effect of Boiling and Frying on the Total Carbohydrate, Vitamin C and Mineral Contents of Irish (*Solanum Tuberosum*) and Sweet (*Ipomea Batatas*) Potato Tubers." *Nigerian Food Journal* 32 (2): 33–39.
76. Ilić, Marija D. 2016. "Hemijski Sastav, Antioksidativna, Antimikrobna i Antiholinesterazna Aktivnost Biljnih Vrsta Seseli *Rigidum* i Seseli *Pallasii*." Doktorska disertacija, Niš: Univerzitet u Nišu, Prirodno-matematički fakultet, Departman za hemiju.
77. Jalaludin, Iqbal, and Jeongkwon Kim. 2021. "Comparison of Ultraviolet and Refractive Index Detections in the HPLC Analysis of Sugars." *Food Chemistry* 365: 130514.
78. Jorhem, Lars, and Premysl Slanina. 2000. "Does Organic Farming Reduce the Content of Cd and Certain Other Trace Metals in Plant Foods? A Pilot Study." *Journal of the Science of Food and Agriculture* 80 (1): 43–48.
79. Julich, Sandra, Marko Riedel, Mark Kielinski, Matthias Urban, Robert Kretschmer, Stefan Wagner, Wolfgang Fritzsche, Thomas Henkel, Robert Möller, and Sabine Werres. 2011. "Development of a Lab-on-a-Chip Device for Diagnosis of Plant Pathogens." *Biosensors and Bioelectronics* 26 (10): 4070–75.
80. Kachout, Salma Sai, Ameer Ben Mansoura, Rania Mechergui, Jean Claude Leclerc, Mohamed Nejib Rejeb, and Zeineb Ouerghi. 2012. "Accumulation of Cu, Pb, Ni and Zn in the Halophyte Plant *Atriplex* Grown on Polluted Soil." *Journal of the Science of Food and Agriculture* 92 (2): 336–42.
81. Kaneko, Miyuki, Hironori Itoh, Miyako Ueguchi-Tanaka, Motoyuki Ashikari, and Makoto Matsuoka. 2002. "The α -Amylase Induction in Endosperm during Rice Seed Germination Is Caused by Gibberellin Synthesized in Epithelium." *Plant Physiology* 128 (4): 1264–70.
82. Kaplan, Fatma, and Charles L. Guy. 2004. " β -Amylase Induction and the Protective Role of Maltose during Temperature Shock." *Plant Physiology* 135 (3): 1674–84.

83. Karadag, Ayse, Beraat Ozcelik, and Samim Saner. 2009. "Review of Methods to Determine Antioxidant Capacities." *Food Analytical Methods* 2 (1): 41–60.
84. Kärenlampi, Sirpa O., and Philip J. White. 2009. "Potato Proteins, Lipids, and Minerals." In *Advances in Potato Chemistry and Technology*, 99–125. Elsevier.
85. Kečkeš, Silvio, Uroš Gašić, Tanja Ćirković Veličković, Dušanka Milojković-Opsenica, Maja Natić, and Živoslav Tešić. 2013. "The Determination of Phenolic Profiles of Serbian Unifloral Honeys Using Ultra-High-Performance Liquid Chromatography/High Resolution Accurate Mass Spectrometry." *Food Chemistry* 138 (1): 32–40.
86. Kolbe, Hartmut, and Sabine Stephan-Beckmann. 1997. "Development, Growth and Chemical Composition of the Potato Crop (*Solanum Tuberosum* L.). II. Tuber and Whole Plant." *Potato Research* 40 (2): 135–53.
87. Koprivica, Marija. 2020. "Hemijska Karakterizacija Semena Breskve (*Prunus Persica* L.)." Beograd: Univerzitet u Beogradu, Hemijski fakultet.
88. Kovačević, Dušan, Branka Lazić, and Vesna Milić. 2011. "Uticaj Poljoprivrede Na Životnu Sredinu." *Međunarodi Naučni Skup Agronoma „Jahorina*.
89. Krasensky, Julia, and Claudia Jonak. 2012. "Drought, Salt, and Temperature Stress-Induced Metabolic Rearrangements and Regulatory Networks." *Journal of Experimental Botany* 63 (4): 1593–1608.
90. Lancaster, Jane E., Peter F. Reay, June Norris, and Ruth C. Butler. 2000. "Induction of Flavonoids and Phenolic Acids in Apple by UV-B and Temperature." *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology* 75 (2): 142–48.
91. Lehesranta, Satu J., Howard V. Davies, Louise VT Shepherd, Kaisa M. Koistinen, Nathalie Massat, Naoise Nunan, James W. McNicol, and Sirpa O. Kärenlampi. 2006. "Proteomic Analysis of the Potato Tuber Life Cycle." *Proteomics* 6 (22): 6042–52.
92. Lehesranta, Satu J., Howard V. Davies, Louise VT Shepherd, Naoise Nunan, Jim W. McNicol, Seppo Auriola, Kaisa M. Koistinen, Soile Suomalainen, Harri I. Kokko, and Sirpa O. Kärenlampi. 2005. "Comparison of Tuber Proteomes of Potato Varieties, Landraces, and Genetically Modified Lines." *Plant Physiology* 138 (3): 1690–99.
93. Lehesranta, Satu J., Kaisa M. Koistinen, Nathalie Massat, Howard V. Davies, Louise VT Shepherd, James W. McNicol, Ismail Cakmak, Julia Cooper, Lorna Lück, and Sirpa O. Kärenlampi. 2007. "Effects of Agricultural Production Systems and Their Components on Protein Profiles of Potato Tubers." *Proteomics* 7 (4): 597–604.
94. Lei, Can, Qiong Ma, Qiao Y. Tang, Xun R. Ai, Zhi Zhou, Lan Yao, Ying Wang, Qing Wang, and Jing Z. Dong. 2014. "Sodium Selenite Regulates Phenolics Accumulation and Tuber Development of Purple Potatoes." *Scientia Horticulturae* 165: 142–47.
95. Leo, Lucia, Antonella Leone, Cristiano Longo, Domenico Antonio Lombardi, Francesco Raimo, and Giuseppe Zacheo. 2008. "Antioxidant Compounds and Antioxidant Activity in 'Early Potatoes.'" *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 56 (11): 4154–63.
96. Li, Yun, Ying Liu, Rongrong Liu, Siyi Liu, Xiuping Zhang, Zijian Wang, Jiayu Zhang, and Jianqiu Lu. 2015. "HPLC-LTQ-Orbitrap MS n Profiling Method to Comprehensively Characterize Multiple Chemical Constituents in Xiao-Er-Qing-Jie Granules." *Analytical Methods* 7 (18): 7511–26.
97. Liao, Wayne C., Yung-Chang Lai, Ming-Chen Yuan, Ya-Lin Hsu, and Chin-Feng Chan. 2011. "Antioxidative Activity of Water Extract of Sweet Potato Leaves in Taiwan." *Food Chemistry* 127 (3): 1224–28.
98. Lombardo, Sara, Gaetano Pandino, and Giovanni Mauromicale. 2012. "Nutritional and Sensory Characteristics of 'Early' Potato Cultivars under Organic and Conventional Cultivation Systems." *Food Chemistry* 133 (4): 1249–54.
99. Lombardo, Sara, Gaetano Pandino, and Giovanni Mauromicale. 2017. "The Effect on Tuber Quality of an Organic versus a Conventional Cultivation System in the Early Crop Potato." *Journal of Food Composition and Analysis* 62: 189–96.

100. Lovat, Christie, Atef MK Nassar, Stan Kubow, Xiu-Qing Li, and Danielle J. Donnelly. 2016. "Metabolic Biosynthesis of Potato (*Solanum Tuberosum* L.) Antioxidants and Implications for Human Health." *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 56 (14): 2278–2303.
101. Love, S. L., T. Salaiz, A. R. Mosley, B. Shafii, W. J. Price, and R. E. Thornton. 2003. "Ascorbic Acid Concentration and Stability in North American Potato Germplasm." *Acta Horticulturae*.
102. Lucci, Paolo, Javier Saurina, and Oscar Núñez. 2017. "Trends in LC-MS and LC-HRMS Analysis and Characterization of Polyphenols in Food." *TrAC Trends in Analytical Chemistry* 88: 1–24.
103. Lutaladio, NeBambi, and Luigi Castaldi. 2009. "Potato: The Hidden Treasure." *Journal of Food Composition and Analysis* 22 (6): 491–93.
104. Manach, Claudine, Augustin Scalbert, Christine Morand, Christian Rémésy, and Liliana Jiménez. 2004. "Polyphenols: Food Sources and Bioavailability." *The American Journal of Clinical Nutrition* 79 (5): 727–47.
105. Maness, Niels. 2010. "Extraction and Analysis of Soluble Carbohydrates." In *Plant Stress Tolerance*, 341–70. Springer.
106. Mansour, Sameeh A., Mohamed H. Belal, Asem AK Abou-Arab, Hany M. Ashour, and Marwa F. Gad. 2009. "Evaluation of Some Pollutant Levels in Conventionally and Organically Farmed Potato Tubers and Their Risks to Human Health." *Food and Chemical Toxicology* 47 (3): 615–24.
107. Mar Verde Méndez, Candelaria del, Miguel Ángel Rodríguez Delgado, Elena María Rodríguez Rodríguez, and Carlos Díaz Romero. 2004. "Content of Free Phenolic Compounds in Cultivars of Potatoes Harvested in Tenerife (Canary Islands)." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 52 (5): 1323–27.
108. Martinenko, Anastasija B., Vesna S. Jevremović, Petko R. Vranić, Jovan M. Popović, and Marko M. Pejić. 2021. "Statistički Testovi i Njihova Primena u Geodeziji." *Tehnika*.
109. Mattila, Pirjo, and Jarkko Hellström. 2007. "Phenolic Acids in Potatoes, Vegetables, and Some of Their Products." *Journal of Food Composition and Analysis* 20 (3–4): 152–60.
110. Mazurek, Artur, and Jerzy Jamroz. 2015. "Precision of Dehydroascorbic Acid Quantitation with the Use of the Subtraction Method—Validation of HPLC–DAD Method for Determination of Total Vitamin C in Food." *Food Chemistry* 173: 543–50.
111. McCarthy, Owen J., Jaspreet Singh, and Lovedeep Kaur. 2009. "Potato Starch and Its Modification." In *Advances in Potato Chemistry and Technology*, edited by Jaspreet Singh and Lovedeep Kaur, 1st edition, 273–318. Cambridge, Massachusetts: Academic press.
112. Mengel, Konrad, Ernest A. Kirkby, Harald Kosegarten, and Thomas Appel. 2001. "Plant Water Relationships." In *Principles of Plant Nutrition*, 181–242. Springer.
113. Meyer, Veronika R. 2013. *Practical High-Performance Liquid Chromatography*. John Wiley & Sons.
114. Milojković-Opsenica, Dušanka, Petar Ristivojević, Filip Andrić, and Jelena Trifković. 2013. "Planar Chromatographic Systems in Pattern Recognition and Fingerprint Analysis." *Chromatographia* 76 (19): 1239–47.
115. Nebojša Momirović, Dušan Kovačević, Željko Dolijanović (2021): Tehnologija biljne proizvodnje u ratarstvu i povrtarstvu sa humanističkog aspekta zaštite čoveka i prirode. Naučno-stručni skup: Đorđe Radić-rodonačelnik moderne poljoprivrede u Srbiji, 180 godina od rođenja prvog doktora poljoprivrednih nauka kod Srba. Akademski odbor za selo SANU-a, Beograd. Knjiga CXSIV, Odeljenje hemijskih i bioloških nauka Knjiga 18. Zbornik radova, 127-165. ISBN: 978-86-80067-46-9 (SITS); 978-86-7025-891-4 (SANU)
116. Moore, John P., Jill M. Farrant, and Azeddine Driouich. 2008. "A Role for Pectin-Associated Arabinans in Maintaining the Flexibility of the Plant Cell Wall during Water Deficit Stress." *Plant Signaling & Behavior* 3 (2): 102–4.

117. Mouradian, Stephane. 2002. "Lab-on-a-Chip: Applications in Proteomics." *Current Opinion in Chemical Biology* 6 (1): 51–56.
118. Mudrić, Sanja Ž, Uroš M. Gašić, Aleksandra M. Dramićanin, Ivanka Ž Ćirić, Dušanka M. Milojković-Opsenica, Jelena B. Popović-Đorđević, Nebojša M. Momirović, and Živoslav Lj Tešić. 2017. "The Polyphenolics and Carbohydrates as Indicators of Botanical and Geographical Origin of Serbian Autochthonous Clones of Red Spice Paprika." *Food Chemistry* 217: 705–15.
119. Muir, Jane G., Rosmary Rose, Ourania Rosella, Kelly Liels, Jacqueline S. Barrett, Susan J. Shepherd, and Peter R. Gibson. 2009. "Measurement of Short-Chain Carbohydrates in Common Australian Vegetables and Fruits by High-Performance Liquid Chromatography (HPLC)." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 57 (2): 554–65.
120. Muttucumaru, Nira, Stephen J. Powers, J. Stephen Elmore, Donald S. Mottram, and Nigel G. Halford. 2015. "Effects of Water Availability on Free Amino Acids, Sugars, and Acrylamide-Forming Potential in Potato." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 63 (9): 2566–75.
121. Naidu, K. Akhilender. 2003. "Vitamin C in Human Health and Disease Is Still a Mystery? An Overview." *Nutrition Journal* 2 (1): 1–10.
122. Neideen, Todd, and Karen Brasel. 2007. "Understanding Statistical Tests." *Journal of Surgical Education* 64 (2): 93–96.
123. Nesterenko, P.N., and B. Paull. 2017. "Ion Chromatography." In *Liquid Chromatography: Fundamentals and Instrumentation*, edited by Colin Poole, Salvatore Fanali, Paul Raymond Haddad, and Marja Riekkola, 2nd edition. Elsevier.
124. Nölte, Joachim. 2021. *ICP Emission Spectrometry: A Practical Guide*. John Wiley & Sons.
125. Ohara-Takada, Akiko, Chie Matsuura-Endo, Yoshihiro Chuda, Hiroshi Ono, Hiroshi Yada, Mitsuru Yoshida, Akira Kobayashi, Shogo Tsuda, Shigenobu Takigawa, and Takahiro Noda. 2005. "Change in Content of Sugars and Free Amino Acids in Potato Tubers under Short-Term Storage at Low Temperature and the Effect on Acrylamide Level after Frying." *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry* 69 (7): 1232–38.
126. Oruna-Concha, Maria Jose, S. Craig Duckham, and Jennifer M. Ames. 2001. "Comparison of Volatile Compounds Isolated from the Skin and Flesh of Four Potato Cultivars after Baking." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 49 (5): 2414–21.
127. Pascual-Mate, Ana, Sandra M. Oses, Miguel A. Fernandez-Muino, and M. Teresa Sancho. 2018. "Methods of Analysis of Honey." *Journal of Apicultural Research* 57 (1): 38–74.
128. Pascual-Teresa, Sonia de, and Maria Teresa Sanchez-Ballesta. 2008. "Anthocyanins: From Plant to Health." *Phytochemistry Reviews* 7 (2): 281–99.
129. Perry, Richard H., R. Graham Cooks, and Robert J. Noll. 2008. "Orbitrap Mass Spectrometry: Instrumentation, Ion Motion and Applications." *Mass Spectrometry Reviews* 27 (6): 661–99.
130. Pinhero, Reena Grittle, Renuka Nilmini Waduge, Qiang Liu, J. Alan Sullivan, Rong Tsao, Benoit Bizimungu, and Rickey Y. Yada. 2016. "Evaluation of Nutritional Profiles of Starch and Dry Matter from Early Potato Varieties and Its Estimated Glycemic Impact." *Food Chemistry* 203: 356–66.
131. Poštić, Dobrivoj Ž. 2013. "Utica j Porekla Sadnog Materijala i Veličine Semenske Krtole Na Morfološke i Produktivne Osobine Krompira." Beograd: Univerzitet u Beogradu-Poljoprivredni fakultet.
132. Pouvreau, L., H. Gruppen, S. R. Piersma, L. A. M. Van den Broek, G. A. Van Koningsveld, and A. G. J. Voragen. 2001. "Relative Abundance and Inhibitory Distribution of Protease Inhibitors in Potato Juice from Cv. Elkana." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 49 (6): 2864–74.
133. Prado, Fernando Eduardo, Cecilia Boero, Miriam Rosa Angela Gallardo, and Juan Antonio González. 2000. "Effect of NaCl on Growth Germination and Soluble Sugars Content in Chenopodium Quinoa Willd. Seeds."

134. Raatz, Susan K., Laura Idso, LuAnn K. Johnson, Matthew I. Jackson, and Gerald F. Combs Jr. 2016. "Resistant Starch Analysis of Commonly Consumed Potatoes: Content Varies by Cooking Method and Service Temperature but Not by Variety." *Food Chemistry* 208: 297–300.
135. Rady, Ahmed M., and Daniel E. Guyer. 2015. "Evaluation of Sugar Content in Potatoes Using NIR Reflectance and Wavelength Selection Techniques." *Postharvest Biology and Technology* 103: 17–26.
136. Reid, R. J., K. R. Dunbar, and Michael J. McLaughlin. 2003. "Cadmium Loading into Potato Tubers: The Roles of the Periderm, Xylem and Phloem." *Plant, Cell & Environment* 26 (2): 201–6.
137. Santacruz, Stalin, Kristine Koch, Roger Andersson, and Per Åman. 2004. "Characterization of Potato Leaf Starch." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 52 (7): 1985–89.
138. Senbayram, Mehmet, Andreas Gransee, Verena Wahle, and Heike Thiel. 2015. "Role of Magnesium Fertilisers in Agriculture: Plant–Soil Continuum." *Crop and Pasture Science* 66 (12): 1219–29.
139. Shakya, Roshani, and Duroy A. Navarre. 2006. "Rapid Screening of Ascorbic Acid, Glycoalkaloids, and Phenolics in Potato Using High-Performance Liquid Chromatography." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 54 (15): 5253–60.
140. Sharma, Pallavi, Ambuj Bhushan Jha, Rama Shanker Dubey, and Mohammad Pessaraki. 2012. "Reactive Oxygen Species, Oxidative Damage, and Antioxidative Defense Mechanism in Plants under Stressful Conditions." *Journal of Botany* 2012.
141. Sheldon, Michael R., Michael J. Fillyaw, and W. Douglas Thompson. 1996. "The Use and Interpretation of the Friedman Test in the Analysis of Ordinal-scale Data in Repeated Measures Designs." *Physiotherapy Research International* 1 (4): 221–28.
142. Shiroma-Kian, Cecilia, David Tay, Iván Manrique, M. Monica Giusti, and Luis E. Rodriguez-Saona. 2008. "Improving the Screening Process for the Selection of Potato Breeding Lines with Enhanced Polyphenolics Content." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 56 (21): 9835–42.
143. Silva, Tania Maria Sarmiento, Franciana Pereira dos Santos, Adriana Evangelista-Rodrigues, Eva Mônica Sarmiento da Silva, Gerlania Sarmiento da Silva, Jailson Santos de Novais, Francisco de Assis Ribeiro dos Santos, and Celso Amorim Camara. 2013. "Phenolic Compounds, Melissopalynological, Physicochemical Analysis and Antioxidant Activity of Jandaira (Melipona Subnitida) Honey." *Journal of Food Composition and Analysis* 29 (1): 10–18.
144. Sowokinos, Joseph R. 2007. "Internal Physiological Disorders and Nutritional and Compositional Factors That Affect Market Quality." In *Potato Biology and Biotechnology*, 501–23. Elsevier.
145. Spínola, Vítor, Eulogio J. Llorent-Martínez, and Paula C. Castilho. 2014. "Determination of Vitamin C in Foods: Current State of Method Validation." *Journal of Chromatography A* 1369: 2–17.
146. Spínola, Vítor, Berta Mendes, José S. Câmara, and Paula C. Castilho. 2012. "An Improved and Fast UHPLC-PDA Methodology for Determination of L-Ascorbic and Dehydroascorbic Acids in Fruits and Vegetables. Evaluation of Degradation Rate during Storage." *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 403 (4): 1049–58.
147. Stark, Jeffrey C., and Stephen L. Love. 2003. "Tuber Quality." In *Potato Production Systems*, edited by Jeffrey C. Stark and Stephen L. Love, 329–42. Moscow, Idaho: University of Idaho.
148. Suárez, M. Hernández, EM Rodríguez Rodríguez, and C. Díaz Romero. 2007. "Mineral and Trace Element Concentrations in Cultivars of Tomatoes." *Food Chemistry* 104 (2): 489–99.
149. Subramanian, Nithya K., Philip J. White, Martin R. Broadley, and Gavin Ramsay. 2011. "The Three-Dimensional Distribution of Minerals in Potato Tubers." *Annals of Botany* 107 (4): 681–91.

150. Sveučilište u Splitu, Kemijsko-tehnološki fakultet, Zavod za analitičku kemiju. 2010. "Analitika Prehrambenih Proizvoda." Sveučilište u Splitu, Kemijsko-tehnološki fakultet, Zavod za analitičku kemiju. <https://www.docsity.com/sr/analitika-prehrambenih-proizvoda-skripta/635832/>.
151. Tack, Filip MG. 2014. "Trace Elements in Potato." *Potato Research* 57 (3): 311–25.
152. Tadesse, M., W. J. M. Lommen, and P. C. Struik. 2001. "Development of Micropropagated Potato Plants over Three Phases of Growth as Affected by Temperature in Different Phases." *NJAS: Wageningen Journal of Life Sciences* 49 (1): 53–66.
153. Teucher, Olivares, and Cori. 2004. "Enhancers of Iron Absorption: Ascorbic Acid and Other Organic Acids." *International Journal for Vitamin and Nutrition Research* 74 (6): 403–19.
154. Thomas, Robert. 2008. *Practical Guide to ICP-MS: A Tutorial for Beginners*. CRC press.
155. Thompson, Asunta L., Stephen L. Love, Joseph R. Sowokinos, Michael K. Thornton, and Clinton C. Shock. 2008. "Review of the Sugar End Disorder in Potato (*Solanum Tuberosum*, L.)." *American Journal of Potato Research* 85 (5): 375–86.
156. Trifković, Jelena. 2013. "Određivanje Kvantitativnog Odnosa Strukture i Retencije Arilpiperazina Primenom Tečne Hromatografije i Multivarijantnih Hemometrijskih Metoda." Универзитет у Београду.
157. Turakainen, Marja, Helinä Hartikainen, and Mervi M. Seppänen. 2004. "Effects of Selenium Treatments on Potato (*Solanum Tuberosum* L.) Growth and Concentrations of Soluble Sugars and Starch." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 52 (17): 5378–82.
158. "Understanding Descriptive and Inferential Statistics | Laerd Statistics." n.d. Accessed February 27, 2022. <https://statistics.laerd.com/statistical-guides/descriptive-inferential-statistics.php>.
159. Van Delden, Arnout. 2001. "Yield and Growth Components of Potato and Wheat under Organic Nitrogen Management." *Agronomy Journal* 93 (6): 1370–85.
160. Varmuza, Kurt, and Peter Filzmoser. 2016. *Introduction to Multivariate Statistical Analysis in Chemometrics*. CRC press.
161. Vinson, Joe A., Cheryl A. Demkosky, Duroy A. Navarre, and Melissa A. Smyda. 2012. "High-Antioxidant Potatoes: Acute in Vivo Antioxidant Source and Hypotensive Agent in Humans after Supplementation to Hypertensive Subjects." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 60 (27): 6749–54.
162. Vukadinović, Jelena. 2021. "Uticaj Herbicida Nikosulfurona i Mezo-triona i Folijarnog Đubriva Na Sadržaj Fitohemikalija u Listu i Zrnu Kukuruzna Šećerca." Универзитет у Београду.
163. Waglay, Amanda, Salwa Karboune, and Inteaz Alli. 2014. "Potato Protein Isolates: Recovery and Characterization of Their Properties." *Food Chemistry* 142: 373–82.
164. Walker, John M. 1996. *The Protein Protocols Handbook*. Vol. 1996. Springer Science & Business Media.
165. Wang, X. J., W. B. Wang, L. Yang, L. Jin, Y. Song, S. J. Jiang, and L. L. Qin. 2015. "Transport Pathways of Cadmium (Cd) and Its Regulatory Mechanisms in Plant." *Acta Ecol. Sin* 35 (23): 7921–29.
166. Wang-Pruski, G. 2007. "The Canon of Potato Science: 47. After-Cooking Darkening." *Potato Research* 50 (3): 403–6.
167. "Western Blot Protocols Part 1 - Creative Diagnostics." n.d. Accessed February 27, 2022. <https://www.creative-diagnostics.com/Sample-Gel-Preparation.htm>.
168. Wheeler, Raymond M. 2009. "Potatoes for Human Life Support in Space." In *Advances in Potato Chemistry and Technology*, 465–95. Elsevier.
169. White, Philip J., and Martin R. Broadley. 2009. "Biofortification of Crops with Seven Mineral Elements Often Lacking in Human Diets—Iron, Zinc, Copper, Calcium, Magnesium, Selenium and Iodine." *New Phytologist* 182 (1): 49–84.

170. Wichrowska, Dorota, and Małgorzata Szczepanek. 2020. "Possibility of Limiting Mineral Fertilization in Potato Cultivation by Using Bio-Fertilizer and Its Influence on Protein Content in Potato Tubers." *Agriculture* 10 (10): 442.
171. Winkel-Shirley, Brenda. 2001. "Flavonoid Biosynthesis. A Colorful Model for Genetics, Biochemistry, Cell Biology, and Biotechnology." *Plant Physiology* 126 (2): 485–93.
172. Wolf, S., A. Marani, and J. Rudich. 1991. "Effect of Temperature on Carbohydrate Metabolism in Potato Plants." *Journal of Experimental Botany* 42 (5): 619–25.
173. Woolfe, Jennifer A., Woolfe Jennifer A. Woolfe, and Susan V. Poats. 1987. *The Potato in the Human Diet*. Cambridge University Press.
174. Xia, Yinglin. 2020. "Correlation and Association Analyses in Microbiome Study Integrating Multiomics in Health and Disease." *Progress in Molecular Biology and Translational Science* 171: 309–491.
175. Xiong, Xiuming, Zhaoqiang Chen, Benjamin P. Cossins, Zhijian Xu, Qiang Shao, Kai Ding, Weiliang Zhu, and Jiye Shi. 2015. "Force Fields and Scoring Functions for Carbohydrate Simulation." *Carbohydrate Research* 401: 73–81.
176. Yu, X. J., J. Y. Zhang, Q. Q. Liu, Z. S. Wu, S. S. Liu, Hang Shi, and Qun Ma. 2013. "Chemical Profiling of Fifty Constituents in Qi-Gui-Yin Granule (QGY) by on-Line High-Performance Liquid Chromatography Coupled with ESI-LTQ-Orbitrap Mass Spectrometer." *Res. J. Chem. Environ* 17: 16–27.
177. Yuan, Bo, Ling-wei Xue, Qiu-yue Zhang, Wan-wan Kong, Jun Peng, Meng Kou, and Ji-hong Jiang. 2016. "Essential Oil from Sweet Potato Vines, a Potential New Natural Preservative, and an Antioxidant on Sweet Potato Tubers: Assessment of the Activity and the Constitution." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 64 (40): 7481–91.
178. Zand, Nazanin, Babur Z. Chowdhry, Francis B. Zotor, David S. Wray, Paul Amuna, and Frank S. Pullen. 2011. "Essential and Trace Elements Content of Commercial Infant Foods in the UK." *Food Chemistry* 128 (1): 123–28.
179. Zhang, Jing, Xiao-Jie Xu, Wen Xu, Juan Huang, Da-yuan Zhu, and Xiao-Hui Qiu. 2015. "Rapid Characterization and Identification of Flavonoids in Radix Astragali by Ultra-High-Pressure Liquid Chromatography Coupled with Linear Ion Trap-Orbitrap Mass Spectrometry." *Journal of Chromatographic Science* 53 (6): 945–52.
180. Zhang, Qun-Qun, DONG Xin, L. I. U. Xin-Guang, G. A. O. Wen, L. I. Ping, and YANG Hua. 2016. "Rapid Separation and Identification of Multiple Constituents in Danhong Injection by Ultra-High Performance Liquid Chromatography Coupled to Electrospray Ionization Quadrupole Time-of-Flight Tandem Mass Spectrometry." *Chinese Journal of Natural Medicines* 14 (2): 147–60.
181. Zhang, Xiao-Hua, Hai-Long Wu, Jian-Yao Wang, De-Zhu Tu, Chao Kang, Juan Zhao, Yao Chen, Xiao-Xia Miu, and Ru-Qin Yu. 2013. "Fast HPLC-DAD Quantification of Nine Polyphenols in Honey by Using Second-Order Calibration Method Based on Trilinear Decomposition Algorithm." *Food Chemistry* 138 (1): 62–69.
182. Zimmerman, Donald W., and Bruno D. Zumbo. 1993. "Relative Power of the Wilcoxon Test, the Friedman Test, and Repeated-Measures ANOVA on Ranks." *The Journal of Experimental Education* 62 (1): 75–86.
183. Zlatić, Božidarka. 2011. "Analiza Glavnih Komponenti." Master rad, Beograd: Univerzitet u Beogradu, Matematički fakultet.
184. Zommick, Daniel H., Lisa O. Knowles, Mark J. Pavek, and N. Richard Knowles. 2014. "In-Season Heat Stress Compromises Postharvest Quality and Low-Temperature Sweetening Resistance in Potato (*Solanum Tuberosum* L.)." *Planta* 239 (6): 1243–63.
185. Zörb, Christian, Georg Langenkämper, Thomas Betsche, Karsten Niehaus, and Aiko Barsch. 2006. "Metabolite Profiling of Wheat Grains (*Triticum Aestivum* L.) from Organic and Conventional Agriculture." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 54 (21): 8301–6.

186. Zubarev, Roman A., and Alexander Makarov. 2013. Orbitrap Mass Spectrometry. ACS Publications.

7. PRILOG

Tabela P1. Sadržaj makro- i mikrokomponenta šećera (g/kg) (Glc – glukoza, Fru – fruktoza, Sac – saharoza, Thr – trehaloza, Mal – maltoza, Ara – arabinoza, Tur – turanoza, Rib – riboza, Gent – gentiobioza, Ism – izomaltoza, Pan – panoza, Ismt – izomaltotrioza, Malt – maltotrioza, Mel – melibioza, Gal – galaktoza, Xsy – ksiloza, Sor – sorbitol, Glt – galaktitol) i skrob (%) u jezgru (J) i kori (K) četiri sorte krompira (M - Marabel, F - Red Fantasy, L - Laura, J - Jelly) proizvedenim u tri sistema gajenja (K - konvencionalni, I - integralni, O - organski) tokom trogodišnjeg perioda proizvodnje (2013, 2014. i 2015)

RB uzorka	Sistem gajenja/Sorta/Godina/Jezgro	Sor	Thr	Ara	Glc	Fru	Sac	Tur	Glt	Gal	Rib	Ism	Ismt	Mal	Malt	Xsy	Mel	Gent	Pan	skrob
1	KM13J	0.58	1.44	0.91	19.7	25.5	71.7	0.94	0.18	5.60	0.44	1.10	0.03	3.25	0.60	1.53	1.27	0.01	1.23	81.3
2	KM13J	0.57	1.49	0.91	19.3	25.8	72.4	0.93	0.21	5.87	0.39	0.99	0.02	3.66	0.54	1.69	1.16	0.01	1.20	81.3
3	KM13J	0.59	1.36	0.91	19.2	25.2	71.7	0.93	0.19	5.60	0.34	0.82	0.03	3.74	0.48	1.58	1.19	0.01	1.20	81.9
4	IM13J	0.74	1.75	0.83	12.0	16.3	75.1	0.20	0.15	1.12	0.16	0.47	0.04	1.37	1.70	0.92	0.76	0.02	1.07	70.3
5	IM13J	0.74	1.85	0.84	12.1	17.0	76.2	0.21	0.11	1.23	0.18	0.48	0.05	1.40	1.98	0.97	0.71	0.02	1.02	69.7
6	IM13J	0.73	1.87	0.83	11.9	16.4	75.5	0.20	0.13	0.97	0.14	0.57	0.04	1.30	1.59	1.20	0.62	0.03	1.01	70.5
7	OM13J	0.07	0.55	0.65	7.53	8.92	69.0	0.16	0.08	0.58	0.11	0.73	0.05	0.44	0.25	0.64	0.79	0.02	0.60	67.8
8	OM13J	0.07	0.56	0.64	8.50	8.84	69.0	0.16	0.08	0.57	0.10	0.72	0.05	0.53	0.23	0.80	0.78	0.02	0.59	67.3
9	OM13J	0.07	0.57	0.64	7.06	9.11	69.1	0.16	0.06	0.59	0.10	0.78	0.06	0.51	0.28	0.84	0.85	0.02	0.61	68.7
10	KF13J	0.76	1.46	0.95	2.36	6.68	2.44	0.86	0.46	2.43	0.84	0.63	0.10	3.00	1.06	1.93	0.78	0.15	2.36	79.3
11	KF13J	0.75	1.45	0.95	2.36	6.68	2.45	0.84	0.52	2.14	0.88	0.79	0.09	3.24	1.00	1.35	0.86	0.13	2.46	80.5
12	IF13J	0.18	1.67	0.81	1.47	5.63	6.79	0.46	0.27	0.18	0.18	0.67	0.20	1.85	0.99	0.25	0.72	0.18	1.02	68.4
13	IF13J	0.18	1.66	0.81	1.45	5.62	6.73	0.46	0.26	0.19	0.16	0.64	0.21	1.87	0.97	0.27	0.72	0.18	1.14	69.8
14	OF13J	0.08	0.55	0.61	1.04	1.36	0.78	0.34	0.06	0.66	0.32	1.07	0.22	1.13	0.65	0.23	0.16	0.10	0.79	66.8
15	OF13J	0.08	0.56	0.60	1.05	1.37	0.78	0.34	0.07	0.63	0.40	0.82	0.20	1.10	0.63	0.23	0.19	0.10	0.74	67.3
16	KL13J	0.26	1.11	0.92	3.51	7.08	0.24	1.91	0.02	2.11	0.73	0.44	0.57	0.91	5.55	0.32	0.48	0.08	0.05	77.3
17	KL13J	0.26	1.11	0.93	3.55	7.09	0.24	1.91	0.02	2.13	0.72	0.53	0.58	0.98	5.87	0.39	0.57	0.08	0.05	77.8
18	IL13J	0.18	1.12	0.81	0.15	0.98	1.55	0.95	0.71	0.44	0.21	0.52	0.44	2.00	3.21	0.94	0.57	0.09	2.55	70.8
19	IL13J	0.19	1.12	0.81	0.15	0.98	1.56	0.95	0.65	0.40	0.30	0.32	0.46	2.09	3.54	0.92	0.55	0.08	2.35	71.7
20	OL13J	0.09	0.55	0.60	0.10	0.28	0.08	0.71	0.01	0.21	0.15	0.09	0.23	0.10	1.60	0.05	0.04	0.04	0.03	68.6
21	OL13J	0.09	0.50	0.60	0.10	0.28	0.08	0.71	0.01	0.20	0.14	0.09	0.20	0.10	1.66	0.06	0.04	0.04	0.02	68.9
22	KJ13J	0.21	1.58	0.99	3.39	2.08	13.3	1.23	0.46	4.39	0.59	0.85	0.62	2.19	0.63	0.73	0.37	0.36	1.63	81.2
23	KJ13J	0.20	1.57	0.98	3.35	2.08	13.6	1.22	0.48	4.06	0.59	0.88	0.56	2.46	0.62	0.71	0.47	0.38	1.71	83.0
24	KJ13J	0.21	1.58	0.98	3.69	2.04	13.7	1.24	0.47	4.86	0.53	0.89	0.52	2.50	0.76	0.64	0.44	0.33	1.67	79.2
25	IJ13J	0.31	1.26	0.88	1.12	1.30	0.16	0.98	0.11	1.32	0.37	0.44	0.49	1.66	0.52	0.36	0.38	0.17	1.11	63.6
26	IJ13J	0.31	1.25	0.88	1.01	1.29	0.15	0.94	0.12	1.64	0.44	0.43	0.49	1.66	0.50	0.23	0.32	0.15	1.10	64.1
27	IJ13J	0.31	1.26	0.88	1.06	1.26	0.15	0.99	0.13	1.77	0.30	0.42	0.43	1.58	0.52	0.29	0.36	0.16	1.06	63.6
28	OJ13J	0.10	0.50	0.60	0.08	0.14	0.12	0.49	0.02	0.16	0.15	0.31	0.30	0.06	0.20	0.14	0.14	0.07	1.21	67.3
29	OJ13J	0.10	0.51	0.60	0.08	0.14	0.12	0.49	0.02	0.19	0.15	0.31	0.31	0.06	0.24	0.12	0.14	0.07	1.11	67.6
30	OJ13J	0.10	0.51	0.60	0.09	0.14	0.12	0.49	0.02	0.18	0.15	0.29	0.30	0.06	0.22	0.12	0.14	0.07	1.24	68.2

Tabela P1. Nastavak.

RB uzorka	Sistem gajenja/Sorta/Godina/Jezgro	Sor	Thr	Ara	Glc	Fru	Sac	Tur	Glt	Gal	Rib	Ism	Ismt	Mal	Malt	Xsy	Mel	Gent	Pan	skrob
31	KM14J	0.04	0.26	0.54	0.68	11.0	25.0	3.98	0.02	0.15	0.28	0.74	0.38	0.58	0.24	0.57	0.05	0.85	0.10	82.9
32	KM14J	0.03	0.26	0.54	0.67	10.9	25.1	3.98	0.03	0.16	0.29	0.72	0.39	0.60	0.26	0.56	0.05	0.87	0.11	82.4
33	KM14J	0.03	0.26	0.53	0.68	10.6	24.9	3.99	0.02	0.16	0.28	0.73	0.40	0.59	0.24	0.57	0.05	0.89	0.12	82.6
34	IM14J	0.06	0.31	0.27	0.50	3.80	23.0	2.32	0.02	0.12	0.25	0.64	0.35	0.87	0.31	0.40	0.05	0.80	0.10	68.9
35	IM14J	0.06	0.31	0.27	0.51	3.72	23.0	2.31	0.02	0.11	0.21	0.65	0.34	0.89	0.32	0.37	0.05	0.78	0.10	68.4
36	IM14J	0.06	0.31	0.27	0.51	3.72	23.0	2.32	0.02	0.13	0.24	0.62	0.37	0.89	0.32	0.34	0.05	0.77	0.10	68.9
37	OM14J	0.01	0.18	0.21	0.36	0.27	19.0	1.68	0.01	0.05	0.15	0.44	0.21	1.11	0.09	0.21	0.04	0.65	0.04	71.5
38	OM14J	0.01	0.14	0.21	0.36	0.27	18.9	1.67	0.01	0.06	0.14	0.40	0.21	1.13	0.10	0.21	0.04	0.66	0.04	72.1
39	OM14J	0.01	0.14	0.21	0.36	0.28	19.0	1.69	0.12	0.06	0.13	0.46	0.30	1.09	0.01	0.25	0.04	0.65	0.04	72.7
40	KF14J	0.04	0.23	0.16	1.57	1.94	0.63	3.65	0.02	0.77	0.01	0.25	0.32	0.43	0.06	0.43	0.41	1.50	0.13	79.9
41	KF14J	0.04	0.23	0.16	1.58	1.94	0.63	3.64	0.02	0.69	0.01	0.23	0.26	0.46	0.06	0.45	0.39	1.41	0.13	80.8
42	IF14J	0.06	0.23	0.07	0.89	0.98	2.26	1.44	0.03	0.77	0.22	0.54	0.14	0.22	0.05	0.30	0.27	1.00	0.11	68.9
43	IF14J	0.06	0.22	0.07	0.87	0.97	2.24	1.44	0.03	0.84	0.24	0.50	0.11	0.21	0.05	0.33	0.29	0.91	0.10	68.6
44	OF14J	0.03	0.05	0.03	0.69	0.23	0.26	3.39	0.02	0.46	0.22	0.26	0.09	0.12	0.03	0.11	0.10	1.24	0.08	71.3
45	OF14J	0.03	0.05	0.03	0.70	0.23	0.26	3.38	0.01	0.45	0.22	0.26	0.08	0.11	0.03	0.13	0.09	1.04	0.71	71.6
46	KL14J	0.02	0.30	0.15	2.34	2.06	0.06	0.71	0.04	0.75	0.25	0.28	0.19	0.42	0.09	0.51	0.40	0.56	0.04	81.3
47	KL14J	0.02	0.29	0.16	2.36	2.06	0.06	0.71	0.04	0.74	0.28	0.25	0.21	0.44	0.09	0.50	0.39	0.57	0.04	80.3
48	IL14J	0.00	0.17	0.13	0.08	0.17	0.80	0.46	0.03	0.42	0.24	0.16	0.20	0.39	0.05	0.40	0.13	0.87	0.04	70.7
49	IL14J	0.00	0.17	0.12	0.08	0.17	0.80	0.46	0.03	0.41	0.24	0.20	0.19	0.39	0.05	0.38	0.14	0.86	0.04	71.1
50	OL14J	0.00	0.03	0.02	0.05	0.05	0.03	0.38	0.01	0.24	0.19	0.10	0.14	0.29	0.03	0.17	0.10	0.24	0.03	70.3
51	OL14J	0.00	0.03	0.02	0.05	0.05	0.03	0.38	0.11	0.20	0.17	0.09	0.14	0.27	0.03	0.16	0.11	0.24	0.03	70.5
52	KJ14J	0.01	0.01	0.03	0.02	0.05	0.06	0.04	0.16	0.56	0.27	0.40	0.58	0.75	0.16	0.03	0.06	0.06	0.03	81.7
53	KJ14J	0.01	0.01	0.03	0.03	0.06	0.06	0.04	0.17	0.60	0.27	0.44	0.57	0.77	0.16	0.03	0.06	0.06	0.04	81.4
54	KJ14J	0.01	0.01	0.03	0.02	0.06	0.06	0.04	0.18	0.52	0.28	0.46	0.55	0.80	0.15	0.03	0.06	0.06	0.03	79.3
55	IJ14J	0.02	0.02	0.06	0.95	0.80	0.03	0.55	0.13	0.41	0.18	0.32	0.40	0.57	0.09	0.02	0.05	0.05	0.02	64.4
56	IJ14J	0.02	0.02	0.06	0.90	0.80	0.04	0.59	0.12	0.41	0.20	0.33	0.42	0.56	0.09	0.02	0.05	0.05	0.02	64.1
57	IJ14J	0.02	0.03	0.06	0.93	0.79	0.03	0.51	0.13	0.43	1.70	0.35	0.45	0.51	0.09	0.02	0.05	0.05	0.02	67.5
58	OJ14J	0.01	0.14	0.20	0.46	1.02	0.03	0.20	0.01	0.28	0.14	0.24	0.20	0.35	0.06	0.01	0.03	0.02	0.09	70.2
59	OJ14J	0.01	0.14	0.19	0.43	1.02	0.02	0.21	0.01	0.30	0.15	0.24	0.25	0.37	0.06	0.01	0.03	0.01	0.08	70.6
60	OJ14J	0.01	0.13	0.21	0.45	1.03	0.03	0.20	0.01	0.32	0.13	0.26	0.27	0.40	0.06	0.01	0.03	0.01	0.08	70.7

Tabela P1. Nastavak.

RB uzorka	Sistem gajenja/Sorta/Godina/Jezgro	Sor	Thr	Ara	Glc	Fru	Sac	Tur	Glt	Gal	Rib	Ism	Ismt	Mal	Malt	Xsy	Mel	Gent	Pan	skrob
61	KM15J	1.01	1.27	1.39	19.7	68.8	35.4	1.80	0.22	0.21	1.35	0.69	0.25	1.25	0.21	0.24	0.08	0.08	0.05	75.2
62	KM15J	1.06	1.12	1.28	19.4	64.4	36.0	1.92	0.22	0.22	1.31	0.67	0.24	1.30	0.20	0.24	0.08	0.08	0.05	74.8
63	KM15J	1.31	1.27	1.16	20.3	66.8	36.5	2.07	0.22	0.22	1.31	0.69	0.27	1.27	0.20	0.24	0.08	0.08	0.05	76.5
64	IM15J	1.17	1.06	7.07	16.8	29.5	23.3	0.78	0.07	0.03	0.12	0.58	0.05	0.80	0.09	0.20	0.70	0.07	0.04	71.1
65	IM15J	1.11	0.98	6.82	16.9	30.2	22.4	0.75	0.07	0.03	0.12	0.59	0.05	0.79	0.09	0.21	0.72	0.07	0.04	70.5
66	IM15J	1.20	0.99	6.80	17.2	30.3	24.0	0.80	0.07	0.03	0.12	0.60	0.05	0.79	0.09	0.20	0.69	0.07	0.04	68.9
67	OM15J	2.70	1.58	4.39	13.9	21.5	18.2	0.23	0.01	0.02	0.02	0.05	0.01	0.20	0.02	0.15	0.41	0.05	0.01	53.7
68	OM15J	2.80	1.32	4.28	14.4	22.6	18.3	0.27	0.01	0.02	0.03	0.05	0.01	0.21	0.03	0.16	0.43	0.05	0.02	54.9
69	OM15J	2.65	1.48	4.33	13.6	22.4	18.5	0.27	0.01	0.02	0.03	0.05	0.01	0.21	0.02	0.16	0.44	0.06	0.01	50.6
70	KF15J	2.95	1.51	3.48	7.86	12.7	15.7	1.92	0.20	0.98	0.19	0.25	0.15	0.42	0.19	0.05	0.09	0.05	0.02	73.2
71	KF15J	2.87	1.46	3.41	7.92	12.5	15.8	1.91	0.19	0.99	0.19	0.25	0.15	0.42	0.19	0.05	0.09	0.05	0.02	72.1
72	IF15J	2.33	0.08	0.16	7.24	1.31	1.34	1.05	0.14	0.57	0.14	0.20	0.13	0.36	0.15	0.03	0.07	0.05	0.02	64.6
73	IF15J	2.28	0.08	0.17	0.77	1.30	1.30	0.87	0.14	0.56	0.14	0.22	0.13	0.35	0.15	0.03	0.08	0.04	0.02	63.5
74	OF15J	0.10	0.12	0.15	1.25	1.83	0.84	0.74	0.07	0.25	0.08	0.07	0.05	0.17	0.12	0.02	0.02	0.03	0.01	55.5
75	OF15J	0.10	0.12	0.15	1.25	1.86	0.84	0.74	0.07	0.26	0.08	0.07	0.55	0.17	0.12	0.02	0.02	0.03	0.01	57.9
76	KL15J	0.21	0.33	0.05	3.45	8.09	1.35	1.28	0.06	0.79	0.69	0.60	0.54	0.89	0.43	0.56	0.84	0.25	0.13	70.5
77	KL15J	0.22	0.33	0.05	3.51	8.18	1.34	1.27	0.07	0.78	0.69	0.63	0.55	0.88	0.42	0.56	0.84	0.24	0.14	68.8
78	IL15J	0.11	0.10	0.01	1.03	1.26	1.27	1.47	0.04	0.70	0.57	0.43	0.41	0.66	0.21	0.41	0.70	0.20	0.11	66.2
79	IL15J	0.11	0.10	0.01	1.03	1.24	1.28	1.45	0.04	0.70	0.56	0.42	0.41	0.66	0.26	0.42	0.71	0.20	0.10	66.2
80	OL15J	0.04	0.27	0.06	0.26	0.33	1.01	0.75	0.02	0.32	0.28	0.19	0.25	0.21	0.09	0.21	0.29	0.10	0.05	60.8
81	OL15J	0.05	0.03	0.06	0.27	0.33	1.02	0.74	0.02	0.34	0.29	0.19	0.25	0.21	0.09	0.21	0.29	0.10	0.04	58.2
82	KJ15J	0.32	0.10	0.05	4.64	6.15	0.99	1.08	0.16	0.69	0.75	0.11	0.35	1.10	0.33	0.43	0.49	0.83	0.04	73.8
83	KJ15J	0.31	0.10	0.05	4.65	6.10	0.99	1.07	0.16	0.69	0.75	0.10	0.34	1.12	0.33	0.41	0.50	0.81	0.04	70.5
84	KJ15J	0.32	0.10	0.05	4.64	6.12	0.99	1.08	0.16	0.69	0.75	0.11	0.34	1.12	0.32	0.41	0.48	0.79	0.05	72.7
85	IJ15J	0.30	0.08	0.22	1.60	1.58	1.81	0.83	0.14	0.57	0.52	0.10	0.28	1.07	0.25	0.36	0.39	0.63	0.04	62.5
86	IJ15J	0.30	0.08	0.22	1.58	1.60	1.79	0.81	0.14	0.57	0.55	0.10	0.27	1.08	0.25	0.36	0.40	0.60	0.04	63.0
87	IJ15J	0.30	0.08	0.21	1.60	1.61	1.79	0.83	0.14	0.58	0.53	0.10	0.27	1.09	0.24	0.35	0.39	0.61	0.04	63.5
88	OJ15J	0.28	0.11	0.06	0.90	0.91	0.54	0.63	0.07	0.18	0.15	0.03	0.09	0.90	0.09	0.20	0.15	0.30	0.02	61.4
89	OJ15J	0.28	0.11	0.06	0.90	0.91	0.55	0.63	0.07	0.18	0.14	0.03	0.09	0.88	0.09	0.21	0.15	0.21	0.02	55.5
90	OJ15J	0.27	0.11	0.06	0.89	0.91	0.55	0.63	0.06	0.18	0.14	0.03	0.08	0.84	0.10	0.22	0.15	0.30	0.02	57.1

Tabela P1. Nastavak.

RB uzorka	Sistem gajenja/Sorta/Godina/Kora	Sor	Thr	Ara	Glc	Fru	Sac	Tur	Glt	Gal	Rib	Ism	Ismt	Mal	Malt	Xsy	Mel	Gent	Pan	skrob
91	KM13K	0.36	0.72	0.50	12.3	13.3	45.0	1.94	0.20	0.59	0.24	1.11	0.90	2.70	0.91	2.76	1.38	0.87	0.83	24.1
92	KM13K	0.36	0.72	0.51	12.1	13.3	45.4	1.94	0.21	0.56	0.24	1.12	0.92	2.71	0.90	0.50	1.20	0.85	1.06	23.6
93	KM13K	0.36	0.73	0.51	12.3	13.4	45.2	1.94	0.22	0.54	0.21	1.09	0.90	2.73	0.88	0.64	1.14	0.87	0.87	26.4
94	IM13K	0.03	0.29	0.68	10.0	8.02	42.3	1.26	0.56	3.44	0.31	0.65	0.31	1.30	3.01	0.85	0.71	0.08	0.78	23.0
95	IM13K	0.03	0.28	0.68	9.97	8.08	42.0	1.27	0.30	3.56	0.32	0.67	0.18	1.25	0.18	0.61	0.73	0.08	0.72	22.4
96	IM13K	0.03	0.29	0.69	9.97	8.08	42.3	1.22	0.33	3.72	0.33	0.41	0.19	1.39	2.55	0.68	0.45	0.09	0.67	22.1
97	OM13K	0.02	5.76	0.22	3.65	3.43	34.6	1.28	0.32	2.12	0.26	0.94	0.27	0.48	0.47	0.21	1.02	0.15	0.24	16.6
98	OM13K	0.02	5.36	0.28	3.62	3.48	34.8	1.29	0.30	0.14	0.12	1.24	0.31	0.65	0.43	0.57	1.34	0.14	0.26	16.1
99	OM13K	0.03	5.53	0.22	3.62	3.42	35.0	1.26	0.35	4.38	0.40	0.90	0.36	1.13	0.49	3.62	0.98	0.17	0.26	18.3
100	KF13K	0.51	0.84	0.36	1.23	5.61	14.6	1.20	0.37	0.36	1.51	2.09	0.54	5.70	0.89	0.71	1.27	0.21	0.45	23.7
101	KF13K	0.51	0.84	0.36	1.23	5.42	14.6	1.16	0.38	0.34	1.51	1.92	0.52	5.43	0.91	0.73	1.54	0.24	0.44	23.0
102	IF13K	0.09	0.87	0.61	0.79	3.72	10.1	0.55	0.30	13.73	0.14	1.81	0.17	3.66	0.60	2.48	1.82	0.08	0.22	21.9
103	IF13K	0.09	0.87	0.63	0.75	3.59	10.1	0.54	0.28	13.73	0.11	1.51	0.19	3.29	0.57	2.18	1.64	0.09	0.22	21.8
104	OF13K	0.01	5.00	0.28	3.08	3.04	1.21	1.55	0.09	0.53	0.10	1.02	0.16	1.47	0.23	0.24	1.11	0.07	0.10	20.6
105	OF13K	0.01	5.00	0.28	3.08	3.04	1.23	1.58	0.07	0.50	0.32	1.07	0.21	1.12	0.24	0.69	1.16	0.10	0.09	20.3
106	KL13K	0.06	0.76	0.12	1.59	4.65	2.11	2.10	0.25	1.24	0.06	0.55	0.23	1.46	0.44	0.02	0.60	0.24	0.30	22.3
107	KL13K	0.05	0.74	0.12	1.52	4.56	2.41	2.02	0.22	1.17	0.06	0.50	0.21	1.36	0.45	0.02	0.56	0.22	0.30	23.5
108	IL13K	0.10	7.71	0.11	2.27	0.53	0.15	1.69	0.01	1.74	0.16	0.60	0.13	1.00	2.36	0.37	0.36	0.27	0.67	20.5
109	IL13K	0.10	7.63	0.10	2.25	0.53	0.16	1.77	0.01	1.72	0.15	0.60	0.16	1.03	1.35	0.35	0.45	0.31	0.69	21.0
110	OL13K	0.04	1.41	0.25	0.06	0.04	0.96	1.20	0.01	0.13	2.31	3.15	0.18	0.59	0.22	0.13	1.38	0.13	0.02	15.6
111	OL13K	0.04	1.41	0.24	0.05	0.04	0.96	1.21	0.07	0.10	2.65	3.13	0.17	0.53	0.21	0.15	1.25	0.11	0.02	15.9
112	KJ13K	0.13	1.02	0.37	1.51	0.03	0.53	1.31	0.06	2.56	0.04	1.00	0.16	0.72	1.46	0.44	0.43	0.62	0.77	25.2
113	KJ 13K	0.13	1.01	0.36	1.66	0.04	0.56	1.32	0.02	3.07	0.06	1.02	0.13	0.71	1.45	0.38	0.46	0.65	0.78	25.1
114	KJ 13K	0.12	1.02	0.36	1.62	0.03	0.55	1.28	0.31	2.83	0.07	1.05	0.16	0.72	1.55	0.37	0.44	0.69	0.75	25.5
115	IJ13K	0.11	3.53	0.74	1.19	0.13	0.06	1.54	0.01	1.90	0.22	0.65	0.15	0.95	2.37	1.48	0.48	0.31	0.70	21.9
116	IJ13K	0.12	3.52	0.79	1.19	0.14	0.07	1.61	0.31	1.52	0.21	0.67	0.15	1.11	2.14	1.44	0.50	0.31	0.67	22.4
117	IJ13K	0.12	3.51	0.75	1.19	0.13	0.07	1.60	0.01	1.66	0.22	0.68	0.15	0.99	2.32	1.30	0.48	0.29	0.67	22.1
118	OJ13K	0.06	1.04	0.21	0.25	0.04	0.07	1.49	0.84	0.52	0.18	0.33	0.11	0.85	0.30	0.54	1.20	0.01	0.05	18.7
119	OJ13K	0.06	1.10	0.24	0.24	0.04	0.06	1.48	0.81	0.54	0.17	0.30	0.12	0.82	0.20	0.53	1.11	0.01	0.06	18.0
120	OJ13K	0.06	1.04	0.20	0.24	0.04	0.06	1.49	0.99	0.50	0.17	0.31	0.12	0.90	0.23	0.57	1.41	0.02	0.05	18.6

Tabela P1. Nastavak.

RB uzorka	Sistem gajenja/Sorta/Godina/Kora	Sor	Thr	Ara	Glc	Fru	Sac	Tur	Glt	Gal	Rib	Ism	Ismt	Mal	Malt	Xsy	Mel	Gent	Pan	skrob
121	KM14K	0.01	0.11	0.33	0.42	0.13	19.8	1.07	0.05	0.08	0.28	0.65	0.32	1.97	0.45	0.20	0.17	1.16	0.14	24.1
122	KM14K	0.02	0.11	0.33	0.44	0.14	19.9	1.09	0.06	0.09	0.30	0.60	0.30	2.04	0.41	0.20	0.16	1.11	0.14	23.7
123	KM14K	0.02	0.12	0.32	0.45	0.18	19.9	1.10	0.06	0.07	0.29	0.61	0.31	2.21	0.41	0.22	0.17	1.10	0.15	24.7
124	IM14K	0.00	0.03	0.05	0.16	0.79	19.7	1.98	0.02	0.11	0.30	0.62	0.41	0.73	0.29	0.15	0.14	0.90	0.11	22.5
125	IM14K	0.00	0.03	0.06	0.17	0.77	19.7	2.00	0.24	0.13	0.31	0.64	0.46	0.70	0.25	0.17	0.14	0.87	0.13	22.4
126	IM14K	0.00	0.03	0.05	0.17	0.77	19.5	1.97	0.02	0.14	0.31	0.70	0.47	0.77	0.30	0.17	0.13	0.86	0.14	22.6
127	OM14K	0.01	0.20	0.43	1.34	1.24	14.0	1.40	0.02	0.01	0.28	0.51	0.34	0.59	0.10	0.11	0.07	0.32	0.10	17.6
128	OM14K	0.01	0.19	0.46	1.35	1.14	13.7	1.39	0.01	0.02	0.31	0.47	0.33	0.65	0.09	0.10	0.07	0.33	0.10	16.4
129	OM14K	0.01	0.20	0.44	1.34	1.19	13.7	1.38	0.02	0.02	0.32	0.50	0.36	0.69	0.09	0.08	0.08	0.30	0.09	16.8
130	KF14K	0.01	0.19	0.01	0.08	0.03	0.64	0.04	0.02	0.28	0.17	0.32	0.26	0.66	0.03	0.71	0.24	0.55	0.05	23.6
131	KF14K	0.01	0.19	0.01	0.10	0.03	0.64	0.05	0.01	0.28	0.18	0.39	0.26	0.65	0.03	0.70	0.25	0.54	0.05	23.6
132	IF14K	0.00	0.05	0.02	0.18	0.72	2.59	1.57	0.03	0.68	0.19	0.36	0.13	0.42	0.07	0.52	0.26	0.28	0.01	21.5
133	IF14K	0.00	0.04	0.02	0.20	0.75	2.46	1.68	0.03	0.54	0.23	0.34	0.13	0.48	0.08	0.50	0.29	0.26	0.01	21.9
134	OF14K	0.03	0.22	0.04	1.04	0.90	3.48	1.56	0.04	0.34	0.13	0.22	0.30	0.25	0.05	0.23	0.18	0.24	0.00	19.5
134	OF14K	0.03	0.22	0.05	1.10	0.90	3.46	1.59	0.03	0.37	0.12	0.25	0.21	0.27	0.05	0.25	0.19	0.23	0.01	19.1
136	KL14K	0.01	0.22	0.01	0.05	0.08	0.65	0.88	0.02	0.28	0.19	0.31	0.25	0.63	0.04	0.70	0.30	0.54	0.05	23.0
137	KL14K	0.01	0.22	0.01	0.05	0.07	0.65	0.90	0.02	0.28	0.18	0.39	0.26	0.62	0.04	0.71	0.24	0.54	0.05	23.6
138	IL14K	0.04	0.08	0.02	0.10	0.12	0.50	1.07	0.08	0.05	0.15	0.14	0.17	0.18	0.10	0.63	0.22	0.27	0.07	22.1
139	IL14K	0.04	0.08	0.03	0.09	0.11	0.50	1.07	0.08	0.05	0.16	0.13	0.17	0.19	0.10	0.61	0.20	0.30	0.07	22.8
140	OL14K	0.00	0.08	0.14	1.31	0.33	7.02	0.12	0.07	0.03	0.10	0.13	0.16	0.15	0.09	0.30	0.19	0.11	0.01	15.9
141	OL14K	0.00	0.08	0.13	1.34	0.33	7.02	0.12	0.07	0.03	0.11	0.12	0.15	0.13	0.09	0.27	0.20	0.12	0.01	15.6
142	KJ14K	0.01	0.01	0.01	0.06	0.03	0.53	0.53	0.02	0.27	0.15	0.32	0.26	0.56	0.05	0.69	0.21	0.53	0.04	25.5
143	KJ 14K	0.01	0.01	0.01	0.06	0.02	0.56	0.53	0.02	0.28	0.17	0.34	0.28	0.59	0.05	0.71	0.22	0.54	0.05	25.5
144	KJ 14K	0.01	0.01	0.01	0.06	0.03	0.55	0.52	0.02	0.30	0.18	0.40	0.30	0.60	0.05	0.71	0.23	0.54	0.04	24.6
145	IJ14K	0.01	0.02	0.03	0.50	0.63	2.57	1.03	0.01	0.12	0.09	0.17	0.18	0.35	0.03	0.58	0.15	0.70	0.04	23.1
146	IJ14K	0.01	0.02	0.03	0.48	0.64	2.57	1.03	0.01	0.11	0.09	0.14	0.18	0.33	0.03	0.57	0.16	0.66	0.04	22.5
147	IJ14K	0.01	0.02	0.03	0.46	0.64	2.57	1.03	0.01	0.09	0.09	0.13	0.18	0.36	0.03	0.57	0.18	0.70	0.04	22.3
148	OJ14K	0.00	0.10	0.04	0.38	0.68	4.46	0.18	0.04	0.36	0.12	0.22	0.20	0.25	0.04	0.24	0.19	0.30	0.01	18.8
149	OJ14K	0.00	0.10	0.04	0.38	0.65	4.41	0.17	0.04	0.36	0.12	0.23	0.20	0.27	0.04	0.24	0.19	0.28	0.01	18.2
150	OJ14K	0.00	0.09	0.04	0.38	0.70	4.34	0.17	0.05	0.35	0.12	0.23	0.19	0.30	0.04	0.22	0.19	0.27	0.01	18.6

Tabela P1. Nastavak.

RB uzorka	Sistem gajenja/Sorta/Godina/Kora	Sor	Thr	Ara	Glc	Fru	Sac	Tur	Glt	Gal	Rib	Ism	Ismt	Mal	Malt	Xsy	Mel	Gent	Pan	skrob
151	KM15K	0.02	0.03	0.17	4.32	5.10	3.05	2.43	0.01	0.72	0.12	0.02	0.04	1.02	0.79	0.17	0.84	0.09	0.25	43.1
152	KM15K	0.03	0.03	0.17	4.32	5.11	3.10	2.43	0.01	0.74	0.15	0.02	0.04	1.02	0.80	0.17	0.82	0.09	0.25	42.5
153	KM15K	0.03	0.03	0.17	4.32	5.11	3.09	2.43	0.01	0.75	0.15	0.02	0.04	1.02	0.77	0.17	0.81	0.10	0.25	43.1
154	IM15K	0.02	0.02	0.12	2.16	3.63	2.02	2.17	0.01	0.06	0.07	0.49	0.09	0.91	0.03	0.14	0.75	0.08	0.19	38.8
155	IM15K	0.02	0.02	0.11	2.18	3.63	2.03	2.17	0.01	0.06	0.07	0.50	0.09	0.91	0.03	0.15	0.78	0.08	0.19	38.2
156	IM15K	0.02	0.02	0.11	2.17	3.63	2.03	2.16	0.01	0.06	0.07	0.50	0.09	0.91	0.03	0.14	0.79	0.08	0.16	40.4
157	OM15K	0.01	0.01	0.10	1.18	1.39	1.82	1.57	0.00	0.03	0.04	0.19	0.06	0.74	0.02	0.10	0.41	0.04	0.10	36.1
158	OM15K	0.01	0.01	0.10	1.18	1.41	1.82	1.57	0.00	0.03	0.04	0.19	0.06	0.74	0.02	0.09	0.41	0.04	0.12	37.7
159	OM15K	0.01	0.01	0.10	1.19	1.40	1.82	1.57	0.00	0.03	0.04	0.19	0.06	0.74	0.02	0.10	0.40	0.04	0.12	35.0
160	KF15K	0.40	0.35	0.13	5.11	16.7	18.9	1.09	0.35	0.19	0.39	0.33	0.13	0.42	0.06	0.08	0.10	0.06	0.05	47.9
161	KF15K	0.40	0.36	0.12	5.14	16.6	18.9	1.10	0.36	0.19	0.40	0.34	0.13	0.42	0.06	0.09	0.10	0.06	0.05	47.0
162	IF15K	0.07	0.10	0.12	1.77	1.99	1.49	4.65	0.23	0.14	0.17	0.28	0.12	0.37	0.05	0.08	0.05	0.05	0.04	43.6
163	IF15K	0.07	0.10	0.12	1.77	1.99	1.48	4.70	0.22	0.14	0.18	0.27	0.11	0.37	0.06	0.08	0.05	0.05	0.04	42.0
164	OF15K	0.18	0.39	0.27	1.25	1.93	5.69	1.15	0.09	0.10	0.08	0.19	0.09	0.33	0.03	0.02	0.02	0.04	0.01	34.5
165	OF15K	0.18	0.39	0.27	1.26	1.93	5.68	1.16	0.10	0.10	0.08	0.19	0.09	0.30	0.03	0.02	0.02	0.04	0.02	38.8
166	KL15K	0.09	0.41	0.28	2.89	3.91	5.06	2.37	0.07	0.75	0.47	0.92	0.28	2.05	0.50	0.33	0.16	0.18	0.10	54.9
167	KL15K	0.09	0.41	0.28	2.93	3.83	5.07	2.40	0.07	0.75	0.47	0.92	0.28	2.00	0.48	0.33	0.16	0.18	0.10	53.8
168	IL15K	0.04	0.30	0.43	2.42	3.20	4.52	1.38	0.07	0.62	0.40	0.85	0.21	1.56	0.36	0.30	0.12	0.16	0.08	37.2
169	IL15K	0.04	0.30	0.43	2.42	3.20	4.53	1.38	0.07	0.64	0.38	0.86	0.21	1.55	0.37	0.29	0.12	0.15	0.09	37.2
170	OL15K	0.04	0.18	0.29	0.37	0.64	1.18	0.71	0.02	0.29	0.20	0.40	0.10	0.65	0.10	0.12	0.09	0.11	0.03	19.8
171	OL15K	0.04	0.18	0.29	0.37	0.64	1.18	0.72	0.02	0.29	0.20	0.38	0.10	0.63	0.10	0.11	0.10	0.11	0.03	19.9
172	KJ15K	0.16	0.06	0.49	3.93	5.21	2.27	1.04	0.03	0.14	0.17	0.28	0.04	0.90	0.74	0.54	0.11	0.64	0.11	57.6
173	KJ 15K	0.16	0.06	0.49	3.89	5.20	2.27	1.03	0.03	0.15	0.17	0.28	0.04	0.90	0.73	0.54	0.12	0.64	0.11	58.5
174	KJ 15K	0.16	0.06	0.49	3.93	5.20	2.27	1.03	0.03	0.15	0.17	0.28	0.04	0.90	0.74	0.55	0.12	0.64	0.11	57.1
175	IJ15K	0.10	0.08	0.11	3.27	4.51	1.39	0.66	0.03	0.10	0.14	0.20	0.04	0.84	0.58	0.40	0.10	0.54	0.10	41.5
176	IJ15K	0.10	0.08	0.11	3.27	4.52	1.40	0.66	0.03	0.12	0.15	0.20	0.04	0.76	0.57	0.39	0.11	0.55	0.10	42.0
177	IJ15K	0.10	0.08	0.11	3.27	4.52	1.39	0.66	0.03	0.13	0.16	0.22	0.04	0.76	0.55	0.41	0.11	0.54	0.10	41.2
178	OJ15K	0.10	0.05	0.15	3.00	3.97	1.30	0.56	0.10	0.10	0.10	0.14	0.01	0.45	0.21	0.15	0.07	0.20	0.07	34.5
179	OJ15K	0.10	0.05	0.15	2.99	3.89	1.30	0.56	0.10	0.10	0.10	0.14	0.02	0.44	0.21	0.16	0.08	0.24	0.07	34.8
180	OJ15K	0.10	0.05	0.15	2.98	3.94	1.29	0.56	0.12	0.10	0.11	0.15	0.02	0.42	0.20	0.17	0.08	0.22	0.07	35.5

Tabela P2. Univarijantni test značajnosti uticaja faktorskih efekata na sadržaj šećernih makrokomponenti (Tre – trehaloza, Mal – maltoza, Ara – arabinoza, Tur – turanoza, Rib – riboza, Gent – gentiobioza, Ism – isomaltoza, Pan – panoza, Ismt – isomaltotrioza, Malt – maltotrioza, Mel – melibioza, Gal – galaktoza, Xsy – ksiloza, Sor – sorbitol, Glt – galaktitol) u jezgru i kori krompira. Vrednosti za uzorake kore krtola krompira su podebljane. DF – stepen slobode; SS – zbir kvadrata; MS – srednji kvadrat. Faktori: F_1 – način proizvodnje: konvencionalni (K), integralni (I), organski (O); F_2 – sorte krompira: Marabel (M), Red Fantasy (F), Laura (L) i Jelly (J); F_3 – godina proizvodnje: 2013, 2014, 2015. Unapred definisana statistička značajnost je na $p = 0,05$. Svi prikazani rezultati (interakcije) su statistički značajni osim onih označenih sa „a”.

Faktor	DF	Sor				Thr				Ara				Tur				Mal			
		SS	MS	F	p	SS	MS	F	p	SS	MS	F	p	SS	MS	F	p	SS	MS	F	p
Odsečak	1	15.86	15.86	11740.92	<0.001	31.44	31.44	16647.69	<0.001	52.81	52.81	35695.45	<0.001	109.83	109.83	100125.6	<0.001	72.02	72.02	15538.92	<0.001
		0.56	0.56	171485.9	<0.001	68.20	68.20	42987.29	<0.001	4.59	4.59	46904.02	<0.001	156.38	156.38	396314.2	<0.001	95.15	95.15	10744.37	<0.001
F_1	2	0.89	0.44	328.63	<0.001	2.74	1.37	726.88	<0.001	1.32	0.66	445.38	<0.001	10.97	5.48	4998.8	<0.001	11.91	5.95	1284.36	<0.001
		0.19	0.10	29599.8	<0.001	10.72	5.36	3377.29	<0.001	0.04	0.02	197.65	<0.001	4.77	2.38	6041.0	<0.001	13.96	6.98	788.20	<0.001
F_2	3	7.53	2.51	1857.39	<0.001	4.09	1.36	722.24	<0.001	35.35	11.78	7964.80	<0.001	10.51	3.50	3192.8	<0.001	2.61	0.87	187.76	<0.001
		0.11	0.04	11500.7	<0.001	3.84	1.28	806.08	<0.001	0.16	0.05	533.48	<0.001	8.11	2.70	6851.8	<0.001	7.69	2.56	289.48	<0.001
F_3	2	13.49	6.75	4993.90	<0.001	13.95	6.98	3694.12	<0.001	22.13	11.06	7477.24	<0.001	9.48	4.74	4321.0	<0.001	18.18	9.09	1961.06	<0.001
		0.21	0.11	32634.4	<0.001	97.73	48.86	30799.55	<0.001	1.13	0.56	5742.97	<0.001	7.18	3.59	9099.5	<0.001	20.62	10.31	1164.15	<0.001
$F_1 \times F_2$	6	4.50	0.75	555.71	<0.001	0.78	0.13	68.98	<0.001	17.89	2.98	2015.53	<0.001	6.69	1.11	1016.4	<0.001	2.27	0.38	81.63	<0.001
		0.15	0.02	7487.5	<0.001	38.98	6.45	4095.24	<0.001	0.17	0.03	285.53	<0.001	7.77	1.30	3283.5	<0.001	4.65	0.77	87.50	<0.001
$F_1 \times F_3$	4	0.42	0.10	76.86	<0.001	3.52	0.88	466.19	<0.001	1.95	0.49	329.17	<0.001	1.04	0.26	236.7	<0.001	10.37	2.59	559.54	<0.001
		0.15	0.04	11328.6	<0.001	24.47	6.12	3856.47	<0.001	0.53	0.13	1349.64	<0.001	6.35	1.59	4026.0	<0.001	4.43	1.11	125.10	<0.001
$F_2 \times F_3$	6	9.52	1.59	1174.90	<0.001	3.33	0.56	294.07	<0.001	59.59	9.93	6712.56	<0.001	34.71	5.79	5274.3	<0.001	4.78	0.80	171.92	<0.001
		0.11	0.02	5583.3	<0.001	4.23	0.70	444.02	<0.001	0.82	0.14	1389.55	<0.001	8.65	1.44	3654.8	<0.001	26.87	4.48	505.72	<0.001
$F_1 \times F_2 \times F_3$	12	9.73	0.81	600.45	<0.001	2.10	0.17	92.54	<0.001	38.07	3.17	2144.21	<0.001	6.34	0.53	481.5	<0.001	6.31	0.53	113.40	<0.001
		0.17	0.01	4266.5	<0.001	72.35	6.03	3800.47	<0.001	0.59	0.05	499.17	<0.001	13.12	1.09	2768.2	<0.001	10.83	0.90	101.93	<0.001

Tabela P2. Nastavak.

Faktor	DF	Glt				Gal				Rib				Ism				Ismt			
		SS	MS	F	p	SS	MS	F	p	SS	MS	F	p	SS	MS	F	p	SS	MS	F	p
Odsečak	1	1.25	1.25	3691.89	<0.001	58.97	58.97	5562.59	<0.001	9.63	9.63	336.78	<0.001	14.63	14.63	6260.26	<0.001	5.72	5.72	2122.04	<0.001
		1.41	1.41	376.67	<0.001	81.08	81.08	472.37	<0.001	7.22	7.22	3093.28	<0.001	32.40	32.40	9117.83	<0.001	3.73	3.73	7568.40	<0.001
F_1	2	0.30	0.15	436.68	<0.001	28.23	14.12	1331.67	<0.001	1.93	0.96	33.74	<0.001	0.83	0.41	177.47	<0.001	0.35	0.17	64.19	<0.001
		0.01	0.01	1.71	0.19 a	36.79	18.39	107.16	<0.001	0.38	0.19	82.29	<0.001	0.17	0.08	23.64	<0.001	0.25	0.12	252.58	<0.001
F_2	3	0.05	0.02	53.71	<0.001	1.33	0.44	41.91	<0.001	0.29	0.10	3.41	<0.001	1.33	0.44	190.31	<0.001	0.79	0.26	97.51	<0.001
		0.10	0.03	9.31	<0.001	18.29	6.10	35.51	<0.001	1.31	0.44	187.51	<0.001	2.23	0.74	209.24	<0.001	0.42	0.14	282.11	<0.001
F_3	2	0.40	0.20	592.03	<0.001	27.18	13.59	1282.06	<0.001	0.40	0.20	7.01	<0.001	1.55	0.78	332.57	<0.001	0.03	0.01	4.76	<0.001
		0.75	0.38	100.22	<0.001	90.80	45.40	264.50	<0.001	1.65	0.82	352.73	<0.001	12.09	6.04	1700.56	<0.001	0.51	0.25	513.71	<0.001
$F_1 \times F_2$	6	0.27	0.05	133.24	<0.001	3.34	0.56	52.47	<0.001	0.87	0.14	5.06	<0.001	0.37	0.06	26.20	<0.001	0.21	0.03	12.97	<0.001
		0.59	0.10	26.41	<0.001	61.67	10.28	59.88	<0.001	2.87	0.48	205.22	<0.001	2.55	0.42	119.52	<0.001	0.07	0.01	23.01	<0.001
$F_1 \times F_3$	4	0.19	0.05	143.92	<0.001	32.53	8.13	767.25	<0.001	1.20	0.30	10.48	<0.001	0.27	0.07	29.14	<0.001	0.02	0.01	2.27	0.07 a
		0.09	0.02	6.15	<0.001	74.32	18.58	108.25	<0.001	1.41	0.35	150.63	<0.001	1.44	0.36	101.37	<0.001	0.23	0.06	118.91	<0.001
$F_2 \times F_3$	6	0.09	0.02	44.99	<0.001	13.90	2.32	218.57	<0.001	0.74	0.12	4.32	<0.001	0.95	0.16	67.87	<0.001	0.78	0.13	48.03	<0.001
		0.38	0.06	16.79	<0.001	36.13	6.02	35.09	<0.001	1.60	0.27	114.54	<0.001	3.64	0.61	170.75	<0.001	0.45	0.08	153.17	<0.001
$F_1 \times F_2 \times F_3$	12	0.53	0.04	130.14	<0.001	9.88	0.82	77.64	<0.001	1.25	0.10	3.65	<0.001	0.68	0.06	24.07	<0.001	0.20	0.02	6.12	<0.001
		0.66	0.06	14.75	<0.001	115.14	9.59	55.90	<0.001	6.17	0.51	220.35	<0.001	8.10	0.67	189.91	<0.001	0.51	0.04	86.89	<0.001

Tabela P2. Nastavak.

Faktor	DF	Malt				Xsy				Mel				Gent				Pan			
		SS	MS	F	p	SS	MS	F	p	SS	MS	F	p	SS	MS	F	p	SS	MS	F	p
Odsečak	1	28.74	28.74	7067.57	<0.001	13.04	13.04	2636.51	<0.001	10.25	10.25	15522.79	<0.001	8.81	8.81	12708.03	<0.001	15.46	15.46	3309.68	<0.001
		17.58	17.58	182.99	<0.001	20.08	20.08	104.40	<0.001	19.00	19.00	3626.61	<0.001	8.23	8.23	37167.63	<0.001	3.21	3.21	4534.80	<0.001
F_1	2	4.36	2.18	535.95	<0.001	2.31	1.15	233.45	<0.001	1.04	0.52	785.71	<0.001	0.41	0.21	296.71	<0.001	1.05	0.53	112.39	<0.001
		4.30	2.15	22.38	<0.001	1.39	0.70	3.62	0.03	0.10	0.05	9.20	<0.001	1.56	0.78	3528.95	<0.001	0.72	0.36	506.23	<0.001
F_2	3	13.44	4.48	1101.50	<0.001	1.55	0.52	104.21	<0.001	0.74	0.25	373.79	<0.001	0.47	0.16	227.32	<0.001	0.63	0.21	45.09	<0.001
		1.95	0.65	6.77	<0.001	0.75	0.25	1.30	0.28 a	1.26	0.42	79.96	<0.001	1.04	0.35	1558.33	<0.001	0.55	0.18	260.93	<0.001
F_3	2	32.57	16.28	4003.87	<0.001	3.29	1.64	332.69	<0.001	2.30	1.15	1742.08	<0.001	4.53	2.26	3266.14	<0.001	21.69	10.85	2321.34	<0.001
		11.62	5.81	60.47	<0.001	5.68	2.84	14.77	<0.001	11.14	5.57	1062.99	<0.001	1.41	0.71	3183.50	<0.001	2.43	1.21	1717.95	<0.001
$F_1 \times F_2$	6	5.06	0.84	207.47	<0.001	0.69	0.12	23.32	<0.001	0.37	0.06	94.36	<0.001	0.25	0.04	61.03	<0.001	3.02	0.50	107.77	<0.001
		1.17	0.20	2.03	0.08 a	2.00	0.33	1.74	0.13 a	0.96	0.16	30.68	<0.001	0.49	0.08	371.80	<0.001	0.17	0.03	40.05	<0.001
$F_1 \times F_3$	4	4.70	1.18	289.03	<0.001	1.08	0.27	54.41	<0.001	0.40	0.10	151.76	<0.001	0.05	0.01	18.47	<0.001	2.41	0.60	129.21	<0.001
		5.63	1.41	14.65	<0.001	1.55	0.39	2.02	0.10 a	0.82	0.20	39.08	<0.001	0.36	0.09	409.44	<0.001	0.83	0.21	294.40	<0.001
$F_2 \times F_3$	6	26.88	4.48	1101.49	<0.001	2.68	0.45	90.30	<0.001	2.30	0.38	580.73	<0.001	6.25	1.04	1503.56	<0.001	1.12	0.19	40.03	<0.001
		1.43	0.24	2.49	0.03	4.71	0.79	4.09	<0.001	2.91	0.49	92.61	<0.001	1.16	0.19	870.60	<0.001	0.23	0.04	53.50	<0.001
$F_1 \times F_2 \times F_3$	12	8.84	0.74	181.22	<0.001	1.53	0.13	25.83	<0.001	0.97	0.08	122.64	<0.001	0.59	0.05	71.32	<0.001	6.20	0.52	110.54	<0.001
		2.37	0.20	2.06	0.04	3.59	0.30	1.56	0.13 a	1.36	0.11	21.61	<0.001	0.74	0.06	277.38	<0.001	0.25	0.02	29.67	<0.001

Tabela P3. Univarijantni test značajnosti uticaja faktorskih efekata na sadržaj šećernih mikrokomponenti (Sor – sorbitol, Tre–trehaloza, Ara – arabinoza, Tur – turanoza, Mal –maltoza) u jezgru i kori krompira. Vrednosti za uzorake kore krtola krompira su podebljane. DF – stepen slobode; SS – zbir kvadrata; MS – srednji kvadrat. Faktori: F_1 – način proizvodnje: konvencionalna (K), integralna (I), organska (O); F_2 – sorte krompira: Marabel (M), Red Fantasy (F), Laura (L) i Jelly (J); F_3 – godina proizvodnje: 2013, 2014, 2015. Unapred definisana statistička značajnost je na $p = 0,05$. Svi prikazani rezultati (interakcije) su statistički značajni.

Faktor	DF	Sor				Thr				Ara				Tur				Mal			
		SS	MS	F	p	SS	MS	F	p	SS	MS	F	p	SS	MS	F	p	SS	MS	F	p
Odsečak	1	15,86	15,86	11740,92	<0,001	31,44	31,44	16647,69	<0,001	52,81	52,81	35695,45	<0,001	109,83	109,83	100125,6	<0,001	72,02	72,02	15538,92	<0,001
		0,56	0,56	171485,9	<0,001	68,20	68,20	42987,29	<0,001	4,59	4,59	46904,02	<0,001	156,38	156,38	396314,2	<0,001	95,15	95,15	10744,37	<0,001
F_1	2	0,89	0,44	328,63	<0,001	2,74	1,37	726,88	<0,001	1,32	0,66	445,38	<0,001	10,97	5,48	4998,8	<0,001	11,91	5,95	1284,36	<0,001
		0,19	0,10	29599,8	<0,001	10,72	5,36	3377,29	<0,001	0,04	0,02	197,65	<0,001	4,77	2,38	6041,0	<0,001	13,96	6,98	788,20	<0,001
F_2	3	7,53	2,51	1857,39	<0,001	4,09	1,36	722,24	<0,001	35,35	11,78	7964,80	<0,001	10,51	3,50	3192,8	<0,001	2,61	0,87	187,76	<0,001
		0,11	0,04	11500,7	<0,001	3,84	1,28	806,08	<0,001	0,16	0,05	533,48	<0,001	8,11	2,70	6851,8	<0,001	7,69	2,56	289,48	<0,001
F_3	2	13,49	6,75	4993,90	<0,001	13,95	6,98	3694,12	<0,001	22,13	11,06	7477,24	<0,001	9,48	4,74	4321,0	<0,001	18,18	9,09	1961,06	<0,001
		0,21	0,11	32634,4	<0,001	97,73	48,86	30799,55	<0,001	1,13	0,56	5742,97	<0,001	7,18	3,59	9099,5	<0,001	20,62	10,31	1164,15	<0,001
$F_1 \times F_2$	6	4,50	0,75	555,71	<0,001	0,78	0,13	68,98	<0,001	17,89	2,98	2015,53	<0,001	6,69	1,11	1016,4	<0,001	2,27	0,38	81,63	<0,001
		0,15	0,02	7487,5	<0,001	38,98	6,45	4095,24	<0,001	0,17	0,03	285,53	<0,001	7,77	1,30	3283,5	<0,001	4,65	0,77	87,50	<0,001
$F_1 \times F_3$	4	0,42	0,10	76,86	<0,001	3,52	0,88	466,19	<0,001	1,95	0,49	329,17	<0,001	1,04	0,26	236,7	<0,001	10,37	2,59	559,54	<0,001
		0,15	0,04	11328,6	<0,001	24,47	6,12	3856,47	<0,001	0,53	0,13	1349,64	<0,001	6,35	1,59	4026,0	<0,001	4,43	1,11	125,10	<0,001
$F_2 \times F_3$	6	9,52	1,59	1174,90	<0,001	3,33	0,56	294,07	<0,001	59,59	9,93	6712,56	<0,001	34,71	5,79	5274,3	<0,001	4,78	0,80	171,92	<0,001
		0,11	0,02	5583,3	<0,001	4,23	0,70	444,02	<0,001	0,82	0,14	1389,55	<0,001	8,65	1,44	3654,8	<0,001	26,87	4,48	505,72	<0,001
$F_1 \times F_2 \times F_3$	12	9,73	0,81	600,45	<0,001	2,10	0,17	92,54	<0,001	38,07	3,17	2144,21	<0,001	6,34	0,53	481,5	<0,001	6,31	0,53	113,40	<0,001
		0,17	0,01	4266,5	<0,001	72,35	6,03	3800,47	<0,001	0,59	0,05	499,17	<0,001	13,12	1,09	2768,2	<0,001	10,83	0,90	101,93	<0,001

Tabela P4. Srednje vrednosti tri ponovljena merenja za šesnaest elemenata ($\mu\text{g/g}$), uključujući makro (glavne) elemente (Ca, Mg i K) i mikro elemente (u tragovima) (As, Cd, Co, Cr, Cu, Hg, Mn, Ni, Pb, Se i Zn, Fe i Na) u uzorcima jezgra (J) i kore (K) četiri sorte krompira (M-Marabel, F-Red Fantasy, L-Laura, J-Jelly) proizvedenim u tri sistema gajenja (K-konvencionalni, I-integralni, O-organski) tokom trogodišnjeg perioda proizvodnje (2013, 2014. i 2015.)

RB uzorka	Sistem gajenja/Sorta/Godina/Jezgro	As	Ca	Cd	Co	Cr	Cu	Fe	Hg	K	Mg	Mn	Na	Ni	Pb	Se	Zn
1	KM13J	0.021	220	0.267	0.025	0.213	5.023	17	0.013	9630	759	4.387	45	1.553	0.444	0.065	13.262
2	KM13J	0.001	322	0.348	0.017	0.209	5.628	19	0.010	9681	761	4.390	49	1.921	0.432	0.137	17.242
3	KM13J	0.001	177	0.323	0.017	0.206	5.835	19	0.004	9921	830	4.892	40	1.875	0.141	0.158	15.405
4	KM13J	0.011	235	0.329	0.035	0.212	6.096	23	0.004	9504	833	5.157	53	2.138	0.305	0.142	17.345
5	IM13J	0.001	297	0.225	0.017	0.191	5.490	15	0.004	9258	769	4.066	65	1.114	0.337	0.143	22.384
6	IM13J	0.149	197	0.227	0.036	0.219	5.497	23	0.025	11421	917	4.285	65	1.024	0.277	0.229	18.390
7	IM13J	0.001	168	0.212	0.035	0.200	5.654	21	0.004	11495	906	4.473	70	0.990	0.195	0.135	17.066
8	IM13J	0.001	214	0.233	0.021	0.210	4.769	20	0.004	10414	814	4.022	71	1.264	0.346	0.238	16.150
9	OM13J	0.001	260	0.221	0.030	0.253	5.321	25	0.004	12234	921	4.538	57	1.249	0.358	0.159	19.058
10	OM13J	0.001	222	0.266	0.014	0.218	5.879	22	0.014	11455	971	4.639	61	1.404	0.296	0.133	16.852
11	OM13J	0.001	491	0.215	0.012	0.230	5.980	30	0.004	12233	1034	5.371	105	1.301	0.226	0.203	24.495
12	OM13J	0.001	301	0.242	0.012	0.200	5.061	19	0.004	11222	1008	4.286	48	0.865	0.960	0.195	19.111
13	KF13J	0.001	278	0.267	0.025	0.214	6.805	21	0.004	12480	891	4.612	71	0.762	0.562	0.171	15.701
14	KF13J	0.001	240	0.207	0.022	0.199	7.329	24	0.004	10664	859	5.183	76	0.921	0.724	0.094	17.215
15	KF13J	0.001	273	0.252	0.012	0.248	8.244	24	0.004	11108	837	4.942	65	0.956	0.310	0.163	18.345
16	KF13J	0.006	296	0.241	0.030	0.335	7.816	28	0.004	11667	802	4.267	68	0.999	0.486	0.142	17.828
17	IF13J	0.001	192	0.214	0.019	0.199	7.877	29	0.004	11670	915	4.877	71	0.667	0.318	0.218	14.591
18	IF13J	0.017	177	0.202	0.037	0.236	6.945	23	0.052	13089	819	4.210	84	0.584	0.662	0.134	12.638
19	IF13J	0.001	169	0.146	0.025	0.214	6.324	17	0.004	12298	877	4.265	61	0.591	0.770	0.172	11.407
20	IF13J	0.001	172	0.226	0.037	0.315	15.874	32	0.029	12075	859	4.565	107	1.201	0.617	0.231	14.291
21	OF13J	0.001	161	0.311	0.056	0.244	7.371	20	0.021	13695	938	5.080	67	0.666	0.582	0.164	13.735
22	OF13J	0.030	171	0.287	0.037	0.233	7.850	22	0.004	11840	912	4.652	79	0.701	0.644	0.134	15.175
23	OF13J	0.001	178	0.203	0.016	0.227	8.066	21	0.004	13060	984	4.999	68	0.610	0.374	0.121	13.476
24	OF13J	0.001	161	0.242	0.031	0.225	8.122	21	0.004	13552	886	4.573	62	0.654	0.281	0.215	14.545

Tabela P4. Nastavak.

RB uzorka	Sistem gajenja/Sorta/Godina/Jezgro	As	Ca	Cd	Co	Cr	Cu	Fe	Hg	K	Mg	Mn	Na	Ni	Pb	Se	Zn
25	KL13J	0.001	167	0.311	0.020	0.304	9.320	30	0.004	12380	870	5.278	61	1.138	0.424	0.204	13.731
26	KL13J	0.001	159	0.504	0.029	0.243	9.358	16	0.004	11355	890	5.214	54	1.522	0.357	0.202	14.482
27	KL13J	0.001	182	0.371	0.008	0.207	9.520	19	0.011	12905	1012	5.906	76	1.128	0.291	0.117	14.421
28	KL13J	0.001	237	0.299	0.022	0.238	7.886	21	0.004	12064	925	5.322	74	1.298	2.626	0.207	15.520
29	IL13J	0.001	159	0.357	0.024	0.233	10.154	24	0.004	12628	1038	6.078	58	0.996	1.607	0.168	16.749
30	IL13J	0.001	215	0.291	0.015	0.259	8.398	27	0.004	13982	1063	5.708	67	0.941	0.783	0.170	15.095
31	IL13J	0.001	148	0.458	0.024	0.229	11.255	22	0.009	12260	951	5.026	60	0.875	0.383	0.194	16.162
32	IL13J	0.001	189	0.325	0.024	0.199	9.092	20	0.004	14329	1050	5.301	50	0.888	0.387	0.236	14.329
33	OL13J	0.001	181	0.408	0.022	0.230	10.113	22	0.004	15215	951	4.684	66	0.759	1.072	0.115	12.739
34	OL13J	0.001	157	0.410	0.014	0.220	9.644	18	0.004	14459	1016	5.288	53	0.718	0.699	0.162	12.246
35	OL13J	0.001	153	0.320	0.016	0.229	8.558	19	0.004	15560	1057	5.263	50	0.722	0.306	0.156	12.949
36	OL13J	0.001	178	0.381	0.025	0.226	9.405	19	0.004	13853	1080	5.378	46	0.917	0.367	0.193	16.243
37	KJ13J	0.001	168	0.184	0.024	0.235	7.687	21	0.004	13955	779	4.357	64	1.259	0.499	0.159	14.142
38	KJ13J	0.001	150	0.287	0.023	0.240	7.335	23	0.004	11714	690	4.254	52	1.386	0.399	0.145	13.440
39	KJ13J	0.047	153	0.192	0.021	0.229	6.090	17	0.004	12655	678	3.913	61	1.206	0.435	0.188	12.445
40	KJ13J	0.001	268	0.183	0.017	0.262	7.165	27	0.006	15920	776	4.363	82	1.329	0.250	0.098	14.961
41	IJ13J	0.048	147	0.235	0.017	0.239	7.269	19	0.004	18786	800	3.854	78	0.915	0.299	0.170	13.843
42	IJ13J	0.026	167	0.240	0.037	0.135	8.733	27	0.004	16762	975	5.462	57	1.172	0.468	0.111	15.300
43	IJ13J	0.001	208	0.251	0.021	0.240	8.146	20	0.004	16450	796	4.356	61	1.011	0.428	0.061	13.104
44	IJ13J	0.066	117	0.195	0.022	0.290	7.389	27	0.004	14665	852	4.507	48	0.975	0.470	0.149	11.502
45	OJ13J	0.001	168	0.269	0.019	0.237	7.297	22	0.004	14102	803	4.790	64	1.223	0.141	0.184	15.327
46	OJ13J	0.001	145	0.197	0.027	0.308	7.236	30	0.004	15076	850	4.974	78	1.108	0.518	0.151	14.281
47	OJ13J	0.088	110	0.209	0.023	0.228	7.159	20	0.004	12297	809	4.424	64	0.890	0.297	0.174	13.720
48	OJ13J	0.001	137	0.235	0.024	0.246	7.411	22	0.004	14767	860	4.690	86	1.025	0.369	0.168	12.478

Tabela P4. Nastavak.

RB uzorka	Sistem gajenja/Sorta/Godina/Jezgro	As	Ca	Cd	Co	Cr	Cu	Fe	Hg	K	Mg	Mn	Na	Ni	Pb	Se	Zn
49	KM14J	0.101	193	0.174	0.329	0.160	4.027	15	0.004	5767	474	3.028	62	1.844	0.320	0.104	13.477
50	KM14J	0.116	158	0.191	0.364	0.174	3.975	15	0.004	5304	421	2.997	58	2.038	0.321	0.149	14.383
51	KM14J	0.079	154	0.299	0.212	0.201	4.199	12	0.004	4874	411	2.656	63	1.959	0.354	0.176	14.697
52	KM14J	0.065	157	0.267	0.242	0.121	4.075	16	0.004	4776	417	2.963	65	2.531	0.492	0.152	15.172
53	IM14J	0.047	160	0.214	0.143	0.503	3.637	14	0.004	5300	405	3.882	61	1.498	0.583	0.112	15.924
54	IM14J	0.049	179	0.178	0.028	0.150	3.577	14	0.004	5209	405	3.927	60	1.399	0.593	0.117	14.031
55	IM14J	0.109	126	0.213	0.035	0.158	4.258	12	0.004	4479	395	4.226	53	1.160	0.258	0.135	18.026
56	IM14J	0.059	162	0.182	0.044	0.210	3.828	13	0.004	4784	377	2.812	67	1.323	0.963	0.125	13.107
57	OM14J	0.001	127	0.210	0.022	0.171	4.237	11	0.004	5044	394	4.195	57	1.268	0.471	0.107	16.738
58	OM14J	0.016	131	0.140	0.073	0.207	3.317	11	0.004	5191	402	2.278	61	0.867	0.497	0.264	11.603
59	OM14J	0.157	126	0.179	0.027	0.160	4.186	12	0.004	5196	416	3.334	56	1.121	0.183	0.087	15.217
60	OM14J	0.001	116	0.205	0.042	0.177	4.655	13	0.004	5470	434	3.006	69	1.109	0.395	0.126	15.230
61	KF14J	0.019	150	0.149	0.110	0.339	4.424	12	0.004	5297	413	3.035	62	1.066	0.472	0.106	12.120
62	KF14J	0.056	125	0.194	0.030	0.136	4.258	10	0.004	4609	368	2.594	53	0.941	0.386	0.173	10.052
63	KF14J	0.027	125	0.243	0.016	0.232	3.915	12	0.004	4054	357	2.675	49	0.897	0.140	0.210	9.673
64	KF14J	0.011	127	0.140	0.018	0.147	4.566	10	0.004	5523	428	2.811	55	0.914	0.210	0.177	12.318
65	IF14J	0.001	115	0.140	0.022	0.227	4.143	13	0.004	4553	412	2.884	53	0.762	0.426	0.148	9.776
66	IF14J	0.100	124	0.163	0.019	0.136	3.786	8	0.004	4554	399	2.895	53	0.705	0.175	0.148	8.048
67	IF14J	0.046	160	0.095	0.035	0.268	4.241	17	0.004	5500	425	2.811	55	0.849	0.343	0.221	10.860
68	IF14J	0.061	116	0.116	0.012	0.152	4.081	10	0.004	5076	406	2.804	53	0.810	0.296	0.109	9.108
69	OF14J	0.001	162	0.106	0.028	0.188	4.598	15	0.004	5563	445	3.117	56	0.587	0.302	0.209	10.314
70	OF14J	0.135	129	0.128	0.026	0.182	4.975	11	0.004	5854	471	3.089	63	0.653	0.396	0.113	11.276
71	OF14J	0.031	130	0.140	0.042	0.269	4.318	13	0.004	4836	429	3.034	58	0.680	0.956	0.136	12.586
72	OF14J	0.019	136	0.113	0.037	0.190	4.435	14	0.004	5121	480	3.360	61	0.619	0.642	0.149	10.582

Tabela P4. Nastavak.

RB uzorka	Sistem gajenja/Sorta/Godina/Jezgro	As	Ca	Cd	Co	Cr	Cu	Fe	Hg	K	Mg	Mn	Na	Ni	Pb	Se	Zn
73	KL14J	0.025	158	0.313	0.025	0.176	5.644	13	0.004	5767	481	3.614	55	1.309	0.296	0.125	14.480
74	KL14J	0.077	221	0.343	0.031	0.155	4.582	13	0.004	5671	460	3.434	58	1.611	0.480	0.134	12.475
75	KL14J	0.022	166	0.322	0.017	0.169	5.345	13	0.004	5879	459	3.022	54	1.431	0.290	0.135	12.615
76	KL14J	0.060	214	0.327	0.054	0.163	7.365	18	0.004	6206	454	3.319	59	4.965	0.658	0.195	15.874
77	IL14J	0.056	178	0.341	0.081	0.149	7.383	13	0.004	5331	462	3.448	50	1.840	0.239	0.186	16.616
78	IL14J	0.040	143	0.294	0.123	0.149	5.873	14	0.004	4845	445	3.470	49	1.157	0.520	0.264	13.057
79	IL14J	0.001	149	0.329	0.053	0.115	5.113	11	0.004	5286	444	3.176	48	1.069	0.072	0.290	10.487
80	IL14J	0.023	158	0.252	0.063	0.137	4.073	16	0.004	5193	394	2.474	49	0.969	0.354	0.223	11.013
81	OL14J	0.063	163	0.307	0.144	0.143	5.951	13	0.004	5724	486	3.225	50	0.728	0.120	0.256	13.508
82	OL14J	0.035	220	0.331	0.115	0.200	7.286	16	0.004	5849	489	3.454	65	1.106	0.708	0.170	16.683
83	OL14J	0.030	142	0.375	0.055	0.143	6.883	14	0.004	5867	492	3.493	57	1.010	0.524	0.235	14.330
84	OL14J	0.001	185	0.362	0.035	0.145	8.001	19	0.004	6023	510	3.583	59	0.918	0.653	0.540	14.707
85	KJ14J	0.001	196	0.294	0.054	0.186	6.088	12	0.004	5395	398	2.696	93	1.573	0.840	0.249	20.491
86	KJ14J	0.035	172	0.246	0.023	0.145	4.789	24	0.004	4914	397	2.972	59	1.395	0.965	0.297	14.009
87	KJ14J	0.058	231	0.205	0.026	0.168	4.887	16	0.004	6726	455	3.356	59	1.755	1.447	0.396	16.537
88	KJ14J	0.075	201	0.216	0.028	0.145	4.663	18	0.004	5596	456	3.260	58	1.575	0.568	0.901	13.351
89	IJ14J	0.120	151	0.140	0.024	0.147	4.297	9	0.004	5370	404	2.837	73	1.142	0.375	26.825	12.370
90	IJ14J	0.049	154	0.154	0.026	0.115	4.628	12	0.004	5459	433	2.946	61	1.514	0.368	0.216	12.515
91	IJ14J	0.021	162	0.154	0.020	0.160	4.347	11	0.004	4739	362	2.560	59	1.239	0.256	0.866	11.314
92	IJ14J	0.001	119	0.157	0.027	0.118	4.461	11	0.004	5129	400	2.931	56	1.142	0.397	0.250	11.518
93	OJ14J	0.097	165	0.271	0.030	0.193	5.083	11	0.004	5471	414	2.637	81	1.053	0.488	0.148	14.262
94	OJ14J	0.027	157	0.162	0.028	0.166	4.645	11	0.004	5459	424	2.846	59	0.872	0.410	0.464	11.855
95	OJ14J	0.033	138	0.164	0.014	0.136	4.339	10	0.004	5570	421	2.854	62	1.049	0.299	0.324	12.153
96	OJ14J	0.071	140	0.271	0.018	0.091	4.276	10	0.004	5146	409	2.742	60	0.805	0.337	0.190	12.185

Tabela P4. Nastavak.

RB uzorka	Sistem gajenja/Sorta/Godina/Jezgro	As	Ca	Cd	Co	Cr	Cu	Fe	Hg	K	Mg	Mn	Na	Ni	Pb	Se	Zn
97	KM15J	0.194	1168	0.200	0.019	0.066	14.884	77	0.004	17365	1096	5.818	80	1.753	0.125	0.195	43.712
98	KM15J	0.118	761	0.283	0.022	0.089	11.862	112	0.004	17770	1033	5.898	72	4.402	0.262	0.228	36.922
99	KM15J	0.127	895	0.321	0.019	0.103	13.745	91	0.004	17532	1031	5.888	76	2.252	0.363	0.287	38.484
100	KM15J	0.117	658	0.416	0.027	0.111	14.163	76	0.004	19346	1062	6.893	74	2.714	0.470	0.234	35.099
101	IM15J	0.247	755	0.365	0.026	0.104	18.031	72	0.004	17947	1111	6.880	78	2.484	0.873	0.229	43.746
102	IM15J	0.093	745	0.354	0.021	0.076	16.048	76	0.004	19952	1104	6.211	365	2.378	0.546	0.280	49.358
103	IM15J	0.048	278	0.503	0.022	0.141	69.862	69	0.004	20327	1136	6.316	47	41.611	0.069	0.287	64.547
104	IM15J	0.126	235	0.530	0.017	0.215	34.650	70	0.004	19833	1180	6.094	48	3.036	0.283	0.269	44.764
105	OM15J	0.253	407	0.332	0.011	0.137	129.604	103	0.004	20184	1056	5.742	62	3.673	0.599	0.225	91.590
106	OM15J	0.192	434	0.680	0.649	0.046	78.472	72	1.249	18681	1130	6.189	44	4.089	3.911	3.260	79.121
107	OM15J	0.194	425	0.359	0.009	0.189	54.663	114	0.004	19289	1089	5.831	36	3.102	0.953	0.190	80.571
108	OM15J	0.095	493	0.390	0.013	0.181	104.529	100	0.004	17252	1008	5.919	47	3.189	0.250	0.240	164.617
109	KF15J	0.234	599	0.434	0.012	0.159	44.144	79	0.004	19670	1204	7.325	38	2.358	2.851	0.271	70.741
110	KF15J	0.103	660	0.286	0.016	0.160	49.632	154	0.004	18412	1042	7.020	35	2.784	0.053	0.232	80.634
111	KF15J	0.106	554	0.428	0.029	0.230	23.519	63	0.004	21094	1029	6.105	38	2.290	0.002	0.237	36.562
112	KF15J	0.157	342	0.279	0.028	0.150	47.344	58	0.004	18839	1012	5.282	39	2.117	1.975	0.251	49.126
113	IF15J	0.315	666	0.365	0.030	0.284	13.192	74	0.004	21123	1342	7.857	94	3.650	0.563	0.387	34.379
114	IF15J	0.116	385	0.415	0.027	0.182	19.630	58	0.004	23069	1097	5.653	39	1.807	0.263	0.215	35.482
115	IF15J	0.169	381	0.320	0.021	0.150	53.254	53	0.004	23821	1280	6.474	38	2.269	0.166	0.188	66.371
116	IF15J	0.108	331	0.353	0.021	0.122	21.845	56	0.004	20901	1159	6.590	46	1.849	0.295	0.178	28.445
117	OF15J	0.112	383	0.263	0.022	0.140	19.920	70	0.004	21514	1124	5.293	60	1.221	0.547	0.257	35.522
118	OF15J	0.076	322	0.263	0.019	0.235	25.040	372	0.004	18496	1043	6.459	51	1.133	0.561	0.233	103.197
119	OF15J	0.115	675	0.283	0.010	0.204	69.400	80	0.004	22875	1233	7.297	58	1.900	0.761	0.274	70.989
120	OF15J	0.218	393	0.254	0.016	0.147	36.247	61	0.004	21765	1166	5.716	67	2.694	0.168	0.285	46.860

Tabela P4. Nastavak.

RB uzorka	Sistem gajenja/Sorta/Godina/Jezgro	As	Ca	Cd	Co	Cr	Cu	Fe	Hg	K	Mg	Mn	Na	Ni	Pb	Se	Zn
121	KL15J	0.052	551	0.540	0.021	0.173	42.319	112	0.004	25866	1484	8.289	67	3.410	0.313	0.335	89.407
122	KL15J	0.196	410	0.582	0.015	0.175	28.124	86	0.004	23097	1326	7.376	51	4.005	1.946	0.238	48.517
123	KL15J	0.262	373	0.470	0.019	0.168	16.848	121	0.004	21312	1356	8.019	52	2.499	0.024	0.292	41.185
124	KL15J	0.156	489	0.472	0.021	0.044	17.100	85	0.004	22575	1197	6.095	52	3.305	0.080	0.248	41.977
125	IL15J	0.204	304	0.404	0.023	0.042	13.947	52	0.004	15829	1004	5.504	50	3.608	0.193	0.251	28.126
126	IL15J	0.281	553	0.476	0.026	0.136	28.220	53	0.004	21366	1432	7.627	77	2.667	0.125	0.313	44.736
127	IL15J	0.022	347	0.599	0.019	0.203	31.906	68	0.004	21869	1258	6.653	81	3.526	0.264	0.230	58.940
128	IL15J	0.087	434	0.549	0.014	0.123	17.771	49	0.004	21138	1226	6.714	58	2.019	0.002	0.180	29.216
129	OL15J	0.064	426	0.416	0.031	0.171	18.722	78	0.004	24901	1368	6.432	72	2.052	0.236	0.230	76.401
130	OL15J	0.152	408	0.522	0.031	0.075	32.432	72	0.004	25314	1609	7.462	122	2.910	0.859	0.278	57.980
131	OL15J	0.060	425	0.444	0.019	0.079	24.611	76	0.004	25523	1386	6.700	83	1.212	0.093	0.267	43.823
132	OL15J	0.240	394	0.474	0.024	0.104	22.649	67	0.004	26849	1403	6.840	89	2.376	0.390	0.341	46.833
133	KJ15J	0.133	351	0.478	0.021	0.091	18.832	43	0.004	26090	1328	6.619	69	4.781	0.480	0.243	37.733
134	KJ15J	0.151	326	0.374	0.017	0.083	20.706	69	0.004	19236	986	5.500	50	2.005	0.054	0.273	47.721
135	KJ15J	0.248	340	0.402	0.020	0.112	14.577	72	0.004	21600	1216	6.209	66	2.790	0.002	0.287	37.764
136	KJ15J	0.056	336	0.481	0.023	0.125	19.326	88	0.004	23138	1278	6.866	75	2.584	0.378	0.276	46.119
137	IJ15J	0.092	361	0.477	0.034	0.145	18.133	54	0.004	24145	1195	5.988	109	2.938	0.181	0.297	32.422
138	IJ15J	0.189	320	0.458	0.020	0.128	72.470	83	0.004	21870	1101	6.200	102	3.106	0.276	0.288	121.478
139	IJ15J	0.201	283	0.433	0.016	0.132	33.709	48	0.004	23250	1120	5.803	109	2.090	0.342	0.243	38.444
140	IJ15J	0.086	276	0.440	0.020	0.111	15.193	53	0.004	25030	1178	6.341	84	1.962	0.002	0.323	24.722
141	OJ15J	0.126	328	0.320	0.016	0.148	18.851	83	0.004	26446	1302	6.309	80	1.453	0.176	0.285	43.297
142	OJ15J	0.263	314	0.462	0.027	0.989	13.846	89	0.004	22260	1120	6.029	68	1.715	0.024	0.219	41.848
143	OJ15J	0.288	367	0.360	0.018	0.347	14.689	84	0.004	23602	1139	6.195	87	1.656	0.747	0.188	35.161
144	OJ15J	0.080	413	0.429	0.028	0.357	19.778	83	0.004	30693	1382	6.208	97	2.921	0.800	0.224	40.641

Tabela P4. Nastavak.

RB uzorka	Sistem gajenja/Sorta/Godina/Kora	As	Ca	Cd	Co	Cr	Cu	Fe	Hg	K	Mg	Mn	Na	Ni	Pb	Se	Zn
1	KM13K	0.001	680	0.457	0.277	2.197	7.154	414	0.004	13972	923	11.294	83	3.586	9.377	0.171	20.212
2	KM13K	0.066	801	0.436	0.177	1.608	7.244	351	0.016	14980	899	9.729	72	3.593	2.146	0.134	19.551
3	KM13K	0.004	739	0.408	0.144	1.288	7.356	228	0.004	14032	927	9.254	46	3.576	74.210	0.135	19.000
4	KM13K	0.001	713	0.408	0.144	1.250	6.836	261	0.004	13927	888	9.473	53	3.406	2.511	0.121	18.465
5	IM13K	0.014	606	0.390	0.196	1.086	6.360	235	0.004	13461	853	8.133	55	2.186	1.614	0.172	21.162
6	IM13K	0.001	548	0.266	0.158	1.111	6.355	227	0.004	14687	953	8.646	53	1.829	3.511	0.160	18.106
7	IM13K	0.001	766	0.293	0.207	1.497	6.905	324	0.004	15435	961	10.385	75	2.180	1.291	0.057	21.085
8	IM13K	0.001	624	0.312	0.167	1.193	6.104	259	0.004	15505	947	8.813	59	2.249	6.771	0.186	16.919
9	OM13K	0.034	625	0.314	0.211	1.607	7.373	356	0.004	16768	1042	12.108	46	2.542	28.666	0.155	19.510
10	OM13K	0.007	605	0.380	0.203	1.533	7.399	333	0.004	16515	1055	10.755	42	2.204	1.557	0.046	19.768
11	OM13K	0.031	814	0.292	0.156	0.858	7.136	220	0.007	15703	1010	9.411	39	1.983	8.942	0.181	15.412
12	OM13K	0.001	899	0.557	0.237	0.898	7.251	167	0.004	15573	963	7.032	53	1.618	3.292	0.128	18.974
13	KF13K	0.001	904	0.557	0.375	2.897	9.926	571	0.033	21468	1276	14.620	77	2.812	4.779	0.115	19.613
14	KF13K	0.027	738	0.552	0.400	3.084	9.610	541	0.039	19081	1090	13.434	120	3.014	5.148	0.078	20.380
15	KF13K	0.027	754	0.633	0.410	3.925	10.158	590	0.011	19303	1193	15.532	82	3.308	3.100	0.100	20.003
16	KF13K	0.017	918	0.519	0.217	0.965	8.393	151	0.034	17614	988	6.704	57	1.375	2.684	0.174	22.239
17	IF13K	0.001	572	0.307	0.106	0.816	8.474	152	0.004	17830	990	6.690	53	1.240	0.952	0.139	15.699
18	IF13K	0.086	772	0.302	0.209	1.226	7.315	328	0.043	17933	976	9.737	66	1.450	5.714	0.208	14.243
19	IF13K	0.059	844	0.176	0.156	0.982	7.507	255	0.004	20122	1085	9.368	56	1.374	1.837	0.218	14.206
20	IF13K	0.001	698	0.258	0.206	1.536	8.347	408	0.004	18761	1050	11.627	96	1.925	1.414	0.139	18.355
21	OF13K	0.001	740	0.323	0.239	1.753	8.762	436	0.039	21609	1101	14.982	56	1.832	0.611	0.164	18.159
22	OF13K	0.001	507	0.283	0.134	0.956	7.673	235	0.004	18465	966	8.246	55	1.314	2.252	0.076	15.538
23	OF13K	0.082	873	0.233	0.227	2.327	8.928	540	0.004	20738	1140	14.166	53	1.955	2.732	0.071	16.461
24	OF13K	0.001	713	0.373	0.280	1.965	9.908	541	0.004	19239	1127	16.610	61	2.595	1.458	0.097	19.309

Tabela P4. Nastavak.

RB uzorka	Sistem gajenja/Sorta/Godina/Kora	As	Ca	Cd	Co	Cr	Cu	Fe	Hg	K	Mg	Mn	Na	Ni	Pb	Se	Zn
25	KL13K	0.042	820	0.292	0.336	3.764	9.234	626	0.013	20968	1084	17.534	57	2.530	4.067	0.156	22.657
26	KL13K	0.013	706	0.529	0.200	1.430	8.849	314	0.004	17733	1123	13.871	51	2.166	0.820	0.111	22.078
27	KL13K	0.054	568	0.397	0.162	1.452	7.778	255	0.004	19956	1018	10.768	55	1.980	1.119	0.171	16.690
28	KL13K	0.011	1046	0.335	0.244	3.009	8.576	457	0.004	18112	985	12.540	96	3.193	2.117	0.057	31.275
29	IL13K	0.039	627	0.423	0.273	2.195	10.191	505	0.004	22269	1222	17.201	85	2.698	1.152	0.114	20.327
30	IL13K	0.006	792	0.336	0.192	1.726	8.906	295	0.004	20793	1156	13.963	76	2.084	0.911	0.145	16.988
31	IL13K	0.001	525	0.483	0.206	1.328	9.126	285	0.041	18729	1012	13.664	66	1.974	0.853	0.116	18.620
32	IL13K	0.027	605	0.305	0.137	0.919	7.285	164	0.004	18453	985	9.284	49	1.549	1.154	0.102	15.158
33	OL13K	0.111	421	0.328	0.150	1.100	6.576	191	0.004	8067	519	7.628	59	1.954	0.778	0.204	18.050
34	OL13K	0.076	369	0.339	0.154	1.079	5.693	204	0.004	7756	529	7.436	37	1.789	2.345	0.245	14.383
35	OL13K	0.044	410	0.312	0.167	0.897	6.038	189	0.004	8388	538	7.759	38	1.592	0.522	0.173	14.636
36	OL13K	0.098	347	0.350	0.156	0.801	6.008	165	0.004	8489	531	6.624	34	1.585	0.540	0.068	14.800
37	KJ13K	0.098	343	0.194	0.195	1.002	4.867	272	0.004	6267	463	7.358	34	2.181	0.428	0.148	15.781
38	KJ13K	0.001	327	0.348	0.200	1.117	5.291	268	0.004	6455	458	7.092	41	2.582	0.330	0.084	16.829
39	KJ13K	0.001	343	0.206	0.200	1.042	4.745	268	0.004	5858	435	6.773	33	2.481	0.562	0.127	15.427
40	KJ13K	0.093	374	0.171	0.087	0.458	4.199	104	0.004	6200	416	4.121	31	1.983	3.689	0.214	16.140
41	IJ13K	0.099	262	0.184	0.118	0.719	4.552	166	0.004	6176	418	5.099	29	1.688	0.593	0.152	15.451
42	IJ13K	0.042	379	0.205	0.161	0.624	5.733	183	0.004	6688	477	6.304	28	1.783	0.473	0.125	16.294
43	IJ13K	0.001	361	0.196	0.144	0.620	4.748	188	0.004	5456	409	5.371	29	1.768	1.692	0.187	15.909
44	IJ13K	0.039	298	0.175	0.126	0.647	4.801	147	0.004	6356	461	5.708	29	1.676	0.658	0.118	15.409
45	OJ13K	0.027	331	0.250	0.143	0.749	4.926	205	0.004	5998	430	5.541	48	2.052	0.617	0.204	15.126
46	OJ13K	0.043	362	0.198	0.175	0.962	4.990	255	0.004	6660	468	6.700	37	2.059	0.397	0.174	16.350
47	OJ13K	0.046	316	0.227	0.119	0.636	5.658	151	0.004	6578	467	5.424	33	1.730	0.689	0.174	17.775
48	OJ13K	0.078	261	0.203	0.090	0.474	4.376	122	0.004	5680	425	4.557	28	1.421	0.484	0.167	11.038

Tabela P4. Nastavak.

RB uzorka	Sistem gajenja/Sorta/Godina/Kora	As	Ca	Cd	Co	Cr	Cu	Fe	Hg	K	Mg	Mn	Na	Ni	Pb	Se	Zn
49	KM14K	0.110	483	0.197	0.183	1.004	4.891	283	0.004	7486	503	7.281	39	2.474	0.734	0.147	16.397
50	KM14K	0.048	446	0.298	0.161	1.484	4.785	228	0.004	7245	488	6.745	31	3.136	0.882	0.200	18.161
51	KM14K	0.023	448	0.371	0.141	0.844	5.042	214	0.004	6896	486	6.360	35	3.023	0.434	0.095	20.008
52	KM14K	0.001	453	0.386	0.141	0.887	5.733	210	0.004	7712	497	6.427	59	3.294	0.887	0.124	20.659
53	IM14K	0.001	392	0.245	0.148	0.950	4.043	201	0.004	5734	422	5.739	30	2.328	0.728	0.162	15.430
54	IM14K	0.068	419	0.222	0.161	1.067	4.570	215	0.004	6433	418	5.459	35	2.785	2.158	0.138	17.469
55	IM14K	0.079	367	0.292	0.230	1.746	4.435	305	0.004	5942	450	7.195	30	2.632	1.571	0.139	17.403
56	IM14K	0.071	385	0.263	0.200	1.045	4.005	231	0.004	6039	430	5.861	58	2.623	3.746	0.138	16.454
57	OM14K	0.126	370	0.290	0.168	1.200	4.559	199	0.004	6556	445	5.416	51	2.188	0.956	0.112	16.819
58	OM14K	0.082	342	0.206	0.160	0.842	4.125	189	0.004	6854	438	5.519	50	2.053	0.730	0.086	14.954
59	OM14K	0.075	403	0.284	0.145	0.785	5.220	114	0.004	7058	450	5.046	53	2.284	0.823	0.225	15.929
60	OM14K	0.032	394	0.294	0.199	1.091	5.590	219	0.004	6977	491	6.997	67	2.437	1.368	0.177	18.266
61	KF14K	0.042	348	0.230	0.127	0.822	4.931	156	0.004	6395	409	4.470	50	2.241	0.835	0.168	14.241
62	KF14K	0.061	389	0.351	0.210	1.234	4.653	308	0.004	6679	445	7.691	60	2.902	1.064	0.162	13.662
63	KF14K	0.208	435	0.376	0.276	2.000	5.318	423	0.004	7200	497	10.045	47	3.019	0.602	0.118	13.659
64	KF14K	0.087	434	0.229	0.178	0.883	5.778	247	0.004	8483	504	6.547	58	1.951	0.620	0.117	14.900
65	IF14K	0.129	393	0.218	0.305	2.506	5.734	403	0.004	7035	491	10.331	50	3.105	0.939	0.123	14.066
66	IF14K	0.018	400	0.293	0.269	1.945	4.588	394	0.004	6990	488	8.039	50	2.928	0.925	0.191	10.985
67	IF14K	0.078	402	0.108	0.191	1.687	4.768	274	0.004	6455	448	6.117	43	2.214	0.520	0.182	11.282
68	IF14K	0.125	382	0.184	0.251	1.729	4.699	383	0.004	7224	477	7.317	49	2.489	0.611	0.074	13.280
69	OF14K	0.025	464	0.160	0.222	1.849	5.504	326	0.004	7744	495	6.447	60	2.222	0.502	0.239	12.165
70	OF14K	0.014	473	0.172	0.295	2.294	6.390	419	0.004	8436	524	9.138	69	2.551	0.641	0.070	13.324
71	OF14K	0.038	441	0.238	0.188	1.149	5.875	251	0.004	8208	518	5.146	70	1.649	0.688	0.167	12.808
72	OF14K	0.069	388	0.166	0.181	1.380	5.086	265	0.004	7701	486	6.359	590	1.764	0.779	0.183	10.787

Tabela P4. Nastavak.

RB uzorka	Sistem gajenja/Sorta/Godina/Kora	As	Ca	Cd	Co	Cr	Cu	Fe	Hg	K	Mg	Mn	Na	Ni	Pb	Se	Zn
73	KL14K	0.065	361	0.353	0.180	1.154	5.265	234	0.004	7401	477	6.886	46	2.601	0.767	0.120	15.058
74	KL14K	0.014	392	0.344	0.154	0.975	3.847	201	0.004	6741	445	5.893	48	2.500	0.856	0.184	11.662
75	KL14K	0.022	343	0.310	0.183	1.079	4.572	269	0.004	7165	442	13.184	53	2.539	0.334	0.121	13.223
76	KL14K	0.054	398	0.313	0.156	0.785	4.612	217	0.004	7081	456	7.225	50	2.600	0.544	0.124	14.406
77	IL14K	0.019	370	0.335	0.151	0.945	5.298	202	0.004	7082	476	6.444	45	2.092	0.411	0.094	15.401
78	IL14K	0.030	335	0.350	0.184	1.080	5.623	225	0.004	6919	464	6.276	54	2.355	1.256	0.182	15.235
79	IL14K	0.067	336	0.404	0.205	1.304	4.138	214	0.004	6539	468	6.373	55	3.379	1.408	0.167	11.283
80	IL14K	0.047	382	0.407	0.275	1.580	3.641	303	0.004	6812	434	8.144	55	2.754	1.770	0.206	13.514
81	OL14K	0.001	369	0.301	0.166	0.872	5.527	187	0.004	7013	481	5.714	64	3.471	0.539	0.077	12.697
82	OL14K	0.047	461	0.477	0.313	1.405	6.412	306	0.004	8047	507	9.299	91	2.175	2.595	0.187	15.815
83	OL14K	0.017	322	0.459	0.176	1.039	5.506	174	0.004	6772	474	5.235	60	2.080	1.974	0.094	14.027
84	OL14K	0.013	388	0.484	0.225	1.004	6.038	201	0.004	8046	488	5.979	75	2.163	1.990	0.160	14.380
85	KJ14K	0.071	357	0.356	0.206	1.295	4.451	223	0.004	5432	390	5.536	61	3.205	1.804	0.152	12.864
86	KJ14K	0.015	359	0.272	0.172	1.158	5.674	250	0.004	5363	401	6.257	86	2.699	0.906	0.209	13.943
87	KJ14K	0.001	442	0.186	0.178	1.061	5.092	263	0.004	6606	407	6.784	55	3.272	0.806	0.049	18.023
88	KJ14K	0.001	399	0.242	0.194	1.315	5.066	259	0.004	6075	406	6.885	69	2.863	0.913	0.132	14.128
89	IJ14K	0.052	377	0.196	0.211	1.180	4.557	274	0.004	5982	418	6.446	69	2.266	1.692	0.099	13.195
90	IJ14K	0.001	330	0.175	0.182	1.811	4.917	259	0.004	5262	422	7.300	66	2.738	0.818	0.169	11.978
91	IJ14K	0.014	403	0.224	0.180	1.280	5.259	282	0.004	5514	479	7.866	67	2.444	0.704	0.204	12.997
92	IJ14K	0.063	296	0.191	0.132	0.997	4.578	202	0.004	6084	438	5.740	54	2.168	0.789	0.109	11.950
93	OJ14K	0.045	409	0.319	0.143	0.627	4.906	158	0.004	6033	425	5.274	67	1.701	0.931	0.209	13.102
94	OJ14K	0.077	424	0.208	1.363	1.121	5.292	286	0.004	6928	490	7.101	90	2.185	0.989	0.160	14.277
95	OJ14K	0.066	371	0.181	0.337	1.225	4.793	302	0.004	6456	440	7.398	94	2.378	0.636	0.081	12.807
96	OJ14K	0.189	351	0.298	0.528	0.862	4.725	169	0.004	5972	421	4.998	89	2.303	0.663	0.150	11.750

Tabela P4. Nastavak.

RB uzorka	Sistem gajenja/Sorta/Godina/Kora	As	Ca	Cd	Co	Cr	Cu	Fe	Hg	K	Mg	Mn	Na	Ni	Pb	Se	Zn
97	KM15K	0.255	2210	0.275	0.120	0.453	24.234	116	0.004	27050	1084	8.386	115	3.557	0.592	0.254	40.374
98	KM15K	0.206	1335	0.368	0.133	0.713	23.106	225	0.004	25646	1106	10.150	74	7.260	0.671	0.219	33.838
99	KM15K	0.237	1712	0.402	0.152	0.764	59.127	490	0.004	27783	1137	11.037	971	5.303	0.704	0.268	58.879
100	KM15K	0.175	1360	0.483	0.141	0.754	25.039	163	0.004	25880	1089	13.555	96	4.284	0.386	0.247	35.398
101	IM15K	0.285	1448	0.421	0.107	0.539	36.086	141	0.004	23947	1111	9.529	110	3.807	0.427	0.236	33.066
102	IM15K	0.211	1614	0.480	0.164	0.670	35.291	217	0.004	29587	1303	14.464	96	3.477	0.463	0.282	33.247
103	IM15K	0.218	1282	0.569	0.138	0.565	18.939	170	0.004	26746	1232	11.931	85	4.796	1.199	0.251	32.169
104	IM15K	0.395	1334	0.688	0.124	0.441	13.447	115	0.004	30328	1337	12.559	94	4.209	0.693	0.208	31.837
105	OM15K	0.112	1333	0.369	0.103	0.502	15.525	117	0.004	26542	1193	9.961	135	6.515	0.749	0.265	36.201
106	OM15K	0.164	1152	0.386	0.098	0.454	13.549	118	0.004	26579	1218	8.929	122	9.423	1.821	0.217	29.260
107	OM15K	0.148	1216	0.401	0.089	0.494	13.960	137	0.004	28168	1216	9.735	83	6.014	0.572	0.239	29.853
108	OM15K	0.145	1218	0.417	0.100	0.508	15.806	145	0.004	24302	1041	9.030	106	6.375	0.092	0.211	35.402
109	KF15K	0.067	1161	0.376	0.089	0.527	12.032	145	0.004	35036	1337	8.886	84	4.089	0.626	0.134	23.238
110	KF15K	0.102	1320	0.342	0.113	0.564	12.944	246	0.004	32581	1284	9.779	88	3.734	0.096	0.178	19.441
111	KF15K	0.117	1427	0.499	0.179	0.951	12.747	282	0.004	32050	1292	13.513	96	3.668	0.115	0.239	20.148
112	KF15K	0.154	1577	0.393	0.152	0.608	18.537	186	0.004	30568	1321	12.762	99	2.350	0.476	0.240	25.648
113	IF15K	0.370	1496	0.444	0.233	0.972	15.753	388	0.004	36416	1500	14.587	121	3.705	1.154	0.190	19.655
114	IF15K	0.323	1569	0.540	0.142	0.642	19.716	132	0.004	38189	1581	10.657	108	2.677	0.331	0.187	26.522
115	IF15K	0.230	1559	0.368	0.182	0.949	16.676	215	0.004	39547	1577	12.898	119	10.169	1.548	0.203	21.977
116	IF15K	0.307	1574	0.490	0.150	0.746	14.345	160	0.004	32362	1405	10.262	109	5.606	0.579	0.279	21.279
117	OF15K	0.234	1340	0.300	0.072	0.284	20.130	81	0.004	31954	1178	6.236	136	5.268	0.453	0.217	37.802
118	OF15K	0.156	1336	0.364	0.053	0.293	14.872	94	0.004	31922	1371	6.166	139	2.417	0.019	0.210	20.795
119	OF15K	0.211	1464	0.318	0.090	0.422	20.870	120	0.004	34756	1390	7.993	125	3.104	0.215	0.251	35.395
120	OF15K	0.191	1651	0.355	0.090	0.478	24.175	97	0.004	41559	1511	8.849	147	2.428	0.330	0.199	40.465

Tabela P4. Nastavak.

RB uzorka	Sistem gajenja/Sorta/Godina/Kora	As	Ca	Cd	Co	Cr	Cu	Fe	Hg	K	Mg	Mn	Na	Ni	Pb	Se	Zn
121	KL15K	0.174	1243	0.501	0.105	0.648	68.532	155	0.004	35839	1276	11.303	84	4.599	0.598	0.285	46.425
122	KL15K	0.325	1466	0.725	0.148	0.623	367.647	276	0.004	39864	1512	17.469	101	5.009	0.995	0.358	171.092
123	KL15K	0.250	1265	0.518	0.145	0.577	19.982	215	0.004	35375	1346	12.717	99	2.563	0.816	0.249	28.732
124	KL15K	0.179	1354	0.535	0.159	0.791	27.974	317	0.004	33936	1393	14.845	101	3.426	1.574	0.236	40.154
125	IL15K	0.207	1486	0.562	0.140	0.549	56.456	216	0.004	36925	1431	13.807	122	3.267	2.315	0.205	56.751
126	IL15K	0.172	1918	0.552	0.190	0.942	40.640	331	0.004	37732	1400	15.088	134	10.213	1.463	0.192	47.087
127	IL15K	0.205	1580	0.707	0.167	0.778	23.958	292	0.004	34594	1380	15.057	129	9.564	1.451	0.261	37.795
128	IL15K	0.283	1601	0.673	0.157	0.621	52.308	214	0.004	38423	1377	13.178	143	4.030	2.170	0.230	66.454
129	OL15K	0.285	1551	0.462	0.173	0.666	52.415	265	0.004	36342	1342	12.266	145	2.924	1.243	0.274	47.988
130	OL15K	0.163	1321	0.488	0.110	0.331	21.782	128	0.004	36584	1332	9.772	147	2.402	0.536	0.277	31.000
131	OL15K	0.251	1514	0.526	0.108	0.319	52.915	136	0.004	35024	1338	9.550	152	2.560	1.027	0.243	87.909
132	OL15K	0.348	1647	0.494	0.276	1.495	24.827	305	0.004	39088	1457	18.434	227	2.850	1.056	0.240	33.117
133	KJ15K	0.251	1390	0.522	0.157	0.932	23.388	219	0.004	26885	1240	13.110	116	5.754	1.014	0.229	37.212
134	KJ15K	0.156	1451	0.476	0.117	0.519	17.836	138	0.004	23443	1105	10.023	90	3.580	0.566	0.283	27.455
135	KJ15K	0.189	1201	0.493	0.131	0.597	51.951	193	0.004	25669	1129	11.930	101	9.647	0.785	0.243	35.717
136	KJ15K	0.237	1268	0.518	0.133	0.745	24.107	217	0.004	25977	1184	12.171	117	5.300	1.008	0.212	32.135
137	IJ15K	0.385	1683	0.586	0.229	1.495	103.352	358	0.004	25665	1261	16.090	129	4.075	3.201	0.283	52.109
138	IJ15K	0.371	1237	0.526	0.201	0.808	31.404	294	0.004	23140	1107	13.095	118	24.668	1.560	0.256	42.247
139	IJ15K	0.312	1518	0.480	0.236	1.386	18.015	389	0.004	25386	1206	15.356	128	3.795	6.015	0.303	24.351
140	IJ15K	0.431	1348	0.450	0.187	0.897	19.130	316	0.004	23899	1154	13.713	134	3.337	2.475	0.209	27.895
141	OJ15K	0.224	1457	0.364	0.104	0.551	68.767	173	0.004	26967	1169	10.127	168	5.267	0.998	0.296	83.234
142	OJ15K	0.232	910	0.444	0.149	0.806	20.738	325	0.004	23722	1104	10.887	119	4.460	2.982	0.312	29.876
143	OJ15K	0.290	1135	0.408	0.121	0.933	17.039	265	0.004	25400	1107	10.315	142	2.829	0.742	0.170	26.881
144	OJ15K	0.131	1089	0.444	0.146	0.865	17.217	309	0.004	29230	1239	11.929	122	2.874	0.818	0.127	23.971

Tabela P5. Multivarijantni testovi značajnosti (Pilai's trace, Hotelling's T2, Wilks lambda, and Roy's greatest root)

	Multivarijantni testovi značajnosti					
	Test	Vrednost	F	df	Greška df	p
Odsečak	Wilks	0,0040	3780,777	14	215,000	0,000000
	Pillai's	0,9960	3780,777	14	215,000	0,000000
	Hotelling	246,1901	3780,777	14	215,000	0,000000
	Roy's	246,1901	3780,777	14	215,000	0,000000
Deo krtole krompira (kora/jezgro)	Wilks	0,0507	287,577	14	215,000	0,000000
	Pillai's	0,9493	287,577	14	215,000	0,000000
	Hotelling	18,7260	287,577	14	215,000	0,000000
	Roy's	18,7260	287,577	14	215,000	0,000000
Način proizvodnje (sistem gajenja)	Wilks	0,5950	4,552	28	430,000	0,000000
	Pillai's	0,4370	4,314	28	432,000	0,000000
	Hotelling	0,6269	4,791	28	428,000	0,000000
	Roy's	0,5242	8,088	14	216,000	0,000000
Sorta	Wilks	0,1088	16,913	42	638,558	0,000000
	Pillai's	1,5373	16,290	42	651,000	0,000000
	Hotelling	3,4286	17,443	42	641,000	0,000000
	Roy's	1,7890	27,729	14	217,000	0,000000
Deo krtole krompira*Način proizvodnje	Wilks	0,7870	1,954	28	430,000	0,002911
	Pillai's	0,2235	1,941	28	432,000	0,003177
	Hotelling	0,2573	1,967	28	428,000	0,002671
	Roy's	0,1855	2,862	14	216,000	0,000567
Analizirani deo krtole krompira*Sorta	Wilks	0,1530	13,422	42	638,558	0,000000
	Pillai's	1,2532	11,119	42	651,000	0,000000
	Hotelling	3,1156	15,850	42	641,000	0,000000
	Roy's	2,1518	33,354	14	217,000	0,000000
Način proizvodnje*Sorta	Wilks	0,6097	1,331	84	1204,721	0,027756
	Pillai's	0,4626	1,313	84	1320,000	0,033910
	Hotelling	0,5309	1,348	84	1280,000	0,022467
	Roy's	0,2307	3,625	14	220,000	0,000020
Analizirani deo krtole krompira*Način proizvodnje*Sorta	Wilks	0,5511	1,618	84	1204,721	0,000517
	Pillai's	0,5546	1,600	84	1320,000	0,000656
	Hotelling	0,6424	1,632	84	1280,000	0,000406
	Roy's	0,2510	3,944	14	220,000	0,000005

Tabela P6. Univarijantni test značajnosti uticaja faktorskih efekata na sadržaj makro elemenata (Ca, Mg, i K) u uzorcima jezgra i kore krompira. DF – stepen slobode; SS – zbir kvadrata; MS – srednji kvadrat. Faktori: F_1 – način proizvodnje: konvencionalna (K), integralna (I), organska (O); F_2 – sorte krompira: Marabel (M), Red Fantasy (F), Laura (L) i Jelly (J); F_3 – deo krtole krompira (kora/jezgro). Unapred definisana statistička značajnost je na $p = 0,05$. Svi prikazani rezultati (interakcije) su statistički značajni, osim onih označenih sa „a“.

Faktor	DF	Ca				Mg				K			
		SS	MS	F	p	SS	MS	F	p	SS	MS	F	p
Odsečak	1	83384144,52	83384144,52	7156,82	<0,001	207162080,09	207162080,09	44806,27	<0,001	$6,72 \times 10^{10}$	$6,72 \times 10^{10}$	27746,55	<0,001
F_1	2	230504,23	115252,12	9,89	<0,001	34283,44	17141,72	3,71	0,026	$1,34 \times 10^7$	$6,72 \times 10^6$	2,78	0,064
F_2	3	914049,55	304683,18	26,15	<0,001	1435931,41	478643,80	103,52	<0,001	$6,66 \times 10^8$	$2,22 \times 10^8$	91,74	<0,001
F_3	1	20380808,05	20380808,05	1749,28	<0,001	43022,98	43022,98	9,31	0,003	$1,17 \times 10^9$	$1,17 \times 10^9$	482,53	<0,001
$F_1 \times F_2$	6	179292,49	29882,08	2,56	0,0201	79656,05	13276,01	2,87	0,010	$3,29 \times 10^7$	$5,48 \times 10^6$	2,26	0,038
$F_1 \times F_3$	2	66483,33	33241,66	2,85	0,06 ^a	125724,17	62862,09	13,60	<0,001	$3,36 \times 10^7$	$1,68 \times 10^7$	6,94	0,001
$F_2 \times F_3$	3	235751,38	78583,79	6,74	<0,001	859941,64	286647,22	62,00	<0,001	$1,01 \times 10^9$	$3,35 \times 10^8$	138,58	<0,001
$F_1 \times F_2 \times F_3$	6	40585,20	6764,20	0,58	0,75 ^a	168429,51	28071,58	6,07	<0,001	$1,12 \times 10^8$	$1,87 \times 10^7$	7,74	<0,001
Greška	228	2656427,75	11650,99			1054159,48	4623,51			$5,52 \times 10^8$	$2,42 \times 10^6$		

Tabela P7. Univarijantni test značajnosti uticaja faktorskih efekata na sadržaj mikro elemenata (Cd, Co, Cr, Mn, Ni, Pb, Cu, Zn, Fe, Na, i Se) u uzorcima jezgra i kore krompira. DF – stepen slobode; SS – zbir kvadrata; MS – srednji kvadrat. Faktori: F_1 – način proizvodnje: konvencionalna (K), integralna (I), organska (O); F_2 – sorte krompira: Marabel (M), Red Fantasy (F), Laura (L) i Jelly (J); F_3 – deo krtole krompira (kora/jezgro). Unapred definisana statistička značajnost je na $p = 0,05$. Svi prikazani rezultati (interakcije) su statistički značajni, osim onih označenih sa „a“.

Faktor	DF	Cd				Co				Cr				Mn			
		SS	MS	F	p	SS	MS	F	p	SS	MS	F	p	SS	MS	F	p
Odsečak	1	31,49	31,49	8317,25	<0,001	3,77	3,77	538,12	<0,001	122,14	122,14	1301,21	<0,001	14474,01	14474,01	6537,18	<0,001
F_1	2	0,06	0,032	8,32	<0,001	0,01	0,00	0,61	0,54 ^a	0,64	0,32	3,42	0,04	32,97	16,49	7,45	<0,001
F_2	3	0,77	0,26	67,76	<0,001	0,00	0,00	0,11	0,95 ^a	2,16	0,72	7,67	<0,001	106,41	35,47	16,02	<0,001
F_3	1	0,26	0,26	69,64	<0,001	1,57	1,57	224,24	<0,001	61,00	61,00	649,81	<0,001	1551,66	1551,66	700,80	<0,001
$F_1 \times F_2$	6	0,07	0,01	3,20	0,005	0,07	0,01	1,62	0,14 ^a	0,41	0,07	0,72	0,63 ^a	18,94	3,16	1,43	0,21 ^a
$F_1 \times F_3$	2	0,02	0,01	2,38	0,10 ^a	0,01	0,00	0,37	0,69 ^a	1,03	0,51	5,47	0,01	31,78	15,89	7,18	<0,001
$F_2 \times F_3$	3	0,06	0,02	5,57	<0,001	0,10	0,03	4,95	<0,001	1,98	0,66	7,01	<0,001	38,61	12,87	5,81	<0,001
$F_1 \times F_2 \times F_3$	6	0,03	0,01	1,37	0,23 ^a	0,08	0,01	1,89	0,08 ^a	0,30	0,05	0,53	0,79 ^a	15,20	2,53	1,14	0,34 ^a
Greška	228	0,86	0,00			1,60	0,01			21,40	0,09			504,82	2,21		

Tabela P7. Nastavak.

Faktor	DF	Ni				Pb				Cu				Zn			
		SS	MS	F	p	SS	MS	F	p	SS	MS	F	p	SS	MS	F	p
Odsečak	1	1925,51	1925,51	247,14	<0,001	491,86	491,86	25,54	<0,001	68933,07	68933,07	140,94	0,00	189052,38	189052,38	1009,65	0,00
F_1	2	40,78	20,39	2,62	0,08 a	28,75	14,38	0,75	0,48 a	206,71	103,35	0,21	0,81 a	763,92	381,96	2,04	0,13 a
F_2	3	58,99	19,66	2,52	0,06 a	155,91	51,97	2,70	0,05	2264,32	754,77	1,54	0,20 a	1983,59	661,20	3,53	0,02
F_3	1	127,36	127,36	16,35	<0,001	189,90	189,90	9,86	0,002	74,41	74,41	0,15	0,70 a	964,72	964,72	5,15	0,02
$F_1 \times F_2$	6	7,60	1,27	0,16	0,99 a	72,93	12,16	0,63	0,71 a	3540,17	590,03	1,21	0,30 a	1727,97	287,99	1,54	0,17 a
$F_1 \times F_3$	2	0,61	0,31	0,04	0,96 a	21,23	10,61	0,55	0,58 a	2377,47	1188,73	2,43	0,09 a	840,72	420,36	2,24	0,11 a
$F_2 \times F_3$	3	21,18	7,06	0,91	0,44 a	151,25	50,42	2,62	0,05 a	4694,86	1564,95	3,20	0,02	1766,59	588,86	3,14	0,03
$F_1 \times F_2 \times F_3$	6	70,67	11,78	1,51	0,18 a	92,93	15,49	0,80	0,57 a	3808,49	634,75	1,30	0,26 a	2018,37	336,39	1,80	0,10 a
Greška	228	1776,41	7,79			4391,55	19,26			111516,9	489,11			42691,79	187,24		

Tabela P7. Nastavak.

Faktor	DF	Fe				Na				Se			
		SS	MS	F	p	SS	MS	F	p	SS	MS	F	p
Odsečak	1	6195752,17	6195752,17	1464,94	0,00	1661121,29	1661121,29	405,06	0,00	25,46	25,46	10,37	0,001
F_1	2	24241,37	12120,68	2,87	0,06 a	3089,24	1544,62	0,38	0,69 a	4,62	2,31	0,94	0,39 a
F_2	3	67208,78	22402,93	5,30	<0,001	2760,89	920,30	0,22	0,88 a	8,34	2,78	1,13	0,34 a
F_3	1	3313395,56	3313395,56	783,43	0,00	31166,54	31166,54	7,60	0,006	4,34	4,34	1,77	0,18 a
$F_1 \times F_2$	6	28380,66	4730,11	1,12	0,35 a	31492,82	5248,80	1,28	0,27 a	15,51	2,58	1,05	0,39 a
$F_1 \times F_3$	2	39023,46	19511,73	4,61	0,01	10166,02	5083,01	1,24	0,29 a	4,49	2,24	0,91	0,40 a
$F_2 \times F_3$	3	47056,25	15685,42	3,71	0,01	7958,49	2652,83	0,65	0,59 a	7,95	2,65	1,08	0,36 a
$F_1 \times F_2 \times F_3$	6	16261,62	2710,27	0,64	0,70 a	32820,21	5470,04	1,33	0,24 a	15,49	2,58	1,05	0,39 a
Greška	228	964293,83	4229,36			935003,34	4100,89			559,68	2,45		

BIOGRAFIJA

Aleksandra Dramićanin (rođena Kosović) rođena je 01.09.1989. godine u Beogradu, Republika Srbija. Osnovnu školu i gimnaziju završila je u Beogradu. Osnovne akademske studije na studijskom programu „Hemičar za životnu sredinu“ na Univerzitetu u Beogradu – Hemijskom fakultetu upisala je školske 2008/09. godine, a diplomirala 2012. godine sa prosečnom ocenom 9,39 (devet i 39/100) i ocenom 10 na završnom radu, pri Katedri za primenjenu hemiju. Master akademske studije na studijskom programu „Hemija“ na Univerzitetu u Beogradu - Hemijskom fakultetu pri Katedri za primenjenu hemiju upisala je školske 2012/13. godine i diplomirala 10.09.2013. godine sa prosečnom ocenom 10,00 (deset i 0/100). Završni (master) rad je delom radila u Ujedinjenom Kraljevstvu, na Univerzitetu Grinič (School of Sciences, University of Greenwich, United Kingdom), u sklopu TEMPUS projekta. Doktorske akademske studije na studijskom programu „Hemija“ pri Katedri za analitičku hemiju Univerziteta u Beogradu – Hemijskog fakulteta upisala je školske 2013/14. godine.

Od školske 2013/14. godine Aleksandra Dramićanin je angažovana kao saradnik u nastavi na Univerzitetu u Beogradu - Poljoprivrednom i Hemijskom fakultetu. Od marta 2014. do marta 2016. godine je bila zaposlena u Inovacionom centru Hemijskog fakulteta u Beogradu kao istraživač-pripravnik, a od marta 2016. do februara 2018. godine kao istraživač-saradnik. Od februara 2018. godine zaposlena je kao asistent na Katedri za analitičku hemiju Univerziteta u Beogradu - Hemijskog fakulteta. Od 2013. godine je bila angažovana na projektu broj 172017; od 2016-2018. godine je bila angažovana kao saradnik na međunarodnom projektu broj HF-2016-02, a od 2018. na Inovacionom projektu broj 391-00-16/2017-16/33. Od aprila 2021. godine je angažovana na IMPTOX projektu (Horizont 2020; No 965173).

U periodu 2004-2014. godine je bila stipendista Ministarstva prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije. Dobitnik je CICOPS stipendije za 2019. godinu, diplome za najboljeg studenta studijskog programa „Hemičar za životnu sredinu“ u školskoj 2011/12. godini i specijalnog priznanja Srpskog hemijskog društva za 2013. godinu za izuzetan uspeh u toku studija na Univerzitetu u Beogradu – Hemijskom fakultetu.

Aleksandra Dramićanin je koautor 17 naučnih radova objavljenih u međunarodnim časopisima i to tri rada kategorije M21a, pet radova M21, četiri M22 i pet radova kategorije M23, kao i 17 saopštenja na skupovima međunarodnog i nacionalog značaja. Rezultati istraživanja, proistekli iz ove doktorske disertacije, prikazani su u dva naučna rada. Jedan rad štampan je u vrhunskom međunarodnom časopisu (M21), a drugi u međunarodnom časopisu izuzetnih vrednosti (M21a).

Naučni radovi

1. Brčić Karačonji, I., Jurica, K., Gašić, U., Dramićanin, A., Tešić, Ž., Milojković Opsenica, D. (2021). Comparative Study on the Phenolic Fingerprint and Antioxidant Activity of Strawberry Tree (*Arbutus unedo* L.) Leaves and Fruits. *Plants*, *11*(1), 25.
2. Golijan, J., Lekić, S., Dojčinović, B., Dramićanin, A., Milinčić, D., Pešić, M., Barać, M., Kostić, A. (2021). Mineral profile with nutritional assessment of soybean, buckwheat, spelt and maize grains grown under different conditions. *International Food Research Journal*,
3. Cvijanović, V., Sarić, B., Dramićanin, A., Kodranov, I., Manojlović, D., Momirović, N., Momirović, N., Milojković-Opsenica, D. (2021). Content and Distribution of Macroelements, Microelements, and Rare-Earth Elements in Different Tomato Varieties as a Promising Tool for Monitoring the Distinction between the Integral and Organic Systems of Production in Zelena hit—Official Enza and Vitalis Trial and Breeding Station. *Agriculture*, *11*(10), 1009.
4. **Dramićanin, A., Andrić, F., Mutić, J., Stanković, V., Momirović, N., & Milojković-Opsenica, D. (2021). Content and distribution of major and trace elements as a tool to assess the genotypes, harvesting time, and cultivation systems of potato. *Food Chemistry*, *354*, 129507.**
5. Bayram, N. E., Gercek, Y. C., Çelik, S., Mayda, N., Kostić, A. Ž., Dramićanin, A. M., Özkök, A. (2021). Phenolic and free amino acid profiles of bee bread and bee pollen with the same botanical origin—similarities and differences. *Arabian Journal of Chemistry*, *14*(3), 103004.
6. Mosić, M., Dramićanin, A., Ristivojević, P., Milojković-Opsenica, D. (2020). Extraction as a Critical Step in Phytochemical Analysis. *Journal of AOAC International*, *103*(2), 365-372.
7. Milinčić, D. D., Kostić, A. Ž., Špirović-Trifunović, B. D., Tešić, Ž. L., Tosti, T. B., Dramićanin, A. M., Barać, M. B., Pešić, M. B. (2020). Grape seed flour of different grape pomaces: Fatty acid profile, soluble sugar profile and nutritional value. *Journal of the Serbian Chemical Society*, *85*(3), 305-319.
8. Mudrić, S. Ž., Gašić, U. M., Dramićanin, A. M., Ćirić, I. Ž., Milojković-Opsenica, D. M., Popović-Đorđević, J. B., Momirović, N. M., Tešić, Ž. L. (2017). The polyphenolics and carbohydrates as indicators of botanical and geographical origin of Serbian autochthonous clones of red spice paprika. *Food Chemistry*, *217*, 705-715.
9. Andrić, F., Šegan, S., Dramićanin, A., Majstorović, H., & Milojković-Opsenica, D. (2016). Linear modeling of the soil-water partition coefficient normalized to organic carbon content by reversed-phase thin-layer chromatography. *Journal of Chromatography A*, *1458*, 136-144.
10. **Dramićanin, A. M., Andrić, F. L., Poštić, D. Ž., Momirović, N. M., & Milojković-Opsenica, D. M. (2018). Sugar profiles as a promising tool in tracing differences between potato cultivation systems, botanical origin and climate conditions. *Journal of Food Composition and Analysis*, *72*, 57-65.**
11. Kostić, A. Ž., Pešić, M. B., Trbović, D., Petronijević, R., Dramićanin, A. M., Milojković-Opsenica, D. M., Tešić, Ž. L. (2017). The fatty acid profile of Serbian bee-collected pollen—a chemotaxonomic and nutritional approach. *Journal of Apicultural Research*, *56*(5), 533-542.
12. Koprivica, M. R., Trifković, J. Đ., Dramićanin, A. M., Gašić, U. M., Akšić, M. M. F., & Milojković-Opsenica, D. M. (2018). Determination of the phenolic profile of peach (*Prunus*

- persica L.) kernels using UHPLC–LTQ OrbiTrap MS/MS technique. *European Food Research and Technology*, 244(11), 2051-2064.
13. Popović-Djordjević, J., Pejin, B., Dramićanin, A., Jović, S., Vujović, D., Zunić, D., & Ristić, R. (2017). Wine chemical composition and radical scavenging activity of some Cabernet Franc clones. *Current Pharmaceutical Biotechnology*, 18(4), 343-350.
 14. Pantelić, N. Đ., Dramićanin, A. M., Milovanović, D. B., Popović-Đorđević, J., Kostić, A. Ž. (2017). Evaluation of the quality of drinking water in Rasina district, Serbia: physicochemical and bacteriological viewpoint. *Romanian Journal of Physics*, 62(9-10).
 15. Popović-Djordjević, J., Bokan, N., Dramićanin, A. M., Brčeski, I., Kostić, A. (2017). Content and weekly intake of essential and toxic elements in Serbian vegetables. *Journal of Environmental Protection and Ecology*, 18(3), 889-898.
 16. Vujović, D., Pejin, B., Popović-Đorđević, J., Dramićanin, A. M., Veličković, M., Tešević, V. (2016). An insight into selected properties of Merlot wines obtained from three new clone candidates. *Revista de Chimie*, 67(5), 998-1000.
 17. Waisi, H., Kosović, A., Krstić, Đ., Milojković-Opsenica, D., Nikolić, B., Dragičević, V., Trifković, J. (2015). Polyphenolic profile of maize seedlings treated with 24-epibrassinolide. *Journal of Chemistry*, 2015.

Изјава о ауторству

Име и презиме аутора **Александра Драмићанин**

Број индекса **ДХ12/2013**

Изјављујем

да је докторска дисертација под насловом

Фитохемијски профил кртола као показатељ порекла и начина производње кромпира

- резултат сопственог истраживачког рада;
- да дисертација у целини ни у деловима није била предложена за стицање друге дипломе према студијским програмима других високошколских установа;
- да су резултати коректно наведени и
- да нисам кршила ауторска права и користила интелектуалну својину других лица.

У Београду, _____

Потпис аутора

Изјава о истоветности штампане и електронске верзије докторског рада

Име и презиме аутора	Александра Драмићанин
Број индекса	ДХ12/2013
Студијски програм	Хемија
Наслов рада	Фитохемијски профил кртола као показатељ порекла и начина производње кромпира
Ментор	др Душанка Милојковић-Опсеница

Изјављујем да је штампана верзија мог докторског рада истоветна електронској верзији коју сам предала ради похрањивања у **Дигиталном репозиторијуму Универзитета у Београду**.

Дозвољавам да се објаве моји лични подаци везани за добијање академског назива доктора наука, као што су име и презиме, година и место рођења и датум одбране рада.

Ови лични подаци могу се објавити на мрежним страницама дигиталне библиотеке, у електронском каталогу и у публикацијама Универзитета у Београду.

У Београду, _____

Потпис аутора

Изјава о коришћењу

Овлашћујем Универзитетску библиотеку „Светозар Марковић“ да у Дигитални репозиторијум Универзитета у Београду унесе моју докторску дисертацију под насловом:

**Фитохемијски профил кртола као показатељ порекла и начина производње
кромпира**

која је моје ауторско дело.

Дисертацију са свим прилозима предала сам у електронском формату погодном за трајно архивирање.

Моју докторску дисертацију похрањену у Дигиталном репозиторијуму Универзитета у Београду и доступну у отвореном приступу могу да користе сви који поштују одредбе садржане у одабраном типу лиценце Креативне заједнице (Creative Commons) за коју сам се одлучила.

1. Ауторство (CC BY)

2. Ауторство – некомерцијално (CC BY-NC)

3. Ауторство – некомерцијално – без прерада (CC BY-NC-ND)

4. Ауторство – некомерцијално – делити под истим условима (CC BY-NC-SA)

5. Ауторство – без прерада (CC BY-ND)

6. Ауторство – делити под истим условима (CC BY-SA)

(Молимо да заокружите само једну од шест понуђених лиценци.

Кратак опис лиценци је саставни део ове изјаве).

У Београду, _____

Потпис аутора
