

# Ukupna antioksidativna aktivnost u soku i listu pšenične trave pri različitim uvjetima skladištenja

---

Šperanda, Katarina

Master's thesis / Diplomski rad

2019

*Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:*

**Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Faculty of Agrobiotechnical Sciences Osijek / Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Fakultet agrobiotehničkih znanosti Osijek**

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:151:271101>

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

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-07-23**



Sveučilište Josipa Jurja  
Strossmayera u Osijeku

**Fakultet  
agrobiotehničkih  
znanosti Osijek**

*Repository / Repozitorij:*

[Repository of the Faculty of Agrobiotechnical  
Sciences Osijek - Repository of the Faculty of  
Agrobiotechnical Sciences Osijek](#)



SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU  
**FAKULTET AGROBIOTEHNIČKIH ZNANOSTI OSIJEK**

Katarina Šperanda

Diplomski studij Biljna proizvodnja

Smjer Bilinogojstvo

**UKUPNA ANTIOKSIDATIVNA AKTIVNOST U SOKU I LISTU PŠENIČNE TRAVE  
PRI RAZLIČITIM UVJETIMA SKLADIŠTENJA**

Diplomski rad

Osijek, 2019.

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU

**FAKULTET AGROBIOTEHNIČKIH ZNANOSTI OSIJEK**

Katarina Šperanda

Diplomski studij Biljna proizvodnja

Smjer Bilinogojstvo

**UKUPNA ANTIOKSIDATIVNA AKTIVNOST U SOKU I LISTU PŠENIČNE TRAVE  
PRI RAZLIČITIM UVJETIMA SKLADIŠTENJA**

Diplomski rad

Povjerenstvo za ocjenu diplomskog rada:

1. Izv.prof.dr.sc. Andrijana Rebekić, predsjednik
2. Izv.prof.dr.sc. Miroslav Lisjak, mentor
3. Prof.dr.sc. Tihana Teklić, član

Osijek, 2019.

## SADRŽAJ

1. UVOD.....	1
1.1. Pšenica .....	1
2.1. Povijest pšenične trave .....	2
3.1. Pšenična trava.....	2
4.1. Sadržaj minerala u pšeničnoj travi .....	4
5.1. Antioksidansi.....	5
6.1. Cilj istraživanja .....	9
2. PREGLED LITERATURE.....	10
3. MATERIJAL I METODE .....	23
3.1. Postavljanje pokusa - uzgoj pšenične trave.....	23
3.2. Skladištenje uzoraka .....	24
3.3. Određivanje ukupne antioksidativne aktivnosti DPPH metodom.....	24
3.4. Analize i obrada podataka.....	25
4. REZULTATI.....	26
5. RASPRAVA .....	34
6. ZAKLJUČAK .....	41
7. LITERATURA.....	42
8. SAŽETAK .....	52
9. SUMMARY .....	53
10. POPIS TABLICA .....	54
11. POPIS SLIKA.....	56
12. POPIS GRAFIKONA .....	57

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

BASIC DOCUMENTATION CARD

# 1. UVOD

## 1.1. Pšenica

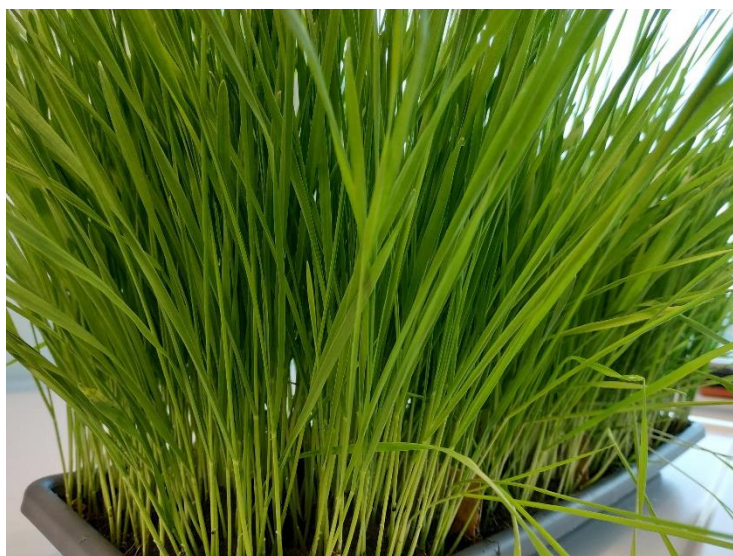
Pšenica (*Triticum aestivum* L.) pripada porodici Poaceae (Tablica 1.), porodica trava. Trava je najosnovniji oblik vegetacije na planeti. Glavne kultivirane trave su žitarice kao što su pšenica, riža, kukuruz, ječam, zob, raž i proso. Pšenica je najznačajniji ratarski usjev i jedna od najrasprostranjenijih žitarica u svijetu, uzgaja se na jednoj trećini poljoprivrednog zemljišta na svijetu. Pšenica je vrlo stara kultura, bila je poznata kao kulturna vrsta još 6 500 godine pr. Kr., o čemu svjedoče nalazi na području današnjeg Iraka (Pospišil, 2010.). Pšenica je bila sastavni dio indijske kulture tisućama godina. Divlji preci suvremene pšenice još uvijek rastu duž Nila. Vrlo je značajna u mlinarstvu, prerađivačko-prehrambenoj industriji, farmaceutskoj industriji i proizvodnji stočne hrane (Pospišil, 2010.). Vlat pšenice je uspravna, cilindričnog oblika, šuplja i sastoji se od 5-6 nodija i internodija. Najbolje se uzgaja u područjima s odgovarajućom razinom oborina i hladnim sezonama (Seibold 2003.). Više od pedeset godina znanstvenici su znali da listovi mlade pšenice sadrže puno više vitamina, minerala i proteina od zrna zrele biljke. Žitarice su prikladna hrana i za životinje jer su izvrstan izvor energije i sadrže razne važne hranjive tvari. Biljke su izvor naših lijekova već tisućama godina. Suvremeni lijekovi su uglavnom sintetičke kopije nutritivnih tvari koje se nalaze u biljkama. Još u istraživanjima iz 1930-ih navodi se kako su mlade žitarice cjelovita hrana.

**Tablica 1.** Sistematika pšenice (Seibold, 2003.).

Sistematika pšenice	
<b>Carstvo</b>	Plantae
<b>Odjeljak</b>	Magnoliophyta
<b>Koljeno</b>	Liliopsida
<b>Red</b>	Poales
<b>Porodica</b>	Poaceae (Gramineae)
<b>Rod</b>	Triticum

## 2.1. Povijest pšenične trave

Charles Schnabel, kemičar iz Kansas Cityja, istraživao je što bi se moglo dodati u hranu za perad kako bi se povećala proizvodnja jaja i smanjila smrtnost pilića. U to vrijeme, 1928. godine, bilo je poznato da klorofil ima strukturu sličnu hemoglobinu. Schnabel (1935.) je prvi put pokušao povećati količinu lucerne u hranidbi pilića, ali su utvrdili da djeluje štetno. Nakon više godina pokušavanja, kokošima je dao zelenu smjesu koja je sadržavala veliku količinu mladih listova pšenice i zobi. To je bio početak istraživanja hranjive vrijednosti pšenične trave.



**Slika 1.** Pšenična trava (*Triticum aestivum* L.)

Izvor: Katarina Šperanda

## 3.1. Pšenična trava

Pšeničnu travu su mnogi ljudi diljem svijeta koristili kao lijek narodne medicine (Slika 1.). Utvrđeno je da daje više energije ljudskom organizmu i pomaže u održavanju zdravlja. Još jedna prednost klorofila je stimulacija i regeneracija jetre, glavnog organa detoksikacije u tijelu. Pšenična trava predstavlja mlade izdanke vrsta roda *Triticum* koji u velikim količinama sadrže klorofil, bioflavonoide, esencijalne aminokiseline, vitamine, minerale i antioksidanse. Zbog svog sastava pšenična trava ima značajan pozitivan utjecaj na detoksikaciju organizma, jačanje imuniteta i cijeli niz akutnih oboljenja. U stadiju elongacije

mladog lista pšenice biljka je visoka oko 17 cm, ali sadrži više hranjivih tvari nego špinat, kelj i drugo zeleno povrće (Slika 2.).

**Figure 1.4 Nutrient Value of Cereal Grass and Other Green Vegetables**

Vegetable	Serving Size	Protein (Grams)	Fiber (Grams)	Carotene (IU of Vit A)	Iron (Mg.)	Calcium (Mg.)
Dehydrated Cereal Grass	2 tsp (5g)	1.11	.82	1157	1.7	14
Spinach (raw, finely chopped)	1/2 cup	.9	.2	2230	0.9	26
Alfalfa Sprouts	1/2 cup	2.6	.85	0	0.7	14
Iceberg Lettuce (finely chopped)	1/2 cup	.35	.18	125	0.2	7.5
Green Beans	1/2 cup	1.1	.55	330	.45	31

*Sources: References 98 and 153*

**Slika 2.** Usporedba hranjive vrijednosti pšenične trave i ostalog zelenog povrća (Seibold, 2003.).

Klorofil, proteini i većina vitamina u pšeničnoj travi dostižu svoj maksimum u razdoblju prije vlatanja, to je ujedno i vrhunac vegetativnog razvoja pšenice. Pšenična trava koja se konzumira kao dodatak prehrani treba se brati pred vlatanje (Seibold, 2003.). Iako se žetva obavlja u istoj fazi, prema Schnabelu (1935.) i drugim autorima, pšenična trava koja je uzgajana u kraćem periodu ima osiromašenu nutritivnu kvalitetu u usporedbi s pšenicom uzgajanom u polju. Bez obzira na način uzgoja pšenična trava ima visoku antioksidativnu aktivnost, visoke koncentracije kloroplasta, pigmente, minerale, vitamine, bioflavonoide i esencijalne aminokiseline. Zbog svog kemijskog sastava pšenična trava ima širok raspon zdravstvenih prednosti (Rebekić i sur., 2019.).

**Tablica 2.** Usporedba pšenične trave i pšenice (Seibold, 2003.).

<b>Usporedba hranjive vrijednosti pšenične trave i pšenice</b>		
<b>100 g suhe tvari</b>		
<b>Hranjiva tvar</b>	<b>Pšenična trava</b>	<b>Pšenično brašno od cjelovitog zrna</b>
<b>Proteini (gm)</b>	32	13
<b>Vlakna (gm)</b>	37	10
<b>Ugljikohidrati (gm)</b>	37	71
<b>Vitamin A (I.U.)</b>	23,136	0
<b>Klorofil (mg)</b>	543	0
<b>Željezo</b>	34	4
<b>Kalcij (mg)</b>	277	41
<b>Vitamin C (mg)</b>	51	0
<b>Folna kiselina (mcg)</b>	100	38
<b>Niacin (mg)</b>	6,1	4,3
<b>Riboflavin (mg)</b>	2,03	0,12

Poznato je da pšenična trava ima izvanredna ljekovita svojstva. Raznim istraživanjima utvrđeno je da pšenična trava sadrži kemijske tvari kao što su vitamin A, B1, 2, 3, 5, 6, 8 i 12, vitamin C, E i K, zatim karoten, sumpor, natrij, bakar, kalcij, fosfor, jod, magnezij, selen, cink, bor i molibden. Također sadrži razne enzime proteazu, amilazu, lipazu, superoksid dismutazu, citokrom oksidazu, transhidrogenazu i drugi. Sadrži i neke druge posebne komponente kao što su asparaginska kiselina, treonin, asparagin, glutamin, prolin, glicin, arginin, alanin, valin, metionin, izoleucin, laucin, tirozin, fenilalanin, lizin, histidin i serin, bioflavonoidi poput apigenina, kvercitina i luteonina (Sharma i sur., 2013.). Provedena su razna istraživanja kako bi se ispitalo djelovanje pšenične trave u određenim bolestima. Chauhan (2014.) i Sharma i sur., (2013.) istraživali su uporabu pšenične trave u terapiji kroničnih bolesti. Također se može koristiti za detoksikaciju organizma, za poboljšanje krvi ili jačanje imuniteta (Polshettiwar i Khorate, 2016.; Rana i sur., 2011.; Singhal i sur., 2012.). Osim toga, pšenična trava je pokazala uspjeh u prevenciji raka (Rana i sur., 2017.; Tandon i Arora, 2011.).

#### **4.1. Sadržaj minerala u pšeničnoj travi**

Minerali su neophodni za pravilno funkcioniranje ljudskog organizma. Ovisno o potrebnoj količini, dijele se na mikro i makro elemente. Preporučeni dnevni unos različitih minerala razlikuje se u odnosu na spol, dob i zdravstveno stanje.



## 5.1. Antioksidansi

Antioksidansi su molekule koje mogu inhibirati oksidaciju drugih molekula. Vrste reaktivnog kisika kao što su hidroksilni radikali, superoksidni anion, vodikov peroksid, utječu na žive stanice, ti radikali su odgovorni za mnoge kronične bolesti kod ljudi kao što su ateroskleroza, Parkinsonova bolest, moždani udar, Alzheimerova bolest, artritis, kronična upala, rak i druga degenerativna oboljenja (Seal i sur., 2014.). Antioksidansi su tvari koje štite hranu od kvarenja. Prirodni antioksidansi su vitamin C i E, karotenoidi, flavonoidi, antocijanini, betanini te polifenolni spojevi koji su široko rasprostranjeni u biljnom svijetu. Posjeduju više aromatskih skupina –OH. Nalaze se u povrću, voću, biljnim plodovima, maslinovom ulju, čaju i crvenom vinu. Funkcija antioksidanasa je da reagiraju sa slobodnim radikalima brže nego što slobodni radikali reagiraju sa supstratom. Slobodni radikal je atom ili molekula koja ima nespareni elektron u vanjskoj ljusci što ih čini vrlo reaktivnim (Matić, 2015.). Hranom biljnog podrijetla kao što su voće, povrće, čaj, crveno vino i med, unosimo u organizam antioksidanse te poboljšavamo obranu razornog djelovanja slobodnih radikala. Antioksidansi često djeluju kao tvari koje štite od nastanka raka. Vitamin E neutralizira štetne peroksidne radikale koji uzrokuju starenje i degenerativne oksidativne promjene na stanicama. Vitamin E zajedno s vitaminom C djeluje u zaštiti krvnih žila i drugih tkiva od oksidacije (Amić, 2008.). Antioksidansi su tvari koje neutraliziraju štetne učinke reaktivnih vrsta kisika (ROS) i reaktivne dušikove jedinice (RNS) (Knez, 2014.). S godinama tijelo proizvodi manje prirodnih antioksidanasa koji neutraliziraju djelovanje slobodnih radikala. Kada se ROS i RNS nagomilaju, oksidativni procesi i štete nastale njihovim djelovanjem glavni su razlozi ubrzanog starenja i narušenog zdravlja (Knez, 2014.). Pšenična trava sadrži antioksidacijske enzime (superoksid dismutaza i citokrom oksidaza) koji imaju potencijal pretvoriti reaktivne vrste kisika (ROS) u vodikov peroksid i molekulu kisika. U normalnom fiziološkom stanju u organizmu se održava ravnoteža između oksidanasa i antioksidativne obrane organizma (Knez, 2014.). Antioksidacijska aktivnost pšenične trave mijenja se tijekom rasta izdanka, a maksimalni antioksidativni potencijal postiže se nakon sedam dana rasta biljaka (Chauhan, 2014.). Uvjeti uzgoja pšenične trave, temperatura, svjetlo, način pripreme i skladištenja, kao i trajanje skladištenja utječe na antioksidacijsku aktivnost i sadržaj klorofila u soku pšenične trave (Skoczylas i sur., 2018.). Nedavna istraživanja pokazala su da pšenična trava sadrži velike količine klorofila (Sharma i sur., 2013.). Zbog

sličnosti s hemoglobinom u kemijskoj strukturi, klorofil je pokazao uspjeh u liječenju anemije (Ogutu, 2017.) Osim toga pšenična trava ima zaštitnu ulogu (Chauhan, 2014.), smanjuje rizik od raka dojke, raka jetre, debelog crijeva, želuca i gastrointestinalnog trakta (Singh i sur., 2012.). Antioksidativno djelovanje biljnih materijala ovisi o prirodi otapala koja se koriste za ekstrakciju aktivnih sastojaka i korištenih biljnih dijelova. Tijekom ekstrakcije biljnog materijala vrlo je važno odabrati odgovarajuća otapala i dijelove biljke da bi se minimalizirale smetnje od spojeva koji mogu koekstrahirati s kemikalijama i da bi se izbjegla onečišćenja ekstrakta. Otapala koja se koriste za ekstrakciju antioksidativnih spojeva su metanol, etanol, aceton, kloroform i etil acetat. U studiji koju su objavili Seal i sur., (2014.), utvrđeno je da se maksimalna količina fenolnih spojeva iz brašna ječma ekstrahira korištenjem smjese otapala etanola i acetona. Druga istraživanja navode da je metanol učinkovitije otapalo za ekstrakciju fenolnih spojeva iz riže.

Fitokemikalije kao što su flavonoidi i fenolne kiseline, koje se obično nalaze u biljkama, pokazuju više bioloških učinaka uključujući i antioksidativnu aktivnost. Ljekovito bilje može biti potencijalni izvor prirodnih antioksidanata (Seal i sur., 2014.).

Fenolni spojevi su sekundarni metaboliti, široko rasprostranjeni u biljkama. Važne su komponente mnogih voća i povrća zbog velikog utjecaja senzorne osobine ploda (boje, okusa), ali i zbog njihovog antioksidativnog, antikancerogenog, antialergijskog djelovanja (Cao i Cao, 1999.; Eberhardt i sur., 2000.; Joshipura i sur., 2001.; Juranic i sur., 2005.; Duthie, 2007.; Alesiani i sur., 2010.).

Flavonoidi su biljni pigmenti koji djeluju kao antioksidansi peroksidnih i hidroksilnih radikala. Flavonoidi pridonose detoksikaciji enzima u jetri (Knez, 2014.). Flavonoidi čine najproučavaniju skupinu polifenola. Većina flavonoida je odgovorna za privlačne boje cvijeća, lišća i voća (Stojevski, 2014.). Flavonoidi se dijele na šest podskupina a to su: flavonoli, flavoni, flavononi, flavanoli, antocijani i izoflavoni (Pandey i sur., 2009.; Manach i sur., 2004.). Antocijanini se nalaze u crnom voću kao što su borovnice, crni ribizl, crno grožđe i crnom vinu, flavonoli u crvenom kupusu, kelju i brokuli; flavoni u peršinu i celeru; flavanoni u soku citrusnog voća; izoflavoni u sojinom brašnu i sjemenkama; flavanoli u čokoladi, grahu i breskvama (Manach i sur., 2004.).

Karotenoidi predstavljaju skupinu žutih, crvenih i narančastih pigmenata. U prirodi se nalaze u plodovima, listovima, cvjetovima. Djeluju kao antioksidansi i mogu spriječiti kronične bolesti. Miješanje karotenoida s vitaminom E može povećati njihovo djelovanje pri uklanjanju viška slobodnih radikala (Knez, 2014.).

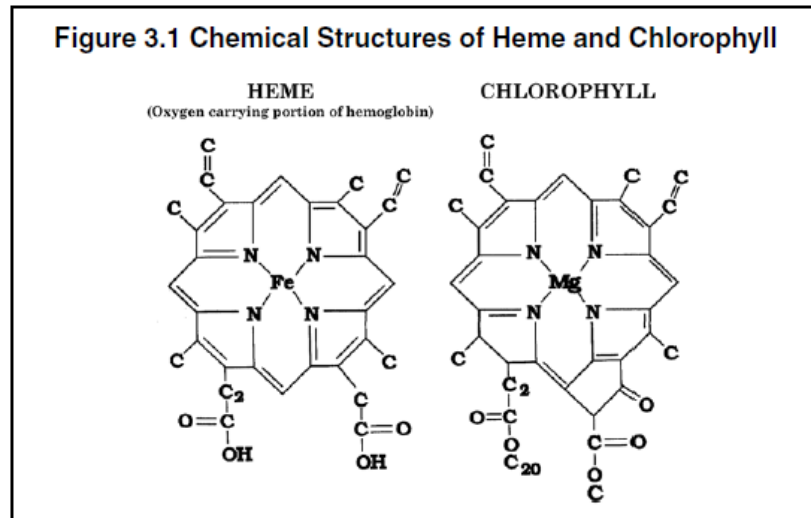
Vitamin C ili askorbinska kiselina je uključen u mnoge biološke i biokemijske procese. Nalazi se u voću i povrću. Pruža pomoć pri obrani od malignih tumora i bolesti krvožilnog sustava te ublažava simptome prehlade.

Vitamin E pojavljuje se u više oblika. To je jedan od najvažnijih vitamina topljivih u mastima.

Pšenična trava sadrži mnogo vitamina, minerala, enzima, aminokiselina, antioksidanata. Osobito je bogata kalcijem, magnezijem, manganom, fosforom, kalijem, cinkom i selenom. Sok od pšenične trave je dobar za imunološki sustav, stimulaciju hormona rasta, djeluje kao snažan antioksidans, dobar je za prevenciju kožnih bolesti, protiv starenja i dr. (Meyerowitz, 1999.). Utvrđeno je da pšenična trava sadrži veću količinu klorofila koji djeluje kao antioksidans. Također je pronađen selen s istim djelovanjem. Pšenična trava sadrži antioksidativni enzim superoksid dismutazu koji pretvara opasne slobodne radikale kisika u vodikov peroksid.

Klorofil je najrasprostranjeniji biljni pigment, daje biljkama zelenu boju. Nalazi se u kloroplastima zelenih biljaka. Može biti u dva oblika: klorofil a je pigment tamnozeleno boje, a klorofil b žutozeleno nijanse (Amić, 2008.). Klorofil je cijenjen još od biblijskih vremena. Molekula klorofila ima jedinstvenu sposobnost pretvoriti energiju sunca u kemijsku energiju pomoću fotosinteze. Ipak klorofil nije toliko jedinstven po svom kemijskom sastavu. Izgrađen je od porfirinskog prstena koji se pojavljuje u drugim različitim organskim molekulama (Slika 3.). Najzanimljivija skupina molekula koja sadrži porfirinske prstenove su oni koji su uključeni u stanično disanje, transport i potrošnju kisika. Hemoglobin je supstanca koja se nalazi u krvi ljudi, a uloga mu je prenošenje kisika iz pluća u druga tkiva i stanice. Najuočljivija razlika među njima je što se u središtu porfirinskog prstena hemoglobina nalazi željezo (Fe), a oko porfirinskog prstena klorofila magnezij (Mg). Postoje istraživanja da namirnice bogate klorofilima, kao što je pšenična trava, pomažu izgraditi krv. Elementi potrebni za održavanje zdrave krvi uključuju željezo, bakar, kalcij,

vitamine C, B12, K, A i folnu kiselinu. Komponente koje grade i održavaju bitne elemente u krvi također se nalaze u hrani koja je bogata klorofilom (Seibold, 2003.).



**Slika 3.** Kemijska struktura hemoglobina i klorofila (Seibold, 2003.).

## 6.1. Cilj istraživanja

1. Utvrditi postoje li značajne razlike u ukupnoj antioksidativnoj aktivnosti koristeći DPPH metodu s obzirom na dužinu trajanja i temperature prilikom skladištenja uzoraka soka pšenične trave odnosno tkiva lista.
2. Utvrditi pri kojim uvjetima skladištenja tkiva ili soka pšenične trave su najmanji gubici prethodno navedenog parametra u usporedbi sa svježim tkivom ili sokom pšenične trave.

Osnovna hipoteza istraživanja je bila utvrditi i usporediti razlike u ukupnoj antioksidativnoj aktivnosti s obzirom na dužinu trajanja i temperature prilikom skladištenja uzoraka soka odnosno tkiva lista pšenične trave. Cilj provedenog pokusa je utvrditi pri kojim uvjetima skladištenja tkiva i soka pšenične trave su najmanji gubici ukupne antioksidativne vrijednosti u usporedbi sa svježim tkivom i sokom pšenične trave.

## 2. PREGLED LITERATURE

Nekoliko različitih metoda je dostupno i korišteno za procjenu ukupnog iznosa antioksidanasa kao što su 2,2-azinobis, test diamonijeve soli (Cai i sur., 2004.), test 1,1-difenil-2-pikrilhidrazila (DPPH) (Jadhav i Bhutani, 2002.), kapacitet apsorpcije radikala kisika (Cao i sur., 1993.), redukcija željeza antioksidacijske snage (Benzie i Strain, 1996.). Schlesier i sur. (2002.) preporučuju uporabu najmanje dvije metode za procjenu ukupne antioksidacijske sposobnosti biljnih ekstrakata.

Iyad i sur. (2017.) su istraživali utjecaj uvjeta obrade i skladištenja na slobodne radikale kod voćnih sokova. Koristili su sokove naranče (*Citrus sinensis* L. Osbeck), limuna (*Citrus limon* L. Osbeck), mandarine (*Citrus reticulate* Blanco), grejpa (*Citrus paradise* Macfad), rajčice (*Solanum lycopersicum* L.) i guave (*Psidium guajava* L.). Svježe voće je temeljito oprano, oguljeno, narezano na sitnije komade (rajčica i guava nisu oguljeni). Aktivnost slobodnih radikala u voćnim sokovima izmjerena je DPPH metodom. Različite vrste voćnih sokova pokazale su drugačije vrijednosti. Aktivnost vezanja slobodnih radikala bila je stabilna pri inkubaciji na 4 °C tijekom četiri dana. Najveću aktivnost sakupljanja radikala pokazao je sok od limuna, zatim sok od naranče, grejpa, mandarine, rajčice i guave. Kada su svježi sokovi inkubirani pod sunčevim svjetlom tijekom četiri dana, sok od naranče je zadržao aktivnost sakupljanja (eng. „*scavenging activity*“). Sok od limuna, mandarine i grejpa izgubili su više od 70 % svoje antioksidacijske sposobnosti, dok su sokovi od rajčice izgubili više od 50 %. Inkubacija sokova u vrućoj vodi tijekom 60 minuta nije uzrokovala znatne gubitke. Svi sokovi su zadržali svoju antioksidacijsku aktivnost. Zaključili su da sunčeva svjetlost može razgraditi mnoge hranjive tvari uključujući antioksidanse. Iako ni vrući ni uvjeti smrzavanja nisu utjecali značajno na antioksidativni kapacitet kod različitih sokova. Limun, naranča, mandarina i grejp posjeduju najveću antioksidativnu aktivnost te se zbog toga smatraju važnim prehrambenim izvorima prirodnih antioksidanasa za prevenciju bolesti uzrokovanih oksidativnim stresom.

Huang i sur. (2012.) su istraživali ukupni antioksidativni kapacitet i fenolni sastav u bobičastom voću, borovnici, kupini i jagodi. Borovnica je pokazala najjači ukupni antioksidacijski kapacitet. Koristili su 2,2-azinobis, diamonij soli i DPPH metodu. Borovnica je imala najveći sadržaj ukupnih fenola i ukupni sadržaj antocijanidina. Preliminarna analiza pokazala je da uzorci borovnice, kupine i jagode sadrže niz fenolnih kiselina, a to su galna kiselina, protokatekuična

kiselina, p-hidroksibenzojeva kiselina, vanilinska, kofeinska, p-kumarinska kiselina, ferulična, elaginska i cimetna kiselina te razne vrste flavonoida (luteolin, rutin, kvercetin, galokatehin, epigalokatehin, katehin, cijanidin i dr.).

Kardas i Durucasu (2014.) su proučavali sadržaj fenola i antioksidativni kapacitet pšenične trave na sorti turski *Amber durum*. Svi uzorci su uzgajani u istim i zatim sušeni na zraku, bez sunčeve svjetlosti i stavljeni u inkubator na 50 °C preko noći. Uzorci su podijeljeni na različito vrijeme klijanja (15, 30 i 40 dana). Sušena i mljevena pšenična trava je ekstrahirana s etil acetatom i uspoređena s njihovim antioksidativnim kapacitetom koristeći DPPH metodu. Istovremeno je određen i ukupni sadržaj fenola. Glavni fenoli, identificirani u pšeničnoj travi sastoje se od ferulične kiseline, galne kiseline, kofeinske kiseline, elaginska kiselina i dr. Najveća antioksidativna i antiradikalna aktivnost je utvrđena u pšenici nakon 15 dana od stavljanja na naklijavanje. Ovo istraživanje dokazuje važnost pšenične trave zbog njezine visoke antioksidativne aktivnosti. Konzumacija pšenične trave ima pozitivan učinak na ljudsko zdravlje, smanjuje rizik od koronarnih bolesti srca, određene vrste raka i moždanog udara.

Kalt i sur. (2005.) su proveli istraživanje o utjecaju proizvodnih i procesnih čimbenika na glavni antioksidans voća i povrća. Prerada može promijeniti i često oštetiti antioksidanse kod voća i povrća. Maceracija, grijanje i različiti koraci odvajanja mogu dovesti do oksidacije, termičke razgradnje i ispiranja što dovodi do nižih razina antioksidanata u obrađenoj hrani u usporedbi sa svježom hranom. To je posebno vidljivo u slučaju vitamina C i fenola. Međutim u slučaju karotenoida prerada može povoljno utjecati na razinu karotenoidnih antioksidanata i poboljšati digestivnu apsorpciju (Shi i Le Maguer, 2000.). Nakon blanširanja i zamrzavanja, gubitak sadržaja  $\beta$ -karotena dogodio se između 6 i 12 mjeseci skladištenja u zamrzivaču. Za određivanje komponenti biljnog materijala važno je odrediti položaj komponenti unutar biljnog materijala kao na primjer treba li odvojiti sjemenke i tkivo od ostalih komponenti prilikom prerade, u proizvodnji soka i vina (Waterhouse i Walzem, 1998.). To može smanjiti razinu određenih antioksidativnih komponenti iz prerađenih prehrambenih proizvoda (Skrede i sur., 2000.). U istraživanju komercijalno dostupnog špinata, graška, graha i mrkve najviša antioksidativna aktivnost pronađena je u svježim proizvodima u usporedbi sa smrznutim. Dok između konzerviranog i proizvoda u staklenki nije bilo značajne razlike (Hunter i Fletcher, 2002.). Askorbinska kiselina nakon blanširanja i skladištenja bila je puno stabilnija u brokuli nego u

zelenom grahu koji je izgubio oko 50 % sadržaja askorbinske kiseline (Howard i sur., 1999.). Kada je svježi špinat kuhan u vodi, oko 60 % vitamina C je bilo u vodi za kuhanje a tek 40 % u kuhanom tkivu (Gil i sur., 1999.). U usporedbi s drugim antioksidansima, likopen je relativno stabilan. Može se izgubiti djelovanjem topline i oksidacije. Lako se razgrađuje izlaganjem na zraku, posebno u prisutnosti bakra. Zadržavanje likopena može se poboljšati skladištenjem na niskoj temperaturi, slabom svjetlu i niskom sadržaju vode (Shi i Le Maguer, 2000.). Fenolni antioksidansi podliježu razgradnji tijekom obrade. Nakon blanširanja i dugotrajnog smrzavanja gubitak fenola kretao se oko 20 do 30 % (Puupponen-Primia i sur., 2003.). Nakon kuhanja svježeg špinata u vodi, približno polovica sadržaja flavonoida se gubi, dok druga polovica ostaje u kuhanom tkivu (Gil i sur., 1999.).

**Table 3—Summary of some production and processing effects on fruit and vegetable antioxidants**

<b>Factor</b>	<b>Ranking</b>
Influence of genotype	Vitamin C = carotenoids = phenolics
Influence of preharvest environmental factors	Phenolics > Vitamin C > carotenoids
Losses during fresh storage	Vitamin C >> carotenoids >> phenolics
Increases during fresh storage	Carotenoids, phenolics
Losses during processing	Vitamin C > phenolics > > carotenoids

**Slika 4.** Gubitak antioksidanasa tijekom različitih uvjeta obrade (Kalt i sur., 2005.).

Nicoli i sur. (1999.) su istraživali utjecaj obrade na antioksidativna svojstva voća i povrća. Otkrili su da se bioraspoloživost karotena povećava kao posljedica umjerenog zagrijavanja. Također blanširanje sprječava enzimatsku oksidaciju, koja je glavni uzrok gubitka prirodnih antioksidansa u biljnim dijelovima. Blanširanje zadržava većinu izvornih antioksidativnih svojstava.

Van der Sluis i sur. (2001.) su istraživali aktivnost i koncentraciju polifenolnih antioksidanata u jabukama, utjecaj sorte, godine berbe i uvjeti skladištenja. U istraživanju su se koristile četiri sorte jabuka, Jonagold, Golden Delicious, Cox's orange i Elstar. Nakon odabira sorte jabuke s najvišom antioksidacijskom aktivnosti proizvođač mora paziti da što više aktivnih spojeva



ostane u proizvodu. Istraživanje je pokazalo da skladištenje jabuka u hladnjačama nema velikog utjecaja na gubitak antioksidanasa.

Miletić i sur. (2012.) su istraživali sadržaj fenola i antioksidativni učinak plodova šljive Stanley (*Prunus domestica* L.) pod utjecajem stupnja zrelosti i sazrijevanja stabla. Analizirali su plodove šljive tijekom tri uzastopne godine berbe. Svježe voće skupljano je pet puta godišnje. Zrenje ploda povezano je s važnim biokemijskim promjenama kao što su promjena boje, teksture, okusa i druge osobine. Sadržaj antocijana se značajno mijenja tijekom zrenja. Koncentracije antocijana su bile više u plodovima uzastopnih datuma berbi, što znači da je akumulacija antocijana konstantna tijekom razvoja voća i zrenja. Rezultati upućuju na to da se akumulacija antocijana stalno odvija tijekom razvoja ploda i zrenja. Najviše koncentracije antocijanina i fenola zabilježene su u plodovima šljiva prikupljenim 2009. godine, zbog povoljnih vremenskih uvjeta. Antioksidativni kapacitet također jako ovisi o stadiju zrelosti te je obrnuto proporcionalan sadržaju ukupnih fenola. Koncentracije fenolne kiseline tijekom zrenja se smanjuju, dok se koncentracije flavonoida povećavaju (Macheix i sur., 1990.; Manach i sur., 2004.). Najniži antioksidativni kapacitet zabilježen je kod šljiva ubranih 2009. godine.

Kulkarni i sur. (2006.) su istraživali procjenu antioksidacijske aktivnosti pšenične trave pod različitim uvjetima uzgoja. Korišteni su ekstrakti pšenične trave koji su uzgajani u različitim uvjetima tijekom 6, 7, 8, 10 i 15 dana. Za rast su korišteni različiti uvjeti, voda iz slavine, voda iz slavine s hranjivim tvarima, tlo i voda iz slavine, te tlo s hranjivim tvarima. Otkriveno je da etanolni ekstrakti imaju veći fenolni i flavonoidni sadržaj u odnosu na vodeni ekstrakt. U vodenim ekstraktima nije primijećena specifična razlika DPPH testa za različite uvjete niti za razdoblje rasta. Ekstrakti etanolom općenito su pokazali veći DPPH kapacitet neutralizacije od vodenih ekstrakata. Istraživanje je pokazalo da ekstrakti sadrže značajne količine fenolnih spojeva uključujući flavonoide. Rezultati su u skladu s istraživanjem Yang i sur., (2001.) koji su zaključili da pšenica postigne svoj maksimalni antioksidativni potencijal nakon 7 dana rasta biljke.

Pulido i sur. (2000.) su istraživali antioksidativnu aktivnost prehrambenih polifenola određenih modificiranim smanjenjem željeza. Razvijene su razne metode za mjerenje učinkovitosti prehrambenih antioksidansa bilo kao čisti spojevi ili u ekstraktima hrane. Ove metode se baziraju na različitim mehanizmima obrambenih sustava antioksidansa odnosno na uklanjanje

kisikovih i hidroksilnih radikala. Aktivnost antioksidanata polifenola po prvi put je određena korištenjem modificiranog FRAP (eng. *ferric-reducing antioxidant power*) testa. Reakcija je praćena tijekom 30 minuta, Fe standardi i uzorci bili su otopljeni u istom otapalu da se omogući usporedba. Odabrani reprezentativni polifenoli uključuju flavonoide (kvercetin, rutin i katehin), taninsku kiselinu, fenolne kiseline. Za usporedbu su korišteni karotenoidi, askorbinska kiselina i Trolox. Koncentracije polifenola imale su niže vrijednosti ekvivalentne koncentracije, te veću reducirajuću snagu od askorbinske kiseline i Troloxa. Taninska kiselina i kvercetin imali su najveću antioksidativnu aktivnost. Karotenoidi nisu imali sposobnost smanjenja željeza. Što pokazuje da antioksidativna učinkovitost polifenola ovisi o hidroksilaciji i konjugaciji.

Netzel i sur. (2002.) su istraživali in vivo antioksidativni kapacitet u soku od bobica. Sok je bogat antioksidansima, a sastoji se od različitog voća: 30 % bijelog grožđa, 25 % crnog ribiza, 15 % borovnice, 10 % višnjje, 10 % kupine i 10 % soka od aronije. Šest zdravih dobrovoljaca je testiralo antioksidativni kapacitet konzumiranjem soka. Nakon unosa 400 ml antioksidacijskog soka, srednja vrijednost antioksidativnog kapaciteta plazmatskih volontera je značajno porastao tijekom iduća 2 sata te se nakon 6 sati vratio na početnu vrijednost. Rezultati pokazuju da konzumacija jedne doze od 400 ml antioksidacijskog soka inducira porast antioksidativnih sposobnosti u plazmi i značajno smanjenje plazme in vivo. Nakon konzumacije soka vrijedni sastojci kao što su askorbinska kiselina i antocijani su dostupni za volontere i aktivni su kao antioksidansi in vivo.

Velioglu i sur. (1998.) su istraživali antioksidativnu aktivnost i ukupne fenole u odabranom voću, povrću i proizvodima od žitarica. U istraživanju se koristilo sjeme suncokreta, laneno sjeme, pšenične klice, heljda, nekoliko voća, povrća i ljekovitog bilja. Ukupni fenolni sadržaj određen je postupkom Folin-Ciocalteu (1927.). Koeficijent korelacije između ukupnih fenolnih i antioksidativnih aktivnosti bio je statistički značajan. Sjeme suncokreta, krumpir i pšenične klice su pokazali visoku antioksidacijsku aktivnost, svi ti uzorci su također sadržavali visoke razine fenolnih spojeva. Općenito uzorci koji su bogati antocijaninom su sadržavali visoku vrijednost fenola. Rezultati potvrđuju da antocijani posjeduju snažnu antioksidativnu aktivnost (Wang i sur., 1997.; Tsuda i sur., 1994. a, b). Antocijanini su velika skupina fenolnih spojeva u prehrani ljudi, a njihovo snažno antioksidacijsko djelovanje ukazuje na važnost u održavanju zdravlja. Ljekovite biljke su također pokazale vrlo jaku antioksidativnu aktivnost. Rezultati

pokazuju da svi biljni materijali uključeni u statističku analizu imaju pozitivni i vrlo značajan odnos ukupnih fenolnih kiselina i antioksidativne aktivnosti. Statistički značajni odnosi također su uočeni između ukupnih fenolnih kiselina i antioksidativne aktivnosti proizvoda od lanenog sjemena i proizvoda od žitarica. Odnos između fenolnih i antioksidacijskih djelovanja za materijale bogate antocijaninom i za ljekovite biljke nisu bile značajne. Borovnice, trešnje, ljuske crvenog luka, ljubičasti krumpir i suncokret su pokazali visoko antioksidativno djelovanje unatoč vrlo različitom sadržaju od ukupnih fenola. Sastav fenola u ljusci crvenog luka, prvenstveno flavonoidi (Donner i sur., 1996.), vrlo se razlikuju od fenola borovnice koje su antocijanini (Gao i sur., 1995.).

Brand-Williams i sur. (1995.) su istraživali primjenu DPPH metode za procjenu antioksidativne aktivnosti. Pločaste antiradikalne aktivnosti različitih antioksidanata određene su slobodnim radikalom, DPPH. U svom radikalnom obliku DPPH ima apsorpcijski pojas na 515 nm koji nestaje nakon redukcije antiradikalnim spojem. Askorbinska kiselina, izoaskorbinska kiselina i izoeugenol su brzo reagirali s DPPH dostižući stabilno stanje odmah. Oksidacija lipida u hrani odgovorna je za nastanak neugodnih aroma i nepoželjnih kemijskih spojeva koji mogu štetno djelovati na zdravlje. Antioksidansi se koriste u prehrambenoj industriji da odgode proces oksidacije. Upotreba DPPH metode pruža jednostavan i brz način za procjenu antiradikalnih aktivnosti antioksidanata, ali treba biti oprezan pri korištenju metode i interpretaciji podataka. Određeni spojevi vrlo brzo reagiraju s DPPH smanjujući broj molekula koje odgovaraju dostupnim hidroksilnim skupinama.

Jimenez-Escrig i sur. (2001.) su istraživali djelovanje svježih i prerađenih jestivih morskih algi. Morske alge se koriste u azijskoj prehrani dugi niz godina te su nedovoljno iskorišten resurs. Alge su izložene kombinaciji svjetla i kisika što dovodi do formiranja slobodnih radikala i drugih jakih oksidanata. Međutim nedostatak oksidativnih oštećenja u strukturnim komponentama morskih algi i njihova stabilnost na oksidaciju tijekom skladištenja sugeriraju da njihove stanice imaju zaštitne antioksidacijske obrambene sustave. Antioksidacijsko djelovanje određivano je pomoću tri metode, a to su DPPH, FRAP i inhibicija bakrom in vivo (LDL). Od ispitivanih morskih algi, *Fucus* je pokazao najveću antioksidativnu aktivnost u dvije korištene metode. Ispitivanja su rađena na vrstama *Fucus*, *Laminaria*, *Undaria*, *Porphyra* i *Chondrus*. DPPH i FRAP vrijednosti su jednake u ukupnom polifenolnom sadržaju. U skladu s

prijašnjim istraživanjima, kapacitet smeđih morskih algi, prema DPPH, bio je bolji od skupine crvenih algi. Antioksidacijska aktivnost i sadržaj fenolnih spojeva smanjio se preradom i skladištenjem u ispitivanoj morskoj algi. Morske alge su sušene na 50 °C tijekom 48 sati i skladištene na sobnoj temperaturi. Na hranjivu vrijednost prerađenih morskih algi nije bilo utjecaja, ali postupak sušenja i skladištenja imaju štetan utjecaj na sadržaj bioaktivnih spojeva. Smeđe alge su pokazale bolju sposobnost čišćenja od crvenih algi. *Fucus* je vrsta koja je pokazala najveću antioksidacijsku aktivnost. Postoji statistički značajna povezanost između aktivnosti uklanjanja radikala i ukupnog sadržaja polifenola. Komercijalne morske alge pokazale su niži antioksidativni kapacitet u odnosu na svježije morske alge, što pokazuje da obrada i skladištenje mogu smanjiti antioksidativni kapacitet.

Cao i sur. (1996.) su istraživali antioksidativni kapacitet u čaju i povrću. Na temelju svježije mase povrća, češnjak je imao najveću antioksidacijsku aktivnost, zatim slijedi kelj, špinat, klice lucerne, cvjetovi brokule, repa, crvena paprika, luk, kukuruz, patlidžan, cvjetača, krumpir, kupus, list zelene salate, grah, mrkva, celer i krastavac. Kelj je imao najveću antioksidacijsku aktivnost prema hidroksilnim radikalima, dok su crni čajevi imali veće antioksidacijske aktivnosti prema peroksidnim radikalima. Utvrđeno je da češnjak ima najveću antioksidacijsku aktivnost protiv peroksidnih radikala, dok je kelj imao najveće djelovanje prema hidroksilnim radikalima. Zeleni i crni čajevi su imali veću antioksidativnu aktivnost prema peroksidnim radikalima od testiranog povrća. Međutim, čaj je pokazao prooksidantno djelovanje u prisutnosti  $\text{Cu}^{2+}$  što je također antioksidans. Ta prooksidacijska aktivnost nije pronađena u analiziranom povrću. Što dovodi do zaključka da je potrebno imati uravnoteženu prehranu koja sadrži dovoljno voća i povrća kako bi zaštili tijelo od raznih oksidativnih djelovanja.

Pietta i sur. (1998.) su istraživali antioksidativno djelovanje odabranih ljekovitih biljaka. Ispitivani su najčešće korišteni ljekoviti biljni ekstrakti sa standardiziranim sadržajem polifenola. Zeleni čaj, borovnica i ginko su pokazali vrijednu antioksidacijsku sposobnost. Dok su se lješnjak, propolis, artičoka i glog pokazali neučinkoviti. Vrijednosti prikazane u ovom radu trebaju biti u kombinaciji s in vivo podacima kako bi se pravilno procijenila antioksidativna učinkovitost ljekovitih biljaka.

Benzie i sur. (1999.) su istraživali ukupni antioksidativni kapacitet čajeva pomoću redukcije željeza i analize antioksidansa. Čaj (*Camellia sinensis*) je često konzumirano piće diljem svijeta

te je važan poljoprivredni proizvod (Balentine, 1992.). Čaj sadrži velike količine polifenola s antioksidacijskim svojstvima, a oni sprječavaju oksidativna oštećenja DNA (Zhao i sur., 1989.; Scott i sur., 1993.; Cook i sur., 1996.). Kemijske promjene poput oksidacijskog oštećenja i peroksidacije povezane su s mutagenezom, povećanim rizikom od raka (Emerit, 1994.; Halliwell, 1996.), te na kardiovaskularne bolesti (Maxwell i sur., 1997.). Za određivanje ukupnih antioksidansa korišten je FRAP test i svježe pripremljene vrste čajeva. Rezultati su pokazali da su čajevi imali širok raspon antioksidacijske snage te da je antioksidacijska sposobnost čvrsto povezana s ukupnim sadržajem fenolnih čajeva. Jedna šalica čaja od uobičajene snage (1-2 %) može pružiti isti potencijal za poboljšanje antioksidacijskog statusa kao i 150 mg čiste askorbinske kiseline (vitamin C). Vitamin C je antioksidans utvrđene važnosti. Redoviti unos čaja može poboljšati antioksidativni status in vivo te smanjuje rizik od određenih vrsta karcinoma i koronarnih srčanih bolesti (Stensvold i sur., 1992.; Weisburger, 1996.). Istraživanje je potvrdilo da je snaga antioksidanata zelenog čaja znatno veća od crnog čaja. Dosadašnja istraživanja pokazala su da antioksidanti čaja sadrže veći broj fenolnih hidoksila te da imaju veću antioksidacijsku snagu (Wiseman i sur., 1997.). Također antioksidansi u čaju su stabilni najmanje 48 h, čuvani na 4 °C. Ukupna snaga antioksidanasa je u korelaciji s ukupnom količinom fenola čajeva svih vrsta. Potrebno je daljnje istraživanje o apsorpciji i učinku antioksidansa iz čaja na antioksidativni status kako bi se procijenio njihov potencijal u korist održavanja zdravlja ljudi.

Kahkonen i sur. (1999.) su istraživali antioksidativno djelovanje biljnih ekstrakata koji sadrže fenolne spojeve. Sirovi ekstrakti voća, ljekovitog bilja, povrća, žitarica i drugi biljni materijali bogati fenolima su sve zanimljiviji u prehrambenoj industriji jer usporavaju oksidacijsku razgradnju lipida te tako poboljšavaju kvalitetu i prehrambenu vrijednost hrane. Određen je sadržaj ukupnih fenola u ekstraktima spektrometrijski prema Folin-Ciocalteu. Od ispitivanih ekstrakata izvanredno visoko antioksidativno djelovanje i visok ukupni fenolni sadržaj nađen je u bobicama, posebno u aroniji. Dok su jabučni ekstrakti pokazali snažnu antioksidacijsku aktivnost, a nizak ukupni fenolni sadržaj. Snažno obojene bobice su bogate antocijaninima (Macheix i sur., 1990.). Prema Hakkinen i sur. (1998.), kupina, borovnica i brusnica su bogati kvercetinom, dok jagoda i malina imaju posebno visok sadržaj elaginske kiseline. Uz to, borovnice su posebno bogate derivatima hidrokisicinaminske kiseline, za koju se pokazalo da ima antioksidacijsko djelovanje (Chen i sur., 1997.; Meyer i sur., 1998.).

Akbas i sur. (2017.) su istraživali sok od pšenične trave i prah pšenične trave, inkapsulaciju, fizičku i kemijsku karakterizaciju. Sok od pšenične trave je poznat kao zdravo piće zbog visokog antioksidacijskog djelovanja, sadržaja vitamina A, C i E te minerala poput željeza, kalcija, magnezija (Aydos i sur., 2011.; Hanninen i sur., 1999.). Kako bi se spriječili nepoželjni mirisi i zaštitili funkcionalni spojevi, sok od pšenične trave bio je inkapsuliran korištenjem maltodekstrina i proteina surutke. Sadržaj antioksidansa i fenola, prosječna veličina i distribucija čestica, morfologija, probava i eksperimenti toplinske stabilnosti provedeni su na kapsuliranom prašku. Rezultati su pokazali dobru stabilnost želučanog soka te su imali 62 % veći fenolni sadržaj u usporedbi s crijevnom tekućinom u roku od 10 minuta probave. Fenolni sadržaj praha je zaštićen od termičke obrade na 40 °C, 55 °C i 70 °C. Sadržaj vlage je jedan od najvažnijih atributa koji može utjecati na rok trajanja prehrambenih proizvoda, posebno onih osušenih. Nakon sušenja smrzavanjem inkapsulirani praškovi od pšenične trave odmah su zapečaćene kako bi se spriječilo unošenje vlage. Nekoliko istraživanja je dokazalo da na antioksidativno djelovanje pšenične trave utječu različiti uvjeti sadnje, razdoblje berbe i vrsta pšenice (Aydos i sur., 2011.). Dobiveni rezultati pokusa potvrđuju da inkapsulacija može zaštititi visoki udio fenola i antioksidativno djelovanje. Ispitane su ukupne promjene sadržaja fenola na različitim temperaturama. Sveukupno, sugerirano je kako se prah od pšenične trave može koristiti kao funkcionalni sastojak hrane zbog svog visokog antioksidacijskog djelovanja i sadržaja fenola.

Parit i sur. (2018.) su istraživali hranjivu kvalitetu i antioksidativno djelovanje lijekova pšenične trave. Sjemenke pšenice i sadnice su važan izvor hrane zbog prisutnosti različitih spojeva koji promoviraju zdravlje. Ukupno je identificirano 297 proteina i otkrivena je njihova funkcija u sprječavanju bolesti i oksidativnog stresa. Dobiveni podaci na pšeničnoj travi pokazuju da može biti jako antioksidativno sredstvo zbog svog djelovanja na uklanjanju slobodnih radikala i može se koristiti u njegovanju ljudskog zdravlja. Analiza skeniranja aktivnosti FRAP i DPPH pokazali su snažnu aktivnost u pšeničnoj travi. Podaci iz dobivenog istraživanja kažu da sadnice *Triticum aestivum* mogu djelovati kao antioksidansi zbog svoje aktivnosti čišćenja slobodnih radikala.

Ozkose i sur. (2016.) su istraživali usporedbu kemijskih sastava, senzornih, fenolnih i antioksidativnih svojstava različitih vrsta pšenične trave i drugih vrsta. Sokovi različitih vrsta kao što su *T. durum*, *T. aestivum*, *Lolium perenne* L., *Festuca arundinacea* Schreb. dobiveni su prešanjem. Otkriveno je da su u vodi topive suhe tvari: proteini, ukupni fenoli, flavonoidi i

vitamin E, veći u sokovima vrste *Triticum* u odnosu na ostale trave. Vrste trava pokazale su veću koncentraciju ulja, vitamina C, klorofila i glavnih elemenata. Višegodišnje sorte trava imaju prednost u prešanju u odnosu na vrste *Triticum* u pogledu veće koncentracije vitamina C i glavnih elemenata. Ovim pokusom *Triticum* vrste su se pokazale najbolje topive u vodi, visok sadržaj proteina, ukupnih fenola, flavonoida i vitamina E, ali nižu razinu ulja, klorofila i elemenata u tragovima. Sorte ostalih trava imaju veću koncentraciju vitamina C i glavnih elemenata Ca, K, Na, S i Zn.

Saini i sur. (2017.) su istraživali usporedbu polifenola, flavonoida, antioksidativnih i radikalnih sadržaja iz tri vrste pšenice. Oksidativni stres je vodeći uzrok mnogih starosnih i kroničnih poremećaja koji se mogu kontrolirati korištenjem antioksidanata. Pšenična trava ima snažnu djelotvornost antioksidanata iz biljnog izvora koji će poboljšati nutritivnu kvalitetu ljudske hrane kako bi se spriječilo obolijevanje i ublažili simptomi vezani uz dob. Ekstrakti su pripremljeni prema sljedećim danima: 6, 9, 12, 15 od sve tri vrste pšenice. Uspoređujući tri vrste pšenice rezultat je pokazao maksimalnu antioksidacijsku aktivnost i uklanjanje slobodnih radikala u *T. dicoccum*, zatim u *T. durum* i *T. aestivum* u uzorku 15.dana. U ovom istraživanju utvrđeno je da su najviše vrijednosti u *T. dicoccumu*, zatim u *T. durum* i *T. aestivum*. Istraživanje pokazuje da sve tri različite vrste pšenice pokazuju maksimalnu antioksidativnu aktivnost i slobodnu aktivnost radikalnog čišćenja. Istraživanje zaključuje da sve tri različite vrste pšenice pokazuju maksimalnu antioksidativnu aktivnost.

Pourmorad i sur. (2006.) su istraživali antioksidativno djelovanje, sadržaj fenola i flavonoida u odabranim iranskim ljekovitim biljkama. U ovom istraživanju koristile su se iranske ljekovite biljne vrste: *Mellilotus officinalis* (Fabaceae), *Equisetum maximum* (Equisetaceae), *Plantago major* (Plantaginaceae), *Adiantum capillus - veneris* (Adiantaceae), *Urtica dioica* (Urticaceae). Najveći učinak čišćenja radikala zabilježen je kod *Mellilotus officinalis*. Veća količina fenolnih spojeva dovodi do većeg radikalnog učinka čišćenja kako pokazuje *M. officinalis*. Za neke od trenutno dostupnih sintetičkih antioksidanasa, poput BHA (butilirani hidroksianiol), BHT (butilhidroksitoluena), tert-butilhidrokinon i esteri galne kiseline, smatra se da imaju negativan efekt na zdravlje. Stoga postoje ograničenja za njihovu primjenu i postoji trend zamjenjivanja s prirodnim antioksidansima. Štoviše, sintetički antioksidansi pokazuju nisku topivost i umjereno antioksidacijsko djelovanje (Barlow, 1990.; Branen, 1975.). Osim dobro poznatih i

tradicionalno korištenih prirodnih antioksidanasa iz čaja, vina, voća, povrća i začina, koriste se i drugi prirodni antioksidansi kao što su ružmarin i kadulja kao dodatak prehrani (Schuler, 1990.). Pronašli su i odnos ukupnog sadržaja flavonoida i fenola s antioksidacijskim djelovanjem. Biljne vrste su identificirane da sadrže visoku razinu antioksidacijske aktivnosti in vitro te mogu biti od koristi za daljnja istraživanja povezana s oštećenjem tkiva slobodnim radikalima. Rezultat ovog istraživanja pokazao je da ekstrakt *M. officinalis* sadrži najveću količinu flavonoida i fenolnih spojeva, te pokazuje najveće antioksidacijsko djelovanje.

Bondi i sur. (2004.) su istraživali antioksidativne fenole u brašnu ječma (*Hordeum vulgare* L.). Ječam je široko konzumirana žitarica zbog svojih prehrambenih i tehnoloških svojstava. Uspoređivali su spektrofotometrijska istraživanja i ekstrakciju slobodnih i vezanih fenolnih spojeva. Fenolni spojevi nalaze se u slobodnim i vezanim oblicima u žitaricama. Većina se nalazi u netopljivom vezanom obliku, poput ferulinske kiseline i njenih derivata. Prinos ekstrakcije svake metode procijenjen je korelacijom nekoliko spektrofotometrijskih indeksa (apsorpcija na 280, 320 i 370 nm i ukupni fenolni spojevi prema Folin-Ciocalte metodi) s antioksidacijskim aktivnostima ekstrakta ječma. Dobiveni su zanimljivi rezultati ekstrakcijom na bazi etanola i acetona. Vodeni aceton i vodene ekstrakcijske smjese na bazi etanola dovele su do većih prinosa ekstrakcije slobodnih fenola.

Chatha i sur. (2006.) su istraživali procjenu antioksidacijskog djelovanja ekstrakta rižinih mekinja koristeći različite antioksidativne testove. Sintetski antioksidansi poput BHA, BHT, propil galat (PG) i tercijarni butil hidrokinoni (TBHQ) su u upotrebi kao aditivi hrani već dugo vremena. Nedavna istraživanja su otkrila da upotreba ovih spojeva može biti povezana sa zdravstvenim rizicima, uključujući rak (Hou, 2003.; Prior, 2004.). Korištena su različita otapala (100 % metanol, 80 % metanol, 100 % aceton i 80 % aceton), ekstrakti rižinih mekinja te suncokretovo ulje kao oksidacijski supstrat. Sirovo koncentrirani ekstrakti rižinih mekinja dodani su u suncokretovo ulje te čuvani u sobnim uvjetima. Rezultati pokazuju da rižine mekinje autohtone sorte Super Kernel u Pakistanu su održivi izvor prirodnih antioksidanata i mogu biti iskorištene za funkcionalnu hranu i hranjive tvari. Najveći prinos je dobiven u 80 % metanolu, a najniži u 100 % acetonu. Obično se preporučuje metanol za ekstrakciju antioksidativnih spojeva (Iqbal i sur., 2005.) te bi se njegova učinkovitost mogla poboljšati dodavanjem vode kao otapala. Shahidi (1997.b) je izvijestio da žitarice poput pšenice, riže i zobi sadrže slobodne



topljive estere te netopljive, vezane i ukupne fenole. Rezultati istraživanja pokazuju da su rižine mekinje snažan izvor prirodnih antioksidanasa koji sadrže jedinstvenu smjesu fenolnih spojeva.

Seal i sur. (2014.) su istraživali antioksidativnu aktivnost divljih biljnih vrsta u sjeveroistočnoj regiji u Indiji. Proučavali su sedam divljih jestivih biljaka kao što su *Allium scienoprasum*, *Carica papaya*, *Neptunia oleracea*, *Eurya acuminata*, *Hodgsonia*, *Brassica nigra* i *Flacourtia jangomi*. Otapala koja su korištena za ekstrakciju aktivnih sastojaka su benzen, kloroform, aceton i metanol. Uočene su različite antioksidativne aktivnosti u korištenim otapalima. Maksimalne vrijednosti antioksidativne aktivnosti dobivene su u metanolnim ekstraktima plodova *H. heteroclita*, dok je najniži prinos zabilježen u kloroformskom ekstraktu lišća *E. acuminata*. Metanolni ekstrakti plodova *F. jangomas* i lišća *B. nigra* također su pokazali vrlo dobru ekstraktivnu vrijednost. Razlike u ekstraktivnim vrijednostima mogu biti posljedica različite prirode biljaka, prisutnih komponenti i polariteta korištenog otapala. Metanolni ekstrakt *E. acuminata* sadrži najveću količinu fenolnih spojeva te posjeduje snažnu aktivnost čišćenja radikala, vrlo dobru količinu flavonoida i flavonola. Ekstrakt benzena, kloroforma i acetona iz *E. acuminata*, *B. nigra* i ekstrakta metanola *A. schoenoprasum*, *N. oleracea* i *F. jangomas* sadrže vrlo dobru količinu fenola te pokazuju snažnu aktivnost uklanjanja radikala.

Matić (2015.) je istraživala utjecaj različitih načina skladištenja na antioksidacijsku aktivnost u voću. Voće je zdrava namirnica koja sadrži razne fitonutrijente koji pokazuju antioksidacijsko djelovanje u ljudskom organizmu te pružaju zaštitu protiv bolesti (Wang i sur., 1996.). Poznato je da se kvaliteta i nutritivna vrijednost voća smanjuje tijekom skladištenja. Zbog održavanja što bolje kvalitete voća teži se pronalasku prihvatljivih načina skladištenja koji će uzeti u obzir fiziološke i biokemijske osobine pojedine vrste voća. Szeto i sur. (2002.) su proveli istraživanje na nekoliko vrsta voća kako bi odredili ukupnu antioksidacijsku aktivnost. Dokazano je da jagode imaju 10 puta veći antioksidacijski kapacitet od ostalog voća. Šljive, naranče, kivi i grejp su pokazali visoki antioksidacijski kapacitet iako su šljive vrlo siromašne askorbinskom kiselinom. Jabuke, kruške, grožđe i banane također pokazuju nisku koncentraciju askorbinske kiseline. Mnogobrojnim istraživanjima utvrđeno je da bobičasto tamno voće (višnja, kupina, jagoda, malina, borovnice, ribiz) sadrže veće količine polifenolnih spojeva od povrća i žitarica (Halvorsen i sur., 2002.). Kako bi voće tijekom skladištenja zadržalo kvalitetu potrebno je usporiti respiraciju, odnosno starenje i dozrijevanje (Matić, 2015.). Nekoliko tretmana, kao što

su kontrolirana temperatura, toplinska obrada, zračenje te otopina metil – jasmonata i salicilne kiseline, pokazalo se učinkovitim u održavanju kvalitete plodova tijekom skladištenja (Wang, 2007.). Svi tretmani, salicilna kiselina, ozon, metil jasmonat i UV - C zračenje, djelovali su pozitivno na kvalitetu voća tijekom skladištenja što je vidljivo u održavanju visokih koncentracija fenolnih spojeva i askorbinske kiseline.

### 3. MATERIJAL I METODE

#### 3.1. Postavljanje pokusa - uzgoj pšenične trave

##### Priprema sjemena

Zrno divljeg srodnika pšenice *Triticum aestivum* ssp. *sphaerococcum* iz 2013. godine sijalo se u treset. Prethodno je izvavano 15 g zrna u staklene posude. Posude se napune s destiliranom vodom i stave na magnetnu miješalicu 5 min. Nakon 5 min. zrno je ocijeđeno, te je postupak ponovljen još jednom s destiliranom vodom, i jednom s autoklaviranom vodom kako bi se zrno što bolje opralo. Nakon toga zrno je istreseno u staklenke a potom su staklenke prekrivene mrežicom. Staklene s opranim zrnom, postavljene su naopako, kako bi iscurio višak vode, i ostavljene u zamračenoj prostoriji dva dana, kako bi zrno naklijalo. Tijekom naklijavanja, zrno je dva puta isprano autoklaviranom vodom.

##### Sjetva

Na dan sjetve, 25.04.2019. u posude je odvagano 354 g treseta. Iz staklenke su istresena naklijana zrna i raspoređena po cijeloj površini. Tako raspoređena zrna, prekrivena su s cca 60 g treseta i zalivena s 50 ml destilirane vode te posložena u komoru za rast biljaka..

##### Komora

Temperatura zraka u komori je namještena na 20 °C. Svjetlosna faza je trajala u vremenu od 8:00 do 20:00 h (fotoperiod od 12 sati). Vlaga zraka je bila oko 65 %. Pšenica je svaki dan zalijevana s 50 ml destilirane vode.

##### Otkos

Dvanaest dana nakon sjetve pšenice, pšenična trava je odrezana 2-3 cm iznad površine treseta. Nakon toga, odrezani listovi su izvavano na laboratorijskoj vagi kako bi se odredila ukupna masa lista, te je iz tih listova iscijeđjen sok u sokovniku za pšeničnu travu (Slika 7.). Dok je dio listova izvagan i ostavljen za skladištenje u obliku lista.



**Slika 5.** Cijeđenje soka iz pšenične trave

Izvor: Katarina Šperanda

### 3.2. Skladištenje uzoraka

Lisna masa pšenične trave i pšenični sok su se skladištili na različite temperature (4 °C, -20 °C i -80 °C). Analiza je rađena nulti dan (na dan žetve), prvi, sedmi, četrnaesti i dvadesetprvi dan.

### 3.3. Određivanje ukupne antioksidativne aktivnosti DPPH metodom

DPPH je metoda koja se temelji na sposobnosti antioksidanata da deaktivira slobodne radikale prijenosom vodikovih atoma (HAT mehanizam). Određivanje antioksidativnih aktivnosti provedeno je DPPH metodom prema Brand-Willamsu (1995.).

**Tablica 3.** Standardi za izradu baždarne krivulje

standard	etanol	DPPH
40 µl	60 µl	1900 µl
50 µl	50 µl	1900 µl
60 µl	40 µl	1900 µl
70 µl	30 µl	1900 µl
80 µl	20 µl	1900 µl
100 µl	0 µl	1900 µl

Pripremljena je otopina reagensa. 4 mg DPPH u 100 ml 96 % etanola. Otopina mora biti u tami, na ultrazvučnoj kupelji staviti tikvicu 15 minuta na frekvenciju 80 i jačinu 100. Za standarde se

pravi stock otopina. 15 mg askorbinske kiseline otopi se u 100 ml destilirane vode. Standardi su potrebni za izradu baždarne krivulje. Standardi se prave prema tablici.

Zatim se pohrane u mrak na 30 minuta, nakon toga izmjerena je apsorbancija uzoraka i nule. 0,5 g s 1 ml 70 % etanola, sok odvagati u epicu i zapisati masu. Uzorci su vorteksirani, zatim stavljeni na centrifugu na 4 °C i na 6000 RCF na 15 minuta. Nakon toga uzorci su dekantirani da se odvoji talog. Zatim se uzorci dodaju u epice (40, 60, 80, 100 µl) zajedno s etanolom 70 % (60, 40, 20 i 0 µl) i DPPH (1900 µl). Nakon toga slijedi mjerenje na spektrofotometru 517 nm. Za nulu se koristi 96 %-tni etanol i staklena kiveta. Nakon mjerenja svakog uzorka kiveta se ispiru s 96 %-tnim etanolom. DPPH otopinu je potrebno uvijek čuvati u tamnoj boci i na hladnom.

Formula:  $\% \text{ IC} = \frac{T_0 - \text{Abs uzorka}}{T_0} \times 100 (\%)$  – formula za izračunavanje % inhibicije

Rezultati su izraženi kao volumen soka pšenične trave (ml SPT) koji je potreban za 50 %-tnu inhibiciju raspadanja DPPH radikala (IC 50 % / ml SPT).

#### **3.4. Analize i obrada podataka**

Analiza antioksidativne aktivnosti obuhvaćala je spektrofotometrijsko određivanje koncentracija te je obavljena na uređaju Varian Cary 50 UV – VIS Spectrophotometer uz programsku podršku Cary WinUV software. Istraživanje je provedeno kao dvofaktorijalni pokus s četiri ponavljanja. Svi prikupljeni podaci određeni su pomoću programa za statističku obradu podataka SAS Software 9.1.3., (2002. – 2003., SAS Institute Inc., Cary, USA) i Microsoft Excel Office 2007. Utjecaj tretmana na ispitivana svojstva ispitan je pomoću dvofaktorijalne analize varijance (ANOVA), a razlike između srednjih vrijednosti ispitanu su pomoću testa najmanje značajne razlike (LSD test).

## 4. REZULTATI

U prosjeku za obje varijante skladištenja tkiva, F testom je utvrđen značajan utjecaj trajanja skladištenja, pri svim temperaturama na antioksidativnu aktivnost pšenične trave (4 °C  $P=0,0005$ ; -18 °C  $P<0,0001$ ; 80 °C  $P<0,0001$ ), (Tablica 4.). Nadalje, u prosjeku za sve duljine trajanja skladištenja, pri svim temperaturama skladištenja utvrđen je značajan utjecaj načina čuvanja uzoraka na ukupnu antioksidativnu aktivnost u listu, odnosno soku pšenične trave (4 °C; -18 °C; -80 °C  $P<0,0001$ ). Interakcija tkivo x skladištenje je značajno utjecala na antioksidativnu aktivnost pri svim temperaturama skladištenja.

**Tablica 4.** Utjecaj duljina skladištenja (na dan otkosa, 1, 7, 14, 21 dan) u prosjeku za obje varijante načina čuvanja tkiva te načina čuvanja tkiva (sok, list) u prosjeku za sve duljine skladištenja i njihove interakcije na ukupni antioksidacijski kapacitet (IC 50 %/ml SPT) kod pšenične trave, pri različitim temperaturama skladištenja (4 °C, -18 °C, -80 °C). Varijanta „na dan otkosa“ predstavlja kontrolnu vrijednost čiji je prosjek uspoređivan sa svim ostalim varijantama tretmana.

TRETMAN	RAZINA TRETMANA	4	-18	-80
Duljina skladištenja	na dan otkosa	0,188 <sup>A</sup>	0,188 <sup>A</sup>	0,188 <sup>A</sup>
	1	0,186 <sup>A</sup>	0,180 <sup>A</sup>	0,165 <sup>B</sup>
	7	0,160 <sup>B</sup>	0,143 <sup>BC</sup>	0,145 <sup>C</sup>
	14	0,155 <sup>B</sup>	0,155 <sup>B</sup>	0,153 <sup>BC</sup>
	21	0,136 <sup>B</sup>	0,133 <sup>C</sup>	0,122 <sup>C</sup>
	F test <i>p</i>	6,85 0,0005	9,45 <0,0001	13,24 <0,0001
Tkivo	list	0,189 <sup>A</sup>	0,188 <sup>A</sup>	0,180 <sup>A</sup>
	sok	0,141 <sup>B</sup>	0,132 <sup>B</sup>	0,130 <sup>B</sup>
	F test <i>p</i>	40,51 <0,0001	66,36 <0,0001	70,72 <0,0001
Tkivo x skladištenje	F test <i>p</i>	9,56 <0,0001	7,14 0,0004	10,14 <0,0001

Podaci su prosjek tri ponavljanja; ANOVA, F test; prosjeci označeni različitim slovom se razlikuju prema LSD testu (<sup>A,B,C</sup>  $P=0,01$ ).

U prosjeku, za oba načina skladištenja tkiva, pri 4 i -18 °C, LSD testom je utvrđena značajno veća antioksidativna aktivnost u uzorcima koji su bili analizirani odmah nakon otkosa odnosno bili skladišteni na 24 sata u odnosu na uzorke koji su bili skladišteni na dulji period. Nakon

sedmog dana skladištenja pri spomenutim temperaturama zabilježen je značajan pad antioksidativne aktivnosti pšenične trave. Na -18 °C je utvrđena značajno manja antioksidativna aktivnost 21. dan u usporedbi s 14. danom skladištenja. Na -80 °C najviše značajne razlike u DPPH vrijednostima utvrđene su analizom na dan otkosa dok je pri svim ostalim danima analize DPPH aktivnost bila značajno niža te se vrijednosti DPPH dobivene sedmi, četrnaesti i dvadest i prvi dan nisu značajno razlikovale.

U prosjeku za obje varijante skladištenja tkiva, F testom je utvrđen značajan utjecaj temperature skladištenja, kod 7. 14. i 21. dana skladištenja uzorka na antioksidativnu aktivnost kod pšenične trave (Tablica 5.). Nadalje, u prosjeku za sve temperature skladištenja, utvrđen je značajan utjecaj načina skladištenja tkiva za svaki dan analize antioksidativne aktivnosti. Interakcija tkivo x temperatura također je bila značajna za sve dane skladištenja tkiva/soka pšenične trave.

**Tablica 5.** Utjecaj temperature skladištenja (20 °C, 4 °C, -18 C, -80 °C), u prosjeku za obje varijante načina čuvanja tkiva te utjecaj načina čuvanja tkiva (sok, list) u prosjeku za sve temperature skladištenja i njihove interakcije na ukupni antioksidacijski kapacitet (IC 50 %/ml SPT) kod pšenične trave, po danima skladištenja (na dan otkosa, 1, 7, 14, 21 dan). Varijanta „na dan otkosa“ predstavlja kontrolnu vrijednost čiji je prosjek uspoređivan sa svim ostalim varijantama tretmana.

FAKTOR	VARIJANTA	1	7	14	21
Temperatura	na dan otkosa	0,188	0,188 <sup>A</sup>	0,188 <sup>A</sup>	0,188 <sup>A</sup>
	4	0,186	0,160 <sup>B</sup>	0,155 <sup>B</sup>	0,136 <sup>B</sup>
	-18	0,180	0,143 <sup>B</sup>	0,155 <sup>B</sup>	0,133 <sup>B</sup>
	-80	0,165	0,145 <sup>B</sup>	0,153 <sup>B</sup>	0,122 <sup>B</sup>
	F test <i>P</i>	1,27 0,3075	6,42 0,0024	6,24 0,0028	16,81 <0,0001
Tkivo	list	0,217 <sup>A</sup>	0,186 <sup>A</sup>	0,189 <sup>A</sup>	0,166 <sup>A</sup>
	sok	0,142 <sup>B</sup>	0,132 <sup>B</sup>	0,137 <sup>B</sup>	0,124 <sup>B</sup>
	F test <i>P</i>	69,16 <0,0001	43,53 <0,0001	61,44 <0,0001	34,03 <0,0001
Tkivo x Temp.	F test <i>P</i>	3,73 0,0248	8,40 0,0005	14,00 <0,0001	15,55 <0,0001

Podaci su prosjek tri ponavljanja; ANOVA, F test; prosjeci označeni različitim slovom se razlikuju prema LSD testu (<sup>A,B,C</sup> *P*=0,01).

U prosjeku za obje varijante čuvanja tkiva, nakon 7, 14 i 21 dan, utvrđen je značajan pad antioksidativne aktivnosti pri svim temperaturama skladištenja tkiva, u usporedbi s kontrolnom vrijednošću dobivenom na dan otkosa. U prosjeku za sve temperature skladištenja LSD testom je, kod svih dana skladištenja, utvrđena značajno veća vrijednost antioksidativne aktivnosti u tkivu lista pšenične trave u usporedbi sa sokom.

Nakon prvog dana skladištenja, F testom je utvrđen značajan utjecaj varijante skladištenja tkiva na antioksidativnu aktivnost pšenične trave, pri svim temperaturama (Tablica 6.).

**Tablica 6.** Utjecaj tkiva (list, sok) i temperature skladištenja (bez skladištenja, 4 °C, -18 °C, -80 °C) na ukupnu antioksidativnu aktivnost (IC 50 %/ml SPT) kod pšenične trave nakon prvog dana.

Tkivo	TEMPERATURA SKLADIŠTENJA				F test <i>P</i>
	Bez skl.	4	-18	-80	
List	0,250 <sup>a</sup>	0,221 <sup>a</sup>	0,211 <sup>a</sup>	0,187 <sup>a</sup>	2,18 0,1434
Sok	0,126 <sup>b;y</sup>	0,151 <sup>b;x</sup>	0,148 <sup>b;x</sup>	0,144 <sup>b;x</sup>	11,11 0,0009
F test <i>P</i>	34,40 0,0011	12,41 0,0125	11,89 0,0137	14,35 0,0091	

Podaci su prosjek četiri ponavljanja; ANOVA, F test; razlike između skladištenog tkiva pri istim temperaturama označene različitim slovom su značajne prema LSD testu (<sup>a,b,c</sup>  $P=0,05$ ); razlike između temperatura skladištenja za isto tkivo označene različitim slovom su značajne prema LSD testu (<sup>x,y,z</sup>  $P=0,05$ ).

LSD testom je utvrđena značajno veća antioksidativna aktivnost u tkivu lista koji su bili analizirani odmah nakon otkosa odnosno bili skladišteni na 24 sata, u usporedbi sa sokom. Nakon skladištenja u trajanju od 24 sata, nije utvrđen značajan utjecaj temperature skladištenja na antioksidativnu aktivnost u tkivu lista. U soku pšenične trave značajno najmanja antioksidativna aktivnost je zabilježena u uzorku analiziranom na dan otkosa te je nakon jednog dana skladištenja pri svim temperaturama zabilježen značajan porast antioksidativne aktivnosti.

Nakon 7. dana skladištenja, F testom je utvrđen značajan utjecaj načina skladištenja tkiva na antioksidativnu aktivnost pšenične trave samo pri temperaturi od -80 °C ( $P=0,0374$ ), (Tablica, 7.). Nadalje, i kod tkiva lista i kod soka pšenične trave utvrđen je značajan utjecaj temperature skladištenja na ukupnu antioksidativnu aktivnost.



**Tablica 7.** Značajnost utjecaja skladištenja tkiva (list, sok) i temperature skladištenja (bez skladištenja, 4 °C, -18 °C, -80 °C) na ukupnu antioksidativnu aktivnost (IC 50 %/ml SPT) kod pšenične trave nakon sedmog dana.

Tkivo	TEMPERATURA SKLADIŠTENJA				F test <i>P</i>
	Bez skl.	4	-18	-80	
List	0,250 <sup>a;x</sup>	0,179 <sup>y</sup>	0,156 <sup>a;y</sup>	0,159 <sup>a;y</sup>	7,41 0,0045
Sok	0,126 <sup>b;y</sup>	0,142 <sup>x</sup>	0,130 <sup>a;y</sup>	0,131 <sup>b;y</sup>	7,44 0,0045
F test <i>P</i>	34,40 0,0011	4,83 0,0702	3,08 0,1297	7,08 0,0374	

Podaci su prosjek četiri ponavljanja; ANOVA, F test; razlike između skladištenog tkiva pri istim temperaturama označene različitim slovom su značajne prema LSD testu (<sup>a,b,c</sup>  $P=0,05$ ); razlike između temperatura skladištenja za isto tkivo označene različitim slovom su značajne prema LSD testu (<sup>x,y,z</sup>  $P=0,05$ ).

LSD testom je utvrđena značajno veća antioksidativna aktivnost u uzorcima lista, u usporedbi sa sokom, skladištenim pri -80 °C, nakon sedam dana. U tkivu lista nakon sedam dana skladištenja, došlo je do značajnog pada antioksidativne aktivnosti u usporedbi s tkivom analiziranim na dan otkosa. U soku pšenične trave, značajno najveća antioksidativna aktivnost utvrđena je pri 4 °C.

**Tablica 8.** Značajnost utjecaja skladištenja tkiva (list, sok) i temperature skladištenja (bez skladištenja, 4 °C, -18 °C, -80 °C) na ukupnu antioksidativnu aktivnost (IC 50 % / ml SPT) kod pšenične trave nakon četrnaest dana.

Tkivo	TEMPERATURA SKLADIŠTENJA				F test <i>P</i>
	Bez skl.	4	-18	-80	
List	0,250 <sup>a;x</sup>	0,159 <sup>y</sup>	0,173 <sup>a;y</sup>	0,174 <sup>a;y</sup>	9,68 0,0016
Sok	0,126 <sup>b;z</sup>	0,151 <sup>x</sup>	0,137 <sup>b;y</sup>	0,133 <sup>b;y</sup>	32,82 <0,0001
F test <i>P</i>	34,40 0,0011	0,93 0,3725	25,20 0,0024	12,55 0,0122	

Podaci su prosjek četiri ponavljanja; ANOVA, F test; razlike između skladištenog tkiva pri istim temperaturama označene različitim slovom su značajne prema LSD testu (<sup>a,b,c</sup>  $P=0,05$ ); razlike između temperatura skladištenja za isto tkivo označene različitim slovom su značajne prema LSD testu (<sup>x,y,z</sup>  $P=0,05$ ).

Nakon 14 dana skladištenja, F testom je utvrđen značajan utjecaj načina čuvanja tkiva na ukupnu antioksidacijsku aktivnost pri -18 i -80 °C (-18 °C  $P=0,0024$ ; -80 °C  $P=0,0122$ ). Također,

temperatura skladištenja je i kod lista i kod soka značajno utjecala na ukupnu antioksidacijsku aktivnost, (Tablica 8.).

LSD testom je utvrđen značajni pad antioksidacijske aktivnosti nakon 14 dana skladištenja u soku pšenične trave skladištenom pri -18 i -80 °C. U listu je antioksidativna aktivnost nakon 14 -og dana bila značajno niža pri svim temperaturama u usporedbi sa kontrolom analiziranom na dan otkosa, dok je u soku kao i kod 7.-og dana, utvrđena značajno najveća antioksidativna aktivnost.

Nakon 21.-og dana skladištenja, F testom je utvrđen značajan utjecaj temperatura skladištenja na antioksidativnu aktivnost u listu ( $P=0,0002$ ) i u soku pšenične trave ( $P<0,0001$ ), (Tablica 9.). Također je utvrđen i značajan utjecaj načina čuvanja tkiva na ukupnu antioksidacijsku aktivnost pri -18 °C ( $P=0,0318$ ).

**Tablica 9.** Značajnost utjecaja skladištenja tkiva (list, sok) i temperature skladištenja (bez skladištenja, 4 °C, -18 °C, -80 °C) na ukupnu antioksidativnu aktivnost (IC 50 %/ml SPT) kod pšenične trave nakon dvadesetprvog dana.

Tkivo	TEMPERATURA SKLADIŠTENJA				F test <i>P</i>
	Bez skl.	4	-18	-80	
List	0,250 <sup>a;x</sup>	0,135 <sup>y</sup>	0,148 <sup>a;y</sup>	0,130 <sup>y</sup>	16,10 0,0002
Sok	0,126 <sup>b;y</sup>	0,138 <sup>x</sup>	0,117 <sup>b;z</sup>	0,114 <sup>z</sup>	18,81 <0,0001
F test <i>P</i>	34,40 0,0011	0,05 0,8369	7,75 0,0318	3,28 0,1202	

Podaci su prosjek četiri ponavljanja; ANOVA, F test; razlike između skladištenog tkiva pri istim temperaturama označene različitim slovom su značajne prema LSD testu (a,b,c  $P=0,05$ ); razlike između temperatura skladištenja za isto tkivo označene različitim slovom su značajne prema LSD testu (x,y,z  $P=0,05$ ).

Nakon 21.-og dana, LSD testom je pri -18 °C utvrđena značajno veća antioksidativna aktivnost u listu u usporedbi sa sokom. Također, u usporedbi s kontrolom, utvrđen je statistički značajan pad antioksidativne aktivnosti u listu pri svim temperaturama skladištenja. U soku je utvrđena najveća antioksidativna aktivnost pri 4 °C, a značajan pad spomenutog parametra utvrđen je pri -18 i -80 °C, te se te vrijednosti nisu međusobno značajno razlikovale.

Pri 4 °C, F testom je utvrđen značajan utjecaj varijante skladištenja tkiva na ukupnu antioksidativnu aktivnost u tkivu analiziranom na dan otkosa i nakon 1 dana skladištenja (bez

skladištenja  $P=0,0011$ ; 1. dan  $P=0,0125$ ), (Tablica 10.). Također, utvrđen je značajan utjecaj broja dana skladištenja na ukupnu antioksidativnu aktivnost u listu i soku.

**Tablica 10.** Utjecaj skladištenja tkiva (list, sok) i dužine trajanja skladištenja u danima (bez skladištenja, 1, 7, 14, 21) na antioksidativnu aktivnost (IC 50 %/ml SPT) kod pšenične trave pri 4 °C.

Tkivo	TRAJANJE SKLADIŠTENJA					F test <i>P</i>
	Bez skl.	1	7	14	21	
List	0,250 <sup>a;x</sup>	0,221 <sup>a;xy</sup>	0,179 <sup>yz</sup>	0,159 <sup>z</sup>	0,135 <sup>z</sup>	8,12 0,0011
Sok	0,126 <sup>b;z</sup>	0,151 <sup>b;x</sup>	0,142 <sup>xy</sup>	0,151 <sup>x</sup>	0,138 <sup>y</sup>	10,42 0,0003
F test <i>P</i>	34,40 0,0011	12,41 0,0125	4,83 0,0702	0,93 0,3725	0,05 0,8369	

Podaci su prosjek četiri ponavljanja; ANOVA, F test; razlike između skladištenog tkiva unutar istog dana označene različitim slovom su značajne prema LSD testu (<sup>a,b,c</sup>  $P=0,05$ ); razlike između dana skladištenja za isto tkivo označene različitim slovom su značajne prema LSD testu (<sup>x,y,z</sup>  $P=0,05$ ).

Skladištenjem pri 4 °C, LSD testom je utvrđena značajno najveća antioksidativna aktivnost u listu pšenične trave kod uzoraka analiziranih nakon otkosa te čuvanih 24 sata. Pri spomenutoj temperaturi dolazi do pada antioksidativne aktivnosti u listu nakon 7.-og dana te se vrijednosti dobivene nakon 7.-og, 14.-og i 21.-og dana nisu statistički značajno razlikovale. Također nisu utvrđene statistički značajne razlike u antioksidativnoj aktivnosti kod listova analiziranih na dan otkosa te analiziranih nakon 24 sata. U soku pšenične trave skladištenom pri 4 °C, najniža značajna vrijednost antioksidativne aktivnosti zabilježena je u uzorcima analiziranim na dan otkosa dok se vrijednosti dobivene nakon 1.-og, 7.-og i 14.-og dana nisu značajno razlikovale.

Pri -18 °C, F testom je utvrđen značajan utjecaj načina čuvanja tkiva na ukupnu antioksidacijsku aktivnost kod pšenične trave, nakon 1.-og, 14.-og i 21.-og dana skladištenja (1. dan  $P=0,0137$ ; 14. dan  $P=0,0024$ ; 21. dan  $P=0,0318$ ), (Tablica 11.). Također, utvrđen je i značajan utjecaj dužine trajanja skladištenja na ukupnu antioksidativnu aktivnost u listu i soku pšenične trave, skladištenom pri -18 °C (list  $P=0,0013$ ; sok  $P<0,0001$ ).

**Tablica 11.** Utjecaj skladištenja tkiva (list, sok) i dužine trajanja skladištenja u danima (bez skladištenja, 1, 7, 14, 21) na antioksidativnu aktivnost (IC 50 %/ml SPT) kod pšenične trave pri -18 °C.

Tkivo	TRAJANJE SKLADIŠTENJA					F test <i>P</i>
	Bez skl.	1	7	14	21	
List	0,250 <sup>a;x</sup>	0,211 <sup>a;xy</sup>	0,156 <sup>z</sup>	0,173 <sup>a;yz</sup>	0,148 <sup>a;z</sup>	7,88 0,0013
Sok	0,126 <sup>b;z</sup>	0,148 <sup>b;x</sup>	0,130 <sup>z</sup>	0,137 <sup>b;y</sup>	0,117 <sup>b;w</sup>	27,87 <0,0001
F test	34,40	11,89	3,08	25,20	7,75	
<i>P</i>	0,0011	0,0137	0,1297	0,0024	0,0318	

Podaci su prosjek četiri ponavljanja; ANOVA, F test; razlike između skladištenog tkiva unutar istog dana označene različitim slovom su značajne prema LSD testu (<sup>a,b,c</sup>  $P=0,05$ ); razlike između dana skladištenja za isto tkivo označene različitim slovom su značajne prema LSD testu (<sup>x,y,z</sup>  $P=0,05$ ).

LSD testom je utvrđena značajno veća antioksidativna aktivnost u uzorcima lista koji su bili pohranjeni na -18 °C te analizirani nakon 1, 14 odnosno 21 dana. U tkivu lista, pri spomenutoj temperaturi, utvrđen je značajan pad antioksidativne aktivnosti nakon 7.-og dana, dok se vrijednosti utvrđene nakon 1.-og dana nisu značajno razlikovale od kontrole. U soku je, pri spomenutoj temperaturi, utvrđena najniža vrijednost DPPH u uzorcima koji su analizirani 21.-og dana. Vrijednost DPPH na dan otkosa se nije značajno razlikovala od one utvrđene nakon 7.-og dana skladištenja, a statistički najveća antioksidativna aktivnost utvrđena je nakon 1 dan skladištenja pri -18 °C.

Pri -80 °C, F testom je utvrđen značajan utjecaj načina vrste skladištenog tkiva na ukupnu antioksidativnu aktivnost nakon 1.-og, 7.-og i 14.-og dana skladištenja (1. dan  $P=0,0091$ ; 7. dan  $P=0,0374$ ; 14. dan  $P=0,0122$ ), (Tablica 12.). Također, značajan je i utjecaj broja dana skladištenja pri -80 °C na DPPH vrijednost u listu i soku pšenične trave.

Pri temperaturi skladištenja -80 °C, LSD testom je utvrđena značajno veća antioksidativna aktivnost u listu u usporedbi sa sokom i to kod uzoraka analiziranih nakon 1.-og, 7.-og i 14.-og dana. U listu pšenične trave skladištenom pri -80 °C, značajno najniža antioksidativna aktivnost zabilježena je nakon 21.-og dana te se nije značajno razlikovala od vrijednosti utvrđene nakon 7.-og dana.

**Tablica 12.** Utjecaj skladištenja tkiva (list, sok) i dužine trajanja skladištenja u danima (bez skladištenja, 1, 7, 14, 21) na antioksidativnu aktivnost (IC 50 %/ml SPT) kod pšenične trave pri -80 °C.

Tkivo	TRAJANJE SKLADIŠTENJA					F test
	0	1	7	14	21	<i>P</i>
List	0,250 <sup>a;x</sup>	0,187 <sup>a;y</sup>	0,159 <sup>a;yz</sup>	0,174 <sup>a;y</sup>	0,130 <sup>z</sup>	11,43 0,0002
Sok	0,126 <sup>b;y</sup>	0,144 <sup>b;x</sup>	0,131 <sup>b;y</sup>	0,133 <sup>b;y</sup>	0,114 <sup>z</sup>	19,14 <0,0001
F test	34,40	14,35	7,08	12,55	3,28	
<i>P</i>	0,0011	0,0091	0,0374	0,0122	0,1202	

Podaci su prosjek četiri ponavljanja; ANOVA, F test; razlike između skladištenog tkiva unutar istog dana označene različitim slovom su značajne prema LSD testu (<sup>a,b,c</sup>  $P=0,05$ ); razlike između dana skladištenja za isto tkivo označene različitim slovom su značajne prema LSD testu (<sup>x,y,z</sup>  $P=0,05$ ).

Također, DPPH vrijednosti utvrđene nakon 1.-og, 7.-og i 14.-og dana se nisu značajno razlikovale, međutim bile su značajno niže u odnosu na kontrolu, odnosno uzorak lista analiziran na dan otkosa. U soku pšenične trave skladištenom pri -80 °C, najniža DPPH vrijednost je zabilježena 21.-og dana, a značajno najviša nakon 1.-og dana skladištenja. DPPH vrijednosti utvrđene u soku, pri -80 °C nakon 7.-og i 14.-og dana, se nisu značajno razlikovale od onih utvrđenih na dan otkosa.

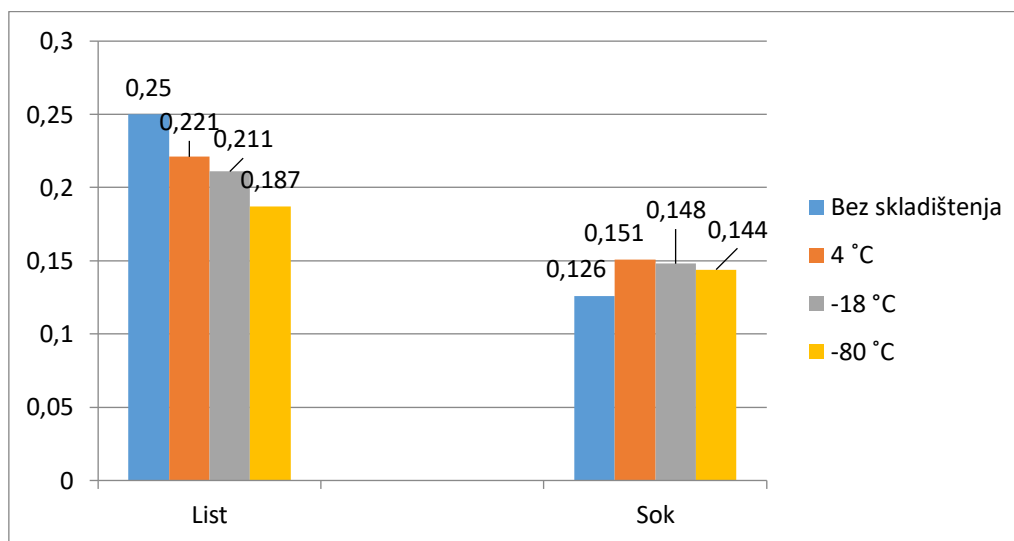
## 5. RASPRAVA

Antioksidativna aktivnost vrlo je bitan pokazatelj nutritivne vrijednosti neke namirnice, naročito s aspekta pozitivnog učinka na ljudsko zdravlje kroz neutralizaciju štetnih radikala koji se oslobađaju u staničnim procesima. Način, uvjeti i trajanje skladištenja u velikoj mjeri utječu na antioksidativni potencijal neke namirnice. Međutim, osim nutritivnog aspekta, jako je bitan i analitički aspekt, kod kojeg je vrlo bitno definirati način na koji će se pojedini uzorci čuvati do dana analiza, kako bi rezultati antioksidativne aktivnosti bili usporedivi.

S metodološkog stajališta DPPH i FRAP metode preporučuju se kao jednostavne i točne metode za mjerenje antioksidativne aktivnosti voćnih i povrtnih sokova ili ekstrakata. Gil i sur. (2000.) su istraživali antioksidativno djelovanje soka od šipka i korelaciju s fenolnim sastavom i načinom čuvanja uzorka. Antioksidativno djelovanje soka od šipka određeno je pomoću četiri različite metode (ABTS, DPPH, DMPD i FRAP) te su uspoređeni s crvenim vinom i zelenim čajem. Trgovački sokovi od šipka su pokazali tri puta veću antioksidacijsku aktivnost od crnog vina i zelenog čaja. Glavni antioksidativni spojevi u soku od šipka su tanini koji se mogu hidrolizirati, te antocijanini i derivati elaginske kiseline koji također doprinose ukupnom antioksidacijskom kapacitetu soka. Antioksidacijska aktivnost je bila niža u soku nakon smrzavanja što pokazuje da se tijekom postupka zamrzavanja neki antioksidativni spojevi razgrađuju ili transformiraju.

Guine i sur. (2014.) su istraživali utjecaj obrade i skladištenja na sadržaj fenola, koji su bitan izvor antioksidanasa, u voćnim sokovima. Istraživan je utjecaj toplinske pasterizacije, pulsirajućeg električnog polja, visokog tlaka, ultrazvuka, mikrovalova, mikrofiltracije, hlađenja i zamrzavanja na antioksidativna svojstva u voćnim sokovima. Aguilar-Rosas i sur. (2007.) su proučavali uobičajenu metodu visoke temperature za pasterizaciju jabučnog soka. Termička pasterizacija provedena je na 90 °C. Uočili su smanjenje sadržaja ukupnih fenolnih spojeva za oko 32 % u odnosu na netretirani sok. Sentandreu i sur. (2007.) izvijestili su da termička pasterizacija soka od naranče (90 °C u trajanju od 30 sekundi) ima zanemariv učinak na njegov sadržaj fenolnih tvari. Obrada pulsno električnog polja dovoljno je učinkovita za uništavanje mikroorganizama u voćnim sokovima bez značajne promjene njihovih prehrambenih svojstava (Agcam i sur., 2014.). Aguilar-Rosas i sur. (2007.) su proučavali tretman pulsiranim električnim poljima za pasterizaciju jabučnog soka. Zaključili su da ovaj tretman uzrokuje manje smanjenje

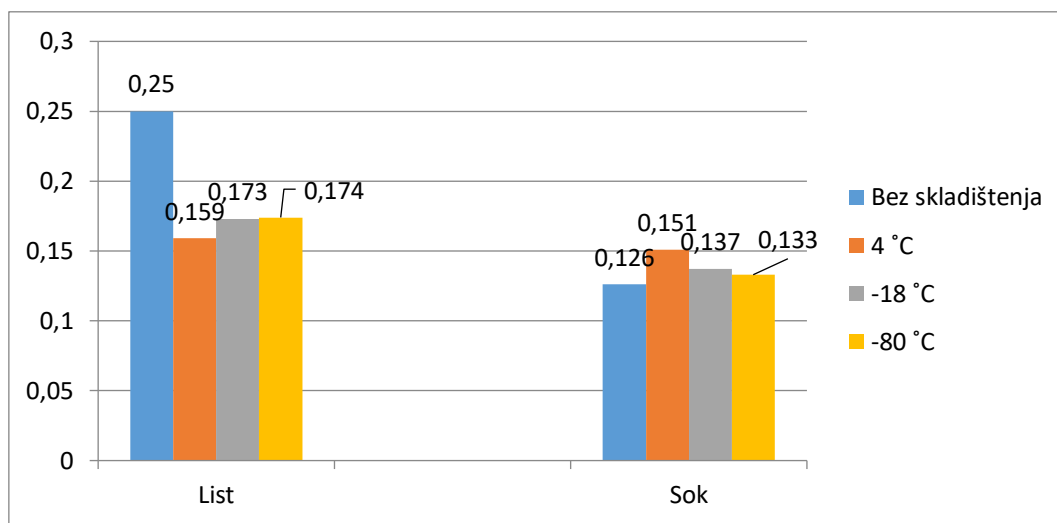
sadržaja fenolne kiseline u odnosu na konvencionalnu termičku pasterizaciju. Agcam i sur. (2014.) su proučavali obradu soka od naranče pulsni električnim poljima (PEF) i termičkom pasterizacijom s ciljem uspoređivanja promjena u sadržaju ukupnih fenola, hidroksibenzojeve kiseline, hidroksicinaminske kiseline i flavonona prije i nakon skladištenja na 4 °C u trajanju od 180 dana. Njihovi rezultati pokazuju da uzorci soka od naranče obrađeni uz primjenu visoke energije imaju veći sadržaj fenola od onih koji su obrađeni primjenom niske energije. Nije uočena značajna razlika u sadržajima etilnog estera galne kiseline između uzoraka tretiranih PEF ili toplinskom pasterizacijom. Općenito, tretirani uzorci soka od naranče imali su veći sadržaj fenolnih kiselina od netretiranih uzoraka. Fenolne kiseline nisu se mijenjale tijekom razdoblja skladištenja uzoraka tretiranih PEF-om, ali su se smanjivale s povećanim skladištenjem u slučaju uzoraka tretiranih toplinskom pasterizacijom (Agcam i sur., 2014.).



**Graf 1.** Značajnost utjecaja skladištenja tkiva (list, sok) i temperature skladištenja (bez skladištenja, 4 °C, -18 °C, -80 °C) na ukupnu antioksidativnu aktivnost (IC 50 %/ml SPT) u listu i soku pšenične trave nakon prvog dana.

U našem istraživanjima je utvrđena statistički značajna razlika u načinu skladištenja tkiva. List se pokazao stabilnijim i boljim za skladištenje, odnosno manji su gubici u antioksidativnoj vrijednosti u odnosu na sok. Značajna razlika je utvrđena i kod dužine trajanja skladištenja. Na dan otkosa i prvi dan skladištenja izmjerena je veća antioksidativna aktivnost u odnosu na 7., 14. i 21. dan. Sok je pokazao najmanju antioksidacijsku aktivnost kada je analiziran na dan otkosa, (0,126 IC 50 %/ml SPT), a najveću pri 4 °C nakon prvog dana skladištenja (0,151 IC 50

%/ml SPT). Nakon prvog dana skladištenja, u listu je utvrđen pravilan pad antioksidativne aktivnosti, proporcionalan sa sniženjem temperature skladištenja (Graf 1.).



**Graf 2.** Značajnost utjecaja skladištenja tkiva (list, sok) i temperature skladištenja (bez skladištenja, 4 °C, -18 °C, -80 °C) na ukupnu antioksidativnu aktivnost (IC 50 %/ml SPT) u listu i soku pšenične trave nakon četrnaest dana.

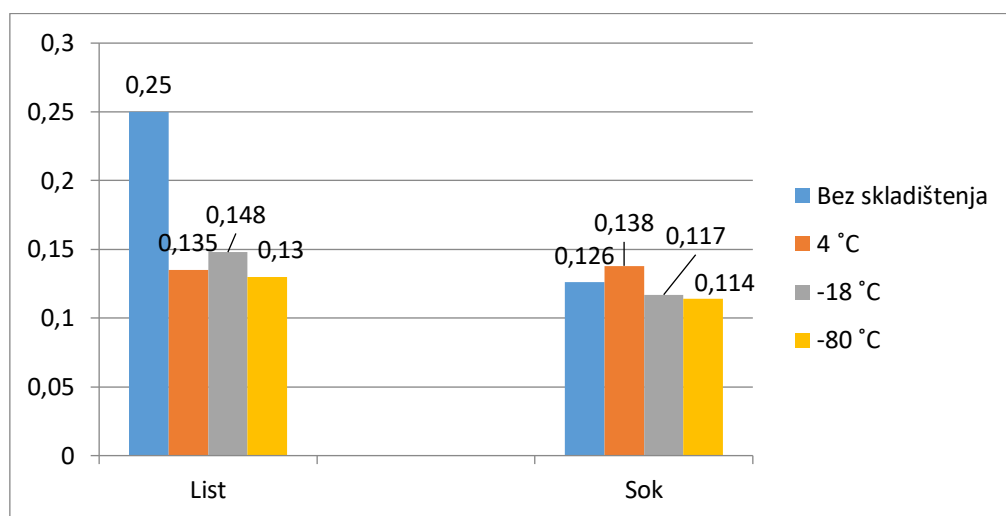
Nakon četrnaest dana kod lista pri 4 °C uočena je niža antioksidativna aktivnost u odnosu na ostale temperature skladištenja (Graf 2.).

Aadil i sur. (2013.) su proučavali učinke tretmana ultrazvukom na kvalitetu soka od grejpa, uključujući ukupnu antioksidacijsku sposobnost, aktivnost neutralizacije slobodnih radikala, ukupne fenole i flavonoide. Sok od grejpa je tretiran ultrazvučnim valovima na frekvenciji od 28 kHz održavanjem konstantne temperature od 20 °C. Rezultati eksperimenta pokazali su da je došlo do značajnog povećanja ukupnog antioksidacijskog kapaciteta, aktivnosti neutralizacije slobodnih radikala DPPH te sadržaja ukupnih fenolnih kiselina, flavonoida i flavonola u svim uzorcima soka soniciranim u trajanju od 30, 60 i 90 minuta. Ovi rezultati ukazuju da bi se tehnika ultrazvuka mogla uspješno primijeniti na industrijskoj razini za preradu soka od grejpa. Mikrofiltracija (MF) klasificirana je kao netermički postupak za preradu voćnih sokova. Smatra se da može osigurati bolje očuvanje fitokemijskih svojstava sokova. Laorko i sur. (2013.) su procjenjivali stabilnost fitokemijskih svojstava soka od ananasa tijekom skladištenja pri različitim temperaturama (4, 27 i 37 °C). Rezultati su otkrili da se većina fitokemijskih svojstava i topljivih sastojaka zadržala u soku nakon mikrofiltracije. No, fitokemijska svojstva i ukupni



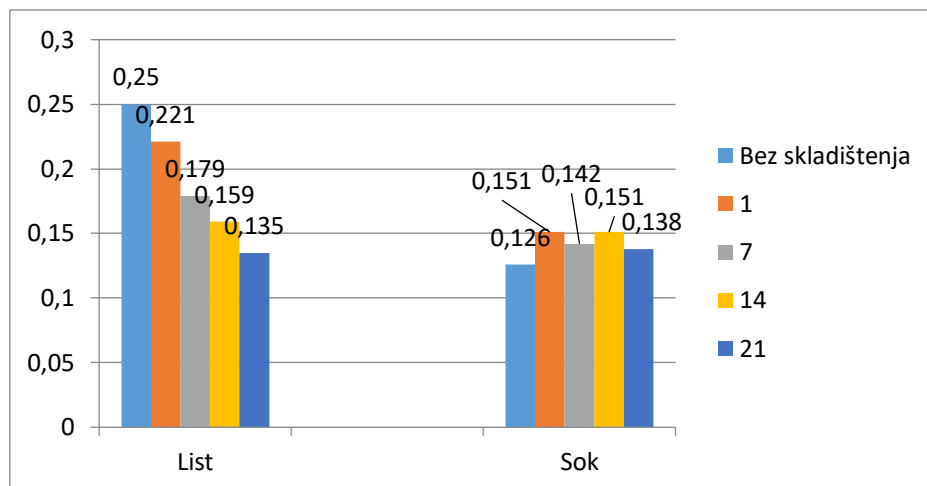
sadržaj fenola u soku značajno su se smanjivali kako se vrijeme skladištenja i temperatura povećavaju. Zaključili su da je čuvanje netermički pasteriziranog i pročišćenog soka od ananasa na 4 °C najprikkladnije.

U našem istraživanju i nakon 21. dana pri temperaturama čuvanja tkiva 4 °C i -80 °C nisu utvrđene značajne razlike u antioksidativnoj aktivnosti između soka i lista pšenične trave. Po rezultatima naših istraživanja najveće razlike u DPPH aktivnosti u soku i listu uočene su analizom na dan otkosa te nakon skladištenja od 24 sata. Nakon 21. dana, u prosjeku za sve temperature skladištenja, DPPH vrijednost se stabilizira te nema velikih razlika između soka i lista (Graf 3.).



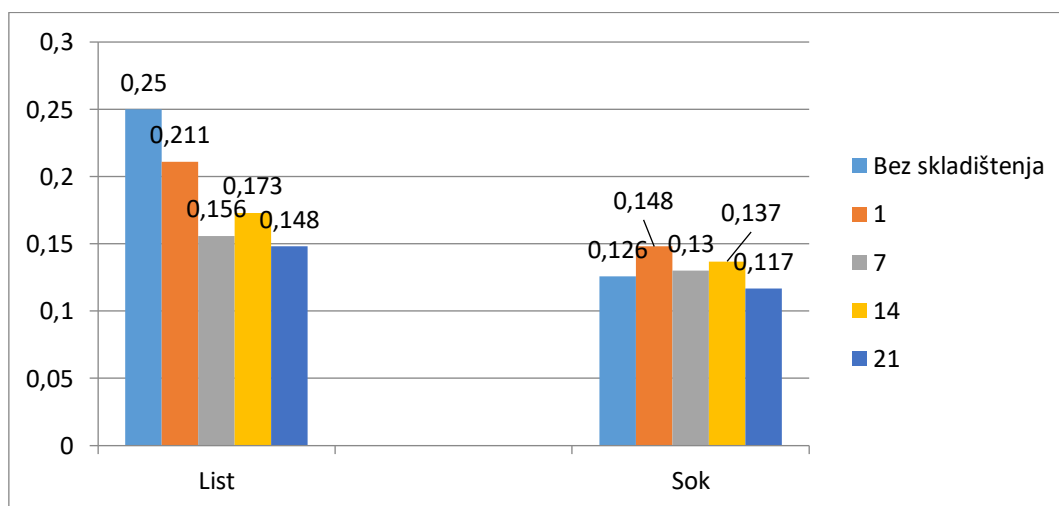
**Graf 3.** Značajnost utjecaja skladištenja tkiva (list, sok) i temperature skladištenja (bez skladištenja, 4 °C, -18 °C, -80 °C) na ukupnu antioksidativnu aktivnost (IC 50 %/ml SPT) u listu i soku trave nakon dvadesetprvog dana.

Skladištenjem lista, pri 4 °C u hladnjaku već prvi dan uočen je značajn pad antioksidativne aktivnosti (Graf 4.). Pad antioksidativne aktivnosti kod uzoraka lista skladištenih pri spomenutoj temperaturi je proporcionalan s dužinom trajanja skladištenja. Nasuport tome, skladištenjem soka pšenične trave došlo je do porasta DPPH vrijednosti u usporedbi sa uzorcima koji su analizirani na dan otkosa. Vrijednosti antioksidativne aktivnosti izmjerene u soku 21. dan otprilike su bile slične onima u listu nakon 14 dana skladištenja.



**Graf 4.** Utjecaj skladištenja tkiva (list, sok) i dužine trajanja skladištenja u danima (bez skladištenja, 1, 7, 14, 21) na antioksidativnu aktivnost (IC 50% / ml SPT) u listu i soku pšenične trave pri 4 °C.

Nakon sedmog dana skladištenja pri -18 °C zabilježen je značajan pad antioksidativne aktivnosti u listu pšenične trave te su ove vrijednosti bile slične onima utvrđenima 21. dan, (Graf 5.).

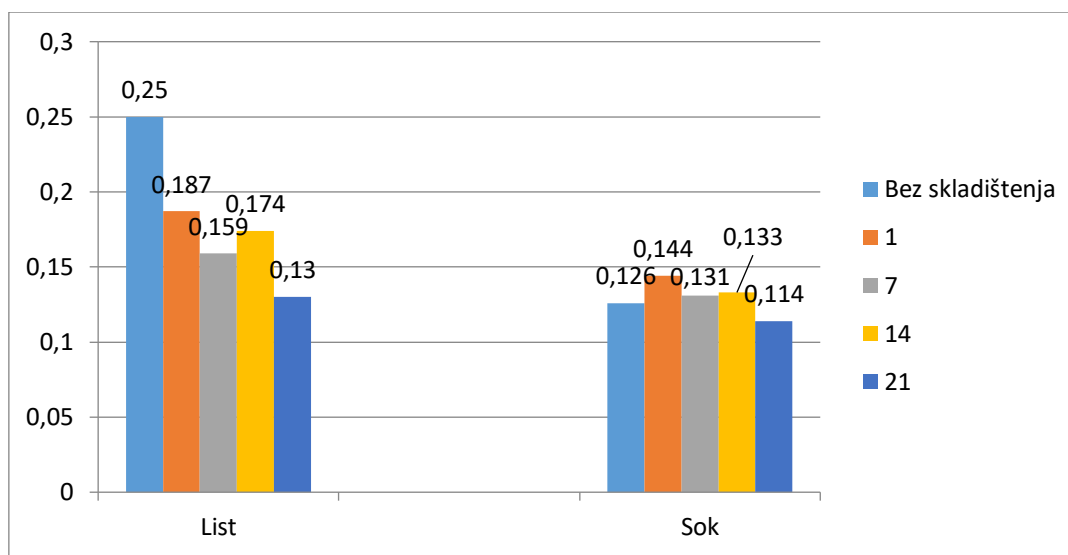


**Graf 5.** Utjecaj skladištenja tkiva (list, sok) i dužine trajanja skladištenja u danima (bez skladištenja, 1, 7, 14, 21) na antioksidativnu aktivnost (IC 50% / ml SPT) u listu i soku pšenične trave pri -18 °C.

Piljac-Žegarac i sur., 2009. su istraživali promjene u ukupnom udjelu fenola i antioksidacijskom kapacitetu u šest industrijskih sokova od tamnog voća tijekom 29 dana skladištenja u hladnjačama. Tijekom razdoblja svi sokovi su pokazali fluktuacije ukupnih fenola pokazujući

značajno povećanje nakon 48 sati u skladištu u hladnjaku. Pet od šest ispitivanih sokova pokazali su veći ukupni sadržaj fenola nakon 29 dana. Antioksidativni potencijal procijenjen je pomoću dvije metode: DPPH i TEAC. Sok od crnog ribizla je pokazao najveće vrijednosti TEAC-a i DPPH, dok su antioksidansi soka od brusnice pokazali najveću stabilnost skladištenja i najmanji pad antioksidanasa. Na kraju skladištenja od 29 dana pet od šest sokova pokazalo je značajan gubitak u antiradikalnoj aktivnosti te je svih šest sokova pokazalo značajan gubitak antioksidativnog kapaciteta po TEAC metodi.

Najčešće se temperatura od  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$  smatra prikladnom za skladištenje uzoraka tkiva koje se nakon kraćeg vremenskog perioda koristi za većinu molekularnih analiza. Naime, smatra se da se pri toj temperaturi enzimatski procesi sinteze i razgradnje odnosno modifikacije metabolita značajno usporavaju te se vrijednosti istraživanih molekularnih parametara ne bi trebale značajno razlikovati kroz period kraćeg skladištenja.



**Graf 6.** Utjecaj skladištenja tkiva (list, sok) i dužine trajanja skladištenja u danima (bez skladištenja, 1, 7, 14, 21) na antioksidativnu aktivnost (IC 50 %/ml SPT) u listu i soku pšenične trave pri  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

U našem istraživanju, skladištenjem uzoraka čak i pri  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$  je vidljiv je značajan pad antioksidativne aktivnosti u listu već nakon prvog dana skladištenja te se smanjivao s brojem dana skladištenja, (Graf 6.). Najniža utvrđena vrijednost 21. dan bila je slična onoj utvrđenoj u soku pšenične trave analiziranom na dan otkosa. Skladištenjem soka pri  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ , antioksidativna

aktivnost se čak povećala, međutim, i dalje je bila značajno niža od vrijednosti utvrđenih u tkivu lista, a najniža je utvrđena 21. dan, kao i kod tkiva lista.

Rizzolo i sur. (2003.) su proučavali antioksidativnu aktivnost te stabilnost antocijanina i topljivih fenola u soku od borovnice koji su bili zamrznuti i čuvani do šest mjeseci na -10, -20 i -30 °C. Temperatura skladištenja i vrijeme skladištenja utjecali su na sadržaj antocijana i topljivih fenola tako da su veće promjene nastale uslijed veće temperature i kraćeg skladištenja. Istraživanje pokazuje da se sadržaj antocijanina lagano smanjio tijekom skladištenja na -10 i -20 °C, ali ne i na -30 °C. Ukupni topljivi fenoli značajno su se povećavali s vremenom skladištenja na -10 °C i nisu se mijenjali na -30 °C. Autori navode da je smanjenje antioksidacijskog potencijala proporcionalno s dužinom trajanja skladištenja te da se tijekom skladištenja antioksidacijski kapacitet s vremenom troši.

## 6. ZAKLJUČAK

1. Rezultati istraživanja potvrđuju da se antioksidativni kapacitet vrlo brzo smanjuje u soku, pri bilo kojoj temperaturi skladištenja i bez obzira na dužinu trajanja.
2. S druge strane, u tkivu lista, antioksidacijski kapacitet je i nakon 24 sata čuvanja lista nepromijenjen čak i pri 4 °C.
3. U tkivu lista dolazi do opadanja DPPH aktivnosti nakon 7 dana čuvanja u usporedbi s kontrolom, međutim, nakon 7. pa do 21. dana nema više značajnog pada DPPH vrijednosti.
4. S nutritivnog aspekta i količine antioksidanasa koju unosimo, najzdravije je konzumirati svježi list na dan otkosa.
5. Već pripremom soka pšenične trave, DPPH vrijednost pada, a razlog može biti trošenje antioksidanasa uslijed razaranja staničnih membrana te promjene oksidoreduktivnog potencijala izazvanog padom pH vrijednosti.
6. S analitičkog aspekta, ukoliko skladištimo uzorak, najbolje je čuvati list pri nižim temperaturama, te raditi analize najkasnije nakon jednog dana ili od 7.-og do 21.-og dana kada nema značajnih razlika u DPPH vrijednosti, ukoliko je list čuvan pri -80 °C.

## 7. LITERATURA

1. Aadil, R. M., Zeng, X.-A., Han, Z., Sun, D.-W. (2013.): Effects of ultrasound treatments on quality of grapefruit juice. *Food Chemistry*, 141(3), 3201–3206.
2. Agcam, E., Akyıldız, A., Akdemir Evrendilek, G. (2014.): Comparison of phenolic compounds of orange juice processed by pulsed electric fields (PEF) and conventional thermal pasteurisation. *Food Chemistry*, 143, 354–361.
3. Aguilar-Rosas, S. F., Ballinas-Casarrubias, M. L., Nevarez-Moorillon, G. V., Martin-Belloso, O., Ortega-Rivas, E. (2007.): Thermal and pulsed electric fields pasteurization of apple juice: Effects on physicochemical properties and flavour compounds. *Journal of Food Engineering*, 83(1), 41–46.
4. Akbas, E., Kilercioglu, M., Onder, O. N., Koker, A., Soyler, B., Oztop, M. H. (2017.): Wheatgrass juice to wheat grass powder: Encapsulation, physical and chemical characterization. *Journal of Functional Foods*, 28, 19-27.
5. Amić, D. (2008.): *Organska kemija za studente agronomske struke*. Školska knjiga d.d., Zagreb.
6. Alesiani, D., Canini, A., D'Abrosca, B., DellaGreca, M., Fiorentino, A., Mastellone, C., Monaco, P., Pacifico, S. (2010.): Antioxidant and antiproliferative activities of phytochemicals from Quince (*Cydonia vulgaris*) peels. *Food Chem.* 118:199–207.
7. Aydos, O., Avci, A., Ozkan, T., Karadag, A., Gurleyik, E. (2011.): Antiproliferative, apoptotic and antioxidant activities of wheatgrass (*Triticum aestivum* L.) extract on CML (K562) cell line. *Turkish Journal of. Medical Science*, 41(4), 657–663.
8. Balentine, D. A. (1992.): Manufacturing and Chemistry of Tea. In *Phenolics Compounds in Food and Their Effects of Health*; Tang, H. C., Chang, Y. L., Tuan, H. H., Eds.; American Chemical Society: Washington, DC, Vol. 1, Chapter 8.
9. Barlow, S. M. (1990.): Toxicological aspects of antioxidants used as food additives. In *Food Antioxidants*, Hudson B.J.F. (ed.) Elsevier, London, pp 253-307.
10. Benzie, I. F. F., Strain, J. J. (1996.): The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “Antioxidant Power”: the FRAP assay. *Anal Biochem*, 239, 70–76.
11. Benzie, I. F. F., Szeto, Y. T. (1999.): Total antioxidant capacity of teas by the ferric reducing/antioxidant power assay. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47(2), 633-636.

12. Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., Berset, C. (1995.): Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food Science and Technology*, 28(1), 25-30.
13. Branen, A. L. (1975.): Toxicology and biochemistry of butylated hydroxyanisol and butylated hydroxytoluene. *J. American Oil Chemists Society* 5: 59- 63.
14. Cai, Y. Z., Luo, Q., Sun, M., Corke, H. (2004.): Antioxidant activity and phenolic compounds of 112 Chinese medicinal plants associated with anticancer. *Life Sci* 74, 2157–2184.
15. Cao, G. H., Alessio, H. M., Buettner, G. R. (1993.): Oxygen-radical absorbance capacity assay for antioxidants. *Free Radic Biol Med* 14, 639–655.
16. Cao, G., Sofic, E., Prior, R. L. (1996.): Antioxidant capacity of tea and common vegetables. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 44(11), 3426-3431.
17. Cao, Y., Cao, R. (1999.): Angiogenesis inhibited by drinking tea. *Nature* 398:381-381.
18. Chatha, S. A. S., Anwar, F., Manzoor, M., Bajwa, J. R. (2006.): Evaluation of the antioxidant activity of rice bran extracts using different antioxidant assays. *Grasas Aceites Sevilla*. 57: 328-335.
19. Chauhan M. (2014.): A pilot study on wheat grass juice for its phytochemical, nutritional and therapeutic potential on chronic diseases. *International Journal of Chemistry Studies* 2(4):27–34.
20. Chen, J. H., Ho, C. T. (1997.): Antioxidant activities of caffeic acid and its related hydroxycinnamic acid compounds. *J. Agric. Food Chem.* 45, 2374-2378.
21. Cook, N., Samman, S. (1996.): Flavonoids-chemistry, metabolism, cardio protective effects, and dietary sources. *J. Nutr. Biochem.* 7, 66-76.
22. Donner, H., Mazza, G., Gao, L. (1996.): Identification of anthocyanins and colorless phenolics in onions. Paper presented at the 38th Annual Conference on CIFST, Halifax, NS, Canada, July 7-11.
23. Duthie, S. J. (2007.): Berry phytochemicals, genomic stability and cancer: Evidence for chemoprotection at several stages in the carcinogenic process. *Mol Nutr Food Res.* 51:665- 674.
24. Eberhardt, M. V., Lee, C. Y., Liu, R. H. (2000.): Antioxidant activity of fresh apples. *Nature* 405:903–904.

25. Emerit, I. (1994.): Reactive oxygen species, chromosome mutation and cancer: possible role of clastogenic factors in carcinogenesis. *Free Radical Biol. Med.* 16, 99-109.
26. Folin, O., Ciocalteu, V. (1927.): On tyrosine and tryptophan determinations in proteins, *J. Biolo. Chem.* 73, 627 – 650
27. Gao, L., Mazza, G. (1995.): Quantitation and distribution of simple and acylated anthocyanins and other phenolics in blueberries. *J. Food Sci.*, 59, 1057-1059.
28. Gil, M. I., Ferreres, F., Tomás-Barberán, F. A. (1999.): Effect of postharvest storage and processing on the antioxidant constituents (flavonoids and vitamin C) of fresh cut spinach. *J Agric Food Chem* 47:2213–7.
29. Gil, M. I., Tomas-Barberan, F. A., Hess-Pierce, B., Holcroft, D. M., Kader, A. A. (2000.): Antioxidant activity of pomegranate juice and its relationship with phenolic composition and processing. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 48(10), 4581-4589.
30. Guine, R. P., Barroca, M. J. (2014.): Influence of processing and storage on fruit juices phenolic compounds. *International Journal of Medical and Biological Frontiers*, vol.20(1), ISSN: 1081-3829.
31. Hakkinen, S. H., Mykkanen, H. M., Karenlampi, S. O., Torronen, A. R. (1998.): Phenolic profiles in Finnish berries. *Cost 916 1st Workshop: Polyphenols in Food*, April 1997; Office for Official Publications of the European Communities: Luxembourg.
32. Halliwell, B. (1996.): Oxidative stress, nutrition and health. Experimental strategies for optimization of nutritional antioxidant intake in human. *Free Radical Res.* 25, 57-74.
33. Halvorsen, B. L., Holte, K., Myhrstad, M. C. W., Barikmo, I., Hvattum, E., Remberg, S. F., Wold, A., Haffner, K., Baugerød, H., Andersen, L. F., Moskaug, J. Ø., Jacobs, D. R., Blomhoff, R. (2002.): A systematic screening of total antioxidants in dietary plants. *J Nutr* 132: 461-471.
34. Hanninen, O., Rauma, A., Kaartinen, K., Nenonen, M. (1999.): Vegan diet in physiological health promotion. *Acta Physiologica Hungarica*, 86(3–4), 171–180.
35. Hou, D. X. (2003.): Potential mechanism for cancer chemoprevention by anthocyanine. *Current Advancements in Molecular Medicines*.3: 149-159.
36. Howard, L. A., Wong, A. D., Perry, A. K., Klein, B. P. (1999.):  $\beta$ -carotene and ascorbic acid retention in fresh and processed vegetables. *J Food Sci* 64:929–36.



37. Huang, W. Y., Zhang, H. C., Liu, W. X., Li, C. Y. (2012.): Survey of antioxidant capacity and phenolic composition of blueberry, blackberry and strawberry in Nanjing. *J Zhejiang Univ Sci B*. 2012 Feb;13(2):94-102.
38. Hunter, J., Fletcher, J. M. (2002.): The antioxidant activity of fresh, frozen, jarred and canned vegetables. *Innov Food Sci Emerg Technol* 3:399–406.
39. Iqbal, S., Bhangar, M. I., Anwar, F. (2005.): Antioxidant properties and components of some commercially available varieties of rice bran in Pakistan. *Food Chemistry*, 93: 265-272.
40. Iyad, A., Jaradat, N. A., Zaid, A. N., Mohammad, Q., Dwaik, D., Aqel, G. (2017.): Processing and storage influence on scavenging activity of fruit juices. *Marmara Pharmaceutical Journal* 21/2: 298-304.
41. Jadhav, H. R., Bhutani, K. K. (2002.): Antioxidant properties of Indian medicinal plants. *Phytother Res*, 16, 771–773.
42. Jimenez-Escrig, A., Jimenez-Jimenez, I., Pulido, R., Saura-Calixto, F. (2001.): Antioxidant activity of fresh and processed edible seaweeds. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 81(5), 530-534.
43. Joshipura, K. J., Hu, F. B., Manson, J. E., Stampfer, M. J., Rimm, E. B., Speizer, F. E., Colditz, G., Ascherio, A., Rosner, B., Spiegelman, D., Willett, W. C. (2001.): The effect of the fruit and vegetable intake on risk for coronary disease. *Ann Intern Med*. 143:1106-1114.
44. Juranić, Z., Zizak, Z., Tasic, S., Petrovic, S., Nidzovic, S., Lepasovic, A., Stanojkovic, T. (2005.): Antiproliferative action of water extracts of seeds or pulp of five different raspberry cultivars. *Food Chem*. 93:39-45.
45. Kahkonen, M. P., Hopia, A. I., Vuorela, H. J., Rauha, J. P., Pihlaja, K., Kujala, T. S., Heinonen, M. (1999.): Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47(10), 3954-3962.
46. Kalt, W. (2005.): Effects of production and processing factors on major fruit and vegetable antioxidants. *Journal of Food Science*, 70(1), R11-R19.
47. Kardas, T. A., Durucasu, I. (2014.): A new analytical method for the determination of phenolic compounds and their antioxidant activities in different wheat grass varieties. *Article in Ekoloji* 23(90): 73-80.

48. Knez, M. (2014.): Antioksidansi. Diplomski rad, Odjel za kemiju, Osijek, 738925.
49. Kulkarni, S. D., Tilak, J. C., Acharya, R., Rajurkar, N. S., Devasagayam, T. P. A., Reddy, A. V. R. (2006.): Evaluation of the antioxidant activity of wheatgrass (*Triticum aestivum* L.) as a function of growth under different conditions. *Phytotherapy Research*, 20(3), 218-227.
50. Laorko, A., Tongchitpakdee, S., Youravong, W. (2013.): Storage quality of pineapple juice non-thermally pasteurized and clarified by microfiltration. *Journal of Food Engineering*, 116(2), 554–561.
51. Macheix, J. J., Fleurient, A., Billot, J. (1990.): Phenolics compounds in fruit processing. In: Mitra S (ed) *Fruit phenolic*. CRC Press, Boca Raton, FL, USA.
52. Manach, C., Scalbert, A., Morand, C., Remesy, C., Jimenez, L. (2004.): Polyphenols: food sources and bioavailability. *Am J Clin Nutr*. 79:727-747.
53. Matić, M. (2015.): Utjecaj različitih načina skladištenja na antioksidacijsku aktivnost u voću. Sveučilište J.J.Strossmayera u Osijeku, Odjel za biologiju.
54. Maxwell, S. R. J., Lip, G. Y. H. (1997.): Free radicals and antioxidants in cardiovascular disease. *Br. J. Clin. Pharmacol*. 44, 307-317.
55. Meyer, A. S., Donovan, J. L., Pearson, D. A., Waterhouse, A. I., Frankel, E. N. (1998.): Fruit hydroxycinnamic acids inhibit human low-density lipoprotein oxidation in vitro. *J. Agric. Food Chem*. 46, 1783-1787.
56. Meyerowitz, S. (1999.): *Wheatgrass: nature's finest medicine: the complete guide to using grasses to revitalize your health*, Po Box 99, Summertown, Sproutman Publications PO Box 1100, Great Barrington. United States of America.
57. Miletić, N., Popović, B., Mitrović, O., Kandić, M. (2012.): Phenolic content and antioxidant capacity of fruits of plum cv. "Stanley" (*Prunus domestica* L.) as influenced by maturity stage and on-tree ripening. *Australian Journal of crop science*. 6(4):681-687.
58. Netzel, M., Strass, G., Kaul, C., Bitsch, I., Dietrich, H., Bitsch, R. (2002.): In vivo antioxidative capacity of a composite berry juice. *Food Research International*, 35(2-3), 213-216.
59. Nicoli, M., Anese, M., Parpinel, M. (1999.): Influence of processing on the antioxidant properties of fruit and vegetables. *Trends in food science and technology*, 10(3), 94-100.

60. Ogutu F. O., Makori S. I., Maringa C. W., Lemtukei D., Okiko G., Luvita S. (2017.): Wheat Grass: Andrijana Rebecić, Sanja Grubišić, Vedran Orkić, Sunčica Guberac, Miroslav Lisjak, Katarina Mišković, Session 3. Genetics, Plant Breeding and Seed Production 213 Functional Food. Food Science and Quality Management 65:33–38.
61. Ozkose, A., Arslan, D., Acar, A. (2016.): The comparison of the chemical composition, sensory, phenolic and antioxidant properties of juices from different wheatgrass and turfgrass species. Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca, 44(2), 499.
62. Pandey, K. B., Rizvi, S. I. (2009.): Plant polyphenols as dietary antioxidants in human health and disease. Oxidative Medicine and Cellular Longevity 2, 270-278.
63. Parit, S. B., Dawkar, V. V., Tanpure, R. S., Pai, S. R., Chougale, A. D. (2018.): Nutritional quality and antioxidant activity of wheatgrass (*Triticum aestivum*) un-wrap by proteome profiling and DPPH and FRAP assays. Journal of Food Science, 83(8), 2127-2139.
64. Pietta, P., Simonetti, P., Mauri, P. (1998.): Antioxidant activity of selected medicinal plants. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 46(11), 4487-4490.
65. Piljac-Žegarac, J., Valek, L., Martinez, S., Belščak, A. (2009.): Fluctuations in the phenolic content and antioxidant capacity of dark fruit juices in refrigerated storage. Food Chemistry, 113(2), 394–400.
66. Polshettiwar, S., Khorate, S. S. (2016.): Triticum aestivum – A green gold. World J. Pharm.pharmaceut, sci.
67. Pospišil, M., Pospišil, A., Butorac, J., Gunjača, J., Brčić, M. (2010.): Utjecaj roka sjetve na prinos uljane repice. U: Marić, S., Lončarić, Z. (ur.) Zbornik radova 45. hrvatski I 5. međunarodni simpozij agronoma. Poljoprivredni fakultet Sveučilišta Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, 15.-19. veljače 2010., Opatija, str. 888.-891.
68. Pourmorad, F., Hosseinimehr, S. J., Shahabimajd, N. (2006.): Antioxidant activity, phenol and flavonoid contents of some selected Iranian medicinal plants. Afr J Biotechnol. 5(11): 1142-1145.
69. Prior, R. L. (2004.): Absorption and metabolism of anthocyanine: potential health effects. In Meskin, M., Bidlack, W.R., Devies, A. J., Lewis, D. S., Randolph, R. K.: Phytochemicals: mechanism of action (pp 1-9). Boca Raton, FL: CRC Press.

70. Pulido, R., Bravo, L., Saura-Calixto, F. (2000.): Antioxidant activity of dietary polyphenols as determined by a modified ferric reducing/ antioxidant power assay. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(8), 3396-3402.
71. Puupponen-Pimiä, R., Häkkinen, S. T., Aarni, M., Suortti, T., Lampi, A. M., Euroola, M., Piironen, V., Nuutila, A. M., Oksman-Caldentey, K. M. (2003.): Blanching and long-te freezing affect various bioactive compounds of vegetables in different ways. *J Sci Food Agric* 83:1389–1402.
72. Rana, S., Kamboj, J. K., Gandhi, V. (2011.): Living Life the natural way: Wheatgrass and health. *Function foods health dis.*, 9, 444-456.
73. Rana, S., Dixit, S., Mittal, A. (2017.): Mini-Review Anticancer Effects of Chemotherapy and Nature Products. *Journal of Medical Discovery* 2(22):17008–17008.
74. Rebekić, A., Lisjak, M., Mišković Špoljarić, K., Guberac, S., Orkić, V., Grubišić, S., Kristić, M. (2018.): Genotipska specifičnost pšenične trave (*Triticum aestivum* L.) visokonutritivnog prirodnog dodatka prehrani. *Fakultet agrobiotehničkih znanosti Osijek*.
75. Rebekić, A., Grubišić, S., Orkić, V., Guberac, S., Lisjak, M., Mišković, K. (2019.): Wheatgrass (*Triticum aestivum* L.) – natural food supplement. Review article, 54th Croatian & 14th International Symposium on Agriculture, February 17-22, Vodice.
76. Rizzolo, A., Nani, R. C., Viscardi, D., Bertolo, G., Torreggiani, D. (2003.): Modification of glass transition temperature through carbohydrates addition and anthocyanin and soluble phenol stability of frozen blueberry juices. *Journal of Food Engineering*, 56(2–3), 229–231.
77. Saini, A., Sinha, S., Singh, J. (2017.): Comparison of polyphenols, flavonoids, antioxidant and free radical scavenging content of freeze dried wheatgrass extract from three different wheat species. *International Journal of applied biology and pharmaceutical technology*, 8,1,10.21276.
78. Schnabel, C. (1935.): “The biologic value of high protein cereal grasses.” Paper presented to the biologic section of the American Chemical Society in New York, April 22, 1935.
79. Schuler, P. (1990.): Natural antioxidants exploited commercially, In *Food Antioxidants*, Hudson BJB (ed.). Elsevier, London, pp 99-170.

80. Scott, B. C., Butler, J., Halliwell, B., Aruoma, O. I. (1993.): Evaluation of the antioxidant actions of ferulic acid and catechins. *Free Radical Res. Commun.* 19, 241-253.
81. Seibold, R. L. (2003.): Cereal grass: What's in it for you! The importance of Wheat Grass, Barley Grass and other green vegetables in the human diet. Pines International, ISBN 0-9628126-0-9.
82. Seal, T. (2014.): Antioxidant activities of some wild vegetables of north-eastern region in India and effect of solvent extraction system. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, vol 6, ISSN-0975-1491.
83. Sentandreu, E., Navarro, J. L., Sendra, J. M. (2007.): Effect of technological processes and storage on flavonoids content and total, cumulative fast-kinetics and cumulative slow-kinetics antiradical activities of citrus juices. *European Food Research and Technology*, 225(5-6), 905–912.
84. Shahidi, F. (1997.b): Natural antioxidants: An over view. In: F. Shahidi (Ed.), *Natural antioxidant, Chemistry, Health Effects and Applications*, (pp. 44-46). Champaign, IL, USA: AOCS press.
85. Sharma S., Shrivastav V. K., Shrivastav A., Shrivastav B. (2013.): Therapeutic potential of wheatgrass (*Triticum aestivum* Linn) for the treatment of chronic diseases. *South Asian Journal of Experimental Biology* 3(6):308–313.
86. Sharma, S., Shrivastav, V. K., Shrivastav, A., Shrivastav, B. R. (2013.): Therapeutic potential of wheatgrass (*Triticum aestivum*) against oxidative stress by platinum containing drugs during cancer chemotherapy: A future prospective. *International Ayurvedic Medical Journal*, Indija. ISSN: 2320 5091.
87. Shi, J., le Maguer, M. (2000.): Lycopene in tomatoes: Chemical and physical properties affected by food processing. *Crit Rev Food Sci Nutr* 40:1–42.
88. Singh N., Verma P. Pandey B. R. (2012.): Therapeutic Potential of Organic *Triticum aestivum* Linn. (Wheat Grass) in Prevention and Treatment of Chronic Diseases: An Overview. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Drug Research* 4(1):10–14.
89. Singhal, A., Kumari, S., Raghavendra, R. S., Kumar, S., Rajendran, N. (2012.): Wheatgrass: an alternative household nutritional food security. Research article, *International research journal of pharmacy*, 3 (7).

90. Skoczylas, Ł., Korus, A., Tabaszewska, M., Gędoś, K., Szczepańska, E. (2018.): Evaluation of the quality of fresh and frozen wheatgrass juices depending on the time of grass harvest. *Journal of Food Processing and Preservation* 42(1):1–8.
91. Skrede, G., Wrolstad, R. E., Durst, R. W. (2000.): Changes in anthocyanins and polyphenolics during juice processing of highbush blueberries (*Vaccinium corymbosum* L.). *J Food Sci* 65:357–64.
92. Stensvold, I., Tverdal, A., Solvoll, K., Foss, O. P. (1992.): Tea consumption. Relationship to cholesterol, blood pressure, and coronary and total mortality. *Prev. Med.* 1992, 21, 546-553.
93. Stojevski, D. (2014.): Najčešći polifenoli iz prehrane i njihovo protutumorsko djelovanje. Seminarski rad, Biološki odsjek, Prirodoslovno-matematički fakultet, Sveučilište u Zagrebu.
94. Szeto, Y. T., Tomlinson, B., Benzie, I. F. F. (2002.): Total antioxidant and ascorbic acid content of fresh fruits and vegetables: implications for dietary planning and food preservation. *Br J Nutr* 87: 55-59.
95. Tandon, S., Arora, A. (2011.): Antioxidant Profiling of *Triticum aestivum* (wheatgrass) and its Antiproliferative Activity In MCF-7 Breast Cancer Cell Line. *Journal of Pharmacy* 4(12):4601– 4604.
96. Tsuda, T., Watanabe, M., Ohshima, K., Norinobu, S., Choi, S.-W., Kawakishi, S., Osawa, T. (1994.a): Antioxidative activity of anthocyanin pigments cyanidin 3-O- $\beta$ -D-glucoside and cyanidin. *J. Agric. Food Chem.* 42, 2407-2410.
97. Tsuda, T., Ohshima, K., Kawakishi, S., Osawa, T. (1994.b): Antioxidative pigments isolated from the seeds of *Phaseolus vulgaris* L. *J. Agric. Food Chem.* 42, 248-251.
98. Van der Sluis, A. A., Dekker, M., Jager, A., Jongen, W. M. F. (2001.): Activity and concentration of polyphenolic antioxidants in apple: effect of cultivar, harvest year and storage condition. *Journal of Agricultural and food chemistry*, 49(8), 3606-3613.
99. Velioglu, Y. S., Mazza, G., Gao, L., Oomah, B. D. (1998.): Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits, vegetables and grain products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46(10), 4113-4117.
100. Wang, H., Cao, G., Prior, R. L. (1996.): Total Antioxidant Capacity of Fruits. *J Agric Food Chem* 44: 701-705.

101. Wang, H., Cao, G. H., Prior, R. L. (1997.): Oxygen radical absorbing capacity of anthocyanins. *J. Agric. Food Chem.* 45, 304-309.
102. Wang, S. Y. (2007.): Antioxidant capacity and phenolic content of berry fruits as affected by genotype, preharvest conditions, maturity, and postharvest handling. U: *Berry fruits*. CRC Press 147-186 pp.
103. Waterhouse, A. L., Walzem, R. L. (1998.): Nutrition of grape phenolics. In: Watkins TR, editor. *Flavonoids in health and disease*. Washington, D.C.: American Chem Soc. p 359–85.
104. Weisbuger, J. H. (1996.): Tea Antioxidants and health. In *Handbook of Antioxidants*; Cadenas, E., Packer, L., Eds.; Dekker: New York, Chapter 15.
105. Wiseman, S. A., Balentine, D. A., Frei, B. (1997.): Antioxidants in tea. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 37, 705-718.
106. Yang, F., Basu, T. K., Ooraikul, B. (2001.): Studies on germination conditions and antioxidant content of wheatgrass. *Int J Food Sci Nutr* 52: 319–330.
107. Zhao, B., Li, X., He, R., Cheng, S., Wenjuan, X. (1989.): Scavenging effect of extracts of green tea and natural antioxidants on active oxygen radicals. *Cell Biophys.* 14, 175-185.

## 8. SAŽETAK

Pšenična trava predstavlja mlade izdanke vrsta roda *Triticum* koji u velikim količinama sadrže klorofil, bioflavonoide, esencijalne aminokiseline, vitamine, minerale i antioksidanse. Prirodni antioksidansi su vitamin C i E, karotenoidi, flavonoidi antocijanini, betanini te polifenolni spojevi koji su široko rasprostranjeni u biljnom svijetu. Cilj istraživanja je bio utvrditi da li način čuvanja pšenične trave i dužina trajanja skladištenja značajnu utječu na promjenu antioksidativnog kapaciteta u soku, odnosno listu pšenične trave divljeg srodnika *Triticum aestivum ssp. sphaerococcum*. Antioksidativna aktivnost u uzorcima ekstrakta soka i u tkivu lista, mjerena je odmah nakon otkosa te nakon čuvanja pri tri različite temperature (4 °C, -18 °C, -80 °C) nakon 1., 7., 14. i 21. dana skladištenja. Rezultati istraživanja potvrđuju da se antioksidativni kapacitet vrlo brzo smanjuje u soku, pri bilo kojoj temperaturi skladištenja i bez obzira na dužinu trajanja. S druge strane, u tkivu lista, antioksidacijski kapacitet je i nakon 24 sata čuvanja lista nepromijenjen čak i pri 4 °C. U tkivu lista dolazi do opadanja DPPH aktivnosti nakon 7 dana čuvanja u usporedbi s kontrolom međutim, nakon 7. pa do 21. dana nema više značajnog pada DPPH vrijednosti. S nutritivnog aspekta i količine antioksidanasa koju unosimo, najzdravije je konzumirati svježi list na dan otkosa. Već pripremom soka pšenične trave, DPPH vrijednost pada, a razlog može biti trošenje antioksidanasa uslijed razaranja staničnih membrana te promjene oksidoreduktivnog potencijala izazvanog padom pH vrijednosti. S analitičkog aspekta, ukoliko skladištimo uzorak, najbolje je čuvati list pri nižim temperaturama, te raditi analize najkasnije nakon jednog dana.

Ključne riječi: pšenična trava, antioksidativna aktivnost, skladištenje, temperatura, DPPH



## 9. SUMMARY

Wheat grass is a young shoot of the *Triticum* genus, which in large quantities contains chlorophyll, bioflavonoids, essential amino acids, vitamins, minerals and antioxidants. Natural antioxidants are vitamin C and E, carotenoids, flavonoids anthocyanins, betanins, and polyphenolic compounds that are widespread in the plant world. The aim of the study was to determine whether the storage of wheat grass and the length of storage significantly influence the change in antioxidant capacity in the juice or leaf of wheat grass of the wild relative *Triticum aestivum* ssp. *sphaerococcum*. Antioxidant activity in juice extracts and leaf tissue was measured immediately after harvesting and after storage at three different temperatures (4°C, -18°C, -80°C) after 1, 7, 14 and 21 days of storage. The results of the study confirm that antioxidant capacity decreases very rapidly in juice, at any storage temperature and regardless of the length of time. On the other hand, in leaf tissue, the antioxidant capacity remains unchanged even at 4°C after 24 hours of storage. In leaf tissue, DPPH activity declines after 7 days of storage compared to control, however, there is no significant decrease in DPPH values between 7<sup>th</sup> and 21<sup>st</sup> day of storage. From the nutritional point of view and the amount of antioxidants we ingest, it is healthiest to consume fresh leaf on the day of harvest. Already by the preparation of the wheatgrass juice, the DPPH value falls, and the reason may be the depletion of antioxidants due to the destruction of cell membranes and the change in the oxidoreductive potential caused by the drop in pH. From the analytical point of view, if we are storing the sample, it is best to store the leaf at lower temperatures and to do the analyzes no later than one day after harvest.

Keywords: wheat grass, antioxidant activity, storage, temperature, DPPH

## 10. POPIS TABLICA

**Tablica 1.** Sistematika pšenice (Seibold, 2003.) (Stranica 1)

**Tablica 2.** Usporedba pšenične trave i pšenice (Seibold, 2003.) (Stranica 4)

**Tablica 3.** Standardi za izradu baždarne krivulje (Stranica 24)

**Tablica 4.** Značajnost utjecaja perioda skladištenja (0, 1, 7, 14, 21 dan) i načina čuvanja tkiva (sok, list) i njihove interakcije na ukupni antioksidacijski kapacitet (IC 50 %/ml SPT) kod pšenične trave, po varijantama temperature skladištenja (4 °C, -18 °C, -80 °C) (Stranica 26)

**Tablica 5.** Značajnost utjecaja perioda temperature skladištenja (20 °C, 4 °C, -18 C, -80 C) i načina čuvanja tkiva (sok, list) i njihove interakcije na ukupni antioksidacijski kapacitet (IC 50 %/ml SPT) kod pšenične trave, po varijantama trajanja skladištenja (0, 1, 7, 14, 21 dan) (Stranica 27)

**Tablica 6.** Značajnost utjecaja skladištenja tkiva (list, sok) i temperature skladištenja (bez skladištenja, 4 °C, -18 °C, -80 °C) na ukupnu antioksidativnu aktivnost (IC 50 %/ml SPT) kod pšenične trave nakon prvog dana (Stranica 28)

**Tablica 7.** Značajnost utjecaja skladištenja tkiva (list, sok) i temperature skladištenja (bez skladištenja, 4 °C, -18 °C, -80 °C) na ukupnu antioksidativnu aktivnost (IC 50 %/ml SPT) kod pšenične trave nakon sedmog dana (Stranica 29)

**Tablica 8.** Značajnost utjecaja skladištenja tkiva (list, sok) i temperature skladištenja (bez skladištenja, 4 °C, -18 °C, -80 °C) na ukupnu antioksidativnu aktivnost (IC 50 %/ml SPT) kod pšenične trave nakon četrnaest dana (Stranica 29)

**Tablica 9.** Značajnost utjecaja skladištenja tkiva (list, sok) i temperature skladištenja (bez skladištenja, 4 °C, -18 °C, -80 °C) na ukupnu antioksidativnu aktivnost (IC 50 %/ml SPT) kod pšenične trave nakon dvadesetprvog dana (Stranica 30)

**Tablica 10.** Utjecaj skladištenja tkiva (list, sok) i dužine trajanja skladištenja u danima (bez skladištenja, 1, 7, 14 21) antioksidativnu aktivnost (IC 50 %/ml SPT) kod pšenične trave pri 4 °C (Stranica 31)

**Tablica 11.** Utjecaj skladištenja tkiva (list, sok) i dužine trajanja skladištenja u danima (bez skladištenja, 1, 7, 14 21) antioksidativnu aktivnost (IC 50 %/ml SPT) kod pšenične trave pri - 18 °C (Stranica 32)

**Tablica 12.** Utjecaj skladištenja tkiva (list, sok) i dužine trajanja skladištenja u danima (bez skladištenja, 1, 7, 14 21) antioksidativnu aktivnost (IC 50 %/ml SPT) kod pšenične trave pri - 80 °C (Stranica 33)

## **11. POPIS SLIKA**

**Slika 1.** Pšenična trava (*Triticum aestivum* L.) (Stranica 2)

**Slika 2.** Usporedba hranjive vrijednosti pšenične trave i ostalog zelenog povrća (Seibold, 2003.) (Stranica 3)

**Slika 3.** Kemijska struktura hemoglobina i klorofila (Seibold, 2003.) (Stranica 8)

**Slika 4.** Gubitak antioksidanasa tijekom različitih uvjeta obrade (Kalt i sur., 2005.) (Stranica 12)

**Slika 5.** Cijeđenje soka iz pšenične trave (Stranica 24)

## 12. POPIS GRAFIKONA

**Graf 1.** Značajnost utjecaja skladištenja tkiva (list, sok) i temperature skladištenja (bez skladištenja, 4 °C, -18 °C, -80 °C) na ukupnu antioksidativnu aktivnost (IC 50 %/ml) u listu i soku pšenične trave nakon prvog dana (Stranica 35)

**Graf 2.** Značajnost utjecaja skladištenja tkiva (list, sok) i temperature skladištenja (bez skladištenja, 4 °C, -18 °C, -80 °C) na ukupnu antioksidativnu aktivnost (IC 50 %/ml SPT) u listu i soku pšenične trave nakon četrnaest dana (Stranica 36)

**Graf 3.** Značajnost utjecaja skladištenja tkiva (list, sok) i temperature skladištenja (bez skladištenja, 4 °C, -18 °C, -80 °C) na ukupnu antioksidativnu aktivnost (IC 50 %/ml) u listu i soku pšenične trave nakon dvadesetprvog dana (Stranica 37)

**Graf 4.** Utjecaj skladištenja tkiva (list, sok) i dužine trajanja skladištenja u danima (bez skladištenja, 1, 7, 14, 21) na antioksidativnu aktivnost (IC 50 %/ml) u listu i soku pšenične trave pri 4 °C (Stranica 38)

**Graf 5.** Utjecaj skladištenja tkiva (list, sok) i dužine trajanja skladištenja u danima (bez skladištenja, 1, 7, 14, 21) na antioksidativnu aktivnost (IC 50 %/ml) u listu i soku pšenične trave pri -18 °C (Stranica 38)

**Graf 6.** Utjecaj skladištenja tkiva (list, sok) i dužine trajanja skladištenja u danima (bez skladištenja, 1, 7, 14, 21) antioksidativnu aktivnost (IC 50 %/ml) u listu i soku pšenične trave pri -80 °C (Stranica 39)

**Ukupna antioksidativna aktivnost u soku i listu pšenične trave pri različitim uvjetima skladištenja**  
Katarina Šperanda

**Sažetak:**

Pšenična trava predstavlja mlade izdanke vrsta roda *Triticum* koji u velikim količinama sadrže klorofil, bioflavonoide, esencijalne aminokiseline, vitamine, minerale i antioksidanse. Prirodni antioksidansi su vitamin C i E, karotenoidi, flavonoidi antocijanini, betanini te polifenolni spojevi koji su široko rasprostranjeni u biljnom svijetu. Cilj istraživanja je bio utvrditi da li način čuvanja pšenične trave i dužina trajanja skladištenja značajnu utječu na promjenu antioksidativnog kapaciteta u soku, odnosno listu pšenične trave divljeg srodnika *Triticum aestivum* ssp. *sphaerococcum*. Antioksidativna aktivnost u uzorcima ekstrakta soka i u tkivu lista, mjerena je odmah nakon otkosa te nakon čuvanja pri tri različite temperature (4 °C, -18 °C, -80 °C) nakon 1., 7., 14. i 21. dana skladištenja. Rezultati istraživanja potvrđuju da se antioksidativni kapacitet vrlo brzo smanjuje u soku, pri bilo kojoj temperaturi skladištenja i bez obzira na dužinu trajanja. S druge strane, u tkivu lista, antioksidacijski kapacitet je i nakon 24 sata čuvanja lista nepromijenjen čak i pri 4 °C. U tkivu lista dolazi do opadanja DPPH aktivnosti nakon 7 dana čuvanja u usporedbi s kontrolom međutim, nakon 7. pa do 21. dana nema više značajnog pada DPPH vrijednosti. S nutritivnog aspekta i količine antioksidanasa koju unosimo, najzdravije je konzumirati svježi list na dan otkosa. Već pripremom soka pšenične trave, DPPH vrijednost pada, a razlog može biti trošenje antioksidanasa uslijed razaranja staničnih membrana te promjene oksidoreduktivnog potencijala izazvanog padom pH vrijednosti. S analitičkog aspekta, ukoliko skladištimo uzorak, najbolje je čuvati list pri nižim temperaturama, te raditi analize najkasnije nakon jednog dana.

**Rad je izrađen pri:** Fakultet agrobiotehničkih znanosti Osijek

**Mentor:** Izv.prof.dr.sc. Miroslav Lisjak, mentor

**Broj stranica:** 57

**Broj grafikona i slika:** 11

**Broj tablica:** 12

**Broj literaturnih navoda:** 107

**Jezik izvornika:** hrvatski

**Ključne riječi:** pšenična trava, antioksidativna aktivnost, skladištenje, temperatura, DPPH

**Datum obrane:** 30.09.2019.

**Stručno povjerenstvo za obranu:**

1. Izv.prof.dr.sc. Andrijana Rebekić, predsjednik
2. Izv.prof.dr.sc. Miroslav Lisjak, mentor
3. Prof.dr.sc. Tihana Teklić, član

**Diplomski rad je pohranjen u:** Knjižnici Fakulteta agrobiotehničkih znanosti Osijek i u digitalnom repozitoriju završnih i diplomskih radova Fakulteta agrobiotehničkih znanosti Osijek, Sveučilište u Osijeku, Vladimira Preloga 1.

**BASIC DOCUMENTATION CARD****Josip Juraj Strossmayer University of Osijek****Faculty of Agrobiotechnical Sciences Osijek****University Graduate Studies, Plant production, course Plant production****Graduate thesis****Total antioxidant activity in juice and leaf of wheat grass at different storage conditions**

Katarina Šperanda

**Abstract:**

Wheat grass is a young shoot of the *Triticum* genus, which in large quantities contains chlorophyll, bioflavonoids, essential amino acids, vitamins, minerals and antioxidants. Natural antioxidants are vitamin C and E, carotenoids, flavonoids anthocyanins, betanins, and polyphenolic compounds that are widespread in the plant world. The aim of the study was to determine whether the storage of wheat grass and the length of storage significantly influence the change in antioxidant capacity in the juice or leaf of wheat grass of the wild relative *Triticum aestivum* ssp. *sphaerococcum*. Antioxidant activity in juice extracts and leaf tissue was measured immediately after harvesting and after storage at three different temperatures (4°C, -18°C, -80°C) after 1, 7, 14 and 21 days of storage. The results of the study confirm that antioxidant capacity decreases very rapidly in juice, at any storage temperature and regardless of the length of time. On the other hand, in leaf tissue, the antioxidant capacity remains unchanged even at 4°C after 24 hours of storage. In leaf tissue, DPPH activity declines after 7 days of storage compared to control, however, there is no significant decrease in DPPH values between 7th and 21st day of storage. From the nutritional point of view and the amount of antioxidants we ingest, it is healthiest to consume fresh leaf on the day of harvest. Already by the preparation of the wheatgrass juice, the DPPH value falls, and the reason may be the depletion of antioxidants due to the destruction of cell membranes and the change in the oxidoreductive potential caused by the drop in pH. From the analytical point of view, if we are storing the sample, it is best to store the leaf at lower temperatures and to do the analyzes no later than one day after harvest.

**Thesis preformed at:** Faculty of Agrobiotechnical Sciences Osijek**Mentor:** PhD, Miroslav Lisjak, assistant professor**Number of pages:** 57**Number of figures:** 11**Number of tables:** 12**Number of references:** 107**Original in:** Croatian**Key words:** wheat grass, antioxidant activity, storage, temperature, DPPH**Thesis defended on date:** 30.09.2019.**Reviewers:**

1. PhD, Andrijana Rebekić, assistant professor
2. PhD, Miroslav Lisjak, associate professor
3. PhD, Tihana Teklić, full professor

**Thesis deposited at:** Library of Faculty of Agrobiotechnical Sciences Osijek and in digital repository of Faculty of Agrobiotechnical Sciences Osijek, Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Vladimira Preloga 1.