

# Sadržaj biološki aktivnih spojeva u soku pšenične trave

---

**Kereša, Lucija**

**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:151:125044>

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

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-09-22**



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**

Lucija Kereša

Diplomski studij povrćarstvo i cvjećarstvo

**SADRŽAJ BIOLOŠKI AKTIVNIH SPOJEVA U SOKU PŠENIČNE TRAVE**

**Diplomski rad**

**Osijek, 2019.**

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

Lucija Kereša

Diplomski studij povrćarstvo i cvjećarstvo

**SADRŽAJ BIOLOŠKI AKTIVNIH SPOJEVA U SOKU PŠENIČNE TRAVE**

**Diplomski rad**

Povjerenstvo za ocjenu i obranu diplomskog rada:

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

**Osijek, 2019.**

## **ZAHVALA**

Zahvaljujem mentoru izv. prof. dr. sc. Miroslav Lisjak na posvećenom vremenu i znanju, a svakako i na odnosu prema ljudima i studentima s kojima surađujete koji će mi uvijek poslužiti kao primjer izvrsnosti u životu. Veliko hvala mojim roditeljima koji su me poticali i podržavali kroz cijeli period mog školovanja, koji su vidjeli svaku suzu i svaki osmijeh nakon padanja i bili oslonac da ustanem . Hvala mojoj sestri i šogoru koji su me savjetovali i pomagali mi jer i sami znaju da nije lako biti student. Hvala i ostalim članovima obitelji koji su mi davali podršku kad je ona bila najpotrebnija. Naposljetku hvala mojim prijateljima i kolegama koji su bili prvi na mjestu „udara“ kada je nešto pošlo po krivu, ali i kada je sve bilo kao u bajci. Ovim putem se želim zahvaliti i svim onim ljudima koji su bili iza zavjese, svima Vama veliko hvala! Svima Vam hvala što ste bili dio mog odrastanja.

L.K.

## **SADRŽAJ**

|  |    |
|--|----|
| 1. UVOD.....   | 1  |
| 1.1. Pšenična trava i njezina svojstva .....             | 1  |
| 1.2. Cilj istraživanja.....                              | 3  |
| 2. PREGLED LITERATURE.....                               | 4  |
| 3. MATERIJAL I METODE .....                              | 9  |
| 3.1. Postavljanje pokusa .....                           | 9  |
| 3.1.1. Priprema supstrata .....                          | 9  |
| 3.1.2. Priprema zrna pšenice.....                        | 9  |
| 3.1.3. Sjetva .....                                      | 9  |
| 3.1.4. Otkos.....  | 9  |
| 3.2. Određivanje sadržaja kloroplastnih pigmenata.....   | 10 |
| 3.3. Određivanje ukupnih fenola .....                    | 11 |
| 3.4. Određivanje ukupne antioksidativne aktivnosti ..... | 12 |
| 3.5. Određivanje flavonoida .....                        | 13 |
| 3.6. Analiza i obrada podataka .....                     | 13 |
| 4. REZULTATI .....                                       | 14 |
| 5. RASPRAVA.....   | 25 |
| 6. ZAKLJUČAK.....  | 33 |
| 7. POPIS LITERATURE.....                                 | 34 |
| 8. SAŽETAK .....   | 39 |
| 9. SUMMARY.....  | 40 |
| 10. POPIS TABLICA.....                                   | 41 |
| 11. POPIS SLIKA.....                                     | 43 |
| 12. POPIS GRAFIKONA.....                                 | 44 |

**TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA**

**BASIC DOCUMENTATION CARD**

# 1. UVOD

## 1.1. Pšenična trava i njezina svojstva

Pšenica (*Triticum aestivum L.*) je jednogodišnja biljka iz roda trava (*Triticum*) koja pripada porodici *Poaceae* i važna je komponenta ljudske prehrane. Najznačajniji je ratarski usjev te je njome zasijana  $\frac{1}{4}$  obradivih površina na svijetu. Od pšenice se priprema niz proizvoda: krupica, pecivo, tjestenina i dr. Pšenično se zrno koristi za fermentaciju u proizvodnji piva, alkohola i votke. Zrno pšenice prosječno sadrži 66,4 % ugljikohidrata, 13 % bjelancevine, 3 % celuloze, 1,5 % masti, 1,7 % mineralnih tvari i 14,4 % vode. Pšenica koja je klijala 6 – 10 dana naziva se pšenična trava i izvor je vitamina, minerala i fenolnih spojeva, uz to klice pšenice dosežu maksimalni antioksidativni potencijal. Pšeničnu travu ljudi i životinje konzumiraju u obliku svježeg soka ili praha. U obliku svježeg soka, ima visoke koncentracije klorofila, aktivnih enzima, vitamina i drugih hranjivih tvari. Smatra se cjelovitom hranom jer sadrži sve aminokiseline, vitamine i minerale (neke samo u tragovima) potrebne za ljudsku prehranu. Sok pšenične trave odmah se apsorbira u krvotok i daje trenutnu energiju i najbogatiji je izvor vitamina A, B, C, E i K, kalcija, kalija, željeza, magnezija, natrija, sumpora i 17 oblika aminokiselina (Aate i sur., 2017.). Najvažnija značajka soka pšenične trave je visok sadržaj klorofila. Klorofili su esteri dikarbonske kiseline klorofilina i alkohola fitola. Osnovna građevna jedinica je porfirinski prsten u čijem je središtu atom Mg vezan za N četiriju pirolskih prstena s dvije kovalentne i dvije koordinatne veze. Na porfirinsku jezgru vezan je fitolni rep bogat – CH<sub>3</sub> skupinama. (Dubravec i Regula, 1995.) Klorofil ima značajnu ulogu u ljudskoj prehrani jer sprječava rak, jača imunološki sustav i dr. Klorofil ima vrlo sličnu strukturu hemoglobinu koji je nužan za stvaranje crvenih krvnih stanica i prijenos kisika. Jednako važnu ulogu imaju i fenolni spojevi. Najrašireniji sekundarni produkti metabolizma biljaka koji u svojoj strukturi sadrže aromatski prsten s jednom ili više -OH grupa. Akumuliraju se u vakuolama u obliku glikozida ili estera šećera. (Pevalek-Kozlina, 2002.) Dije se po složenosti kemijske strukture i fiziološkom djelovanju u više grupa od kojih su najjednostavniji fenoli, među kojima su najrašireniji flavonoidi (oko 5 000 vrsta). Kao pigmenti i antioksidansi imaju velik značaj u prehrambenoj i farmaceutskoj industriji. Najvažnija funkcija fenolnih flavonoida a naročito antocijanina, zajedno s flavonima i flavonolima kao ko-pigmentima je u formiranju boje cvjetova i plodova biljaka. Od složenih fenola su najrašireniji tanini, lignin i melanini. Fenolni spojevi imaju više značajnih funkcija poput stimulacije rasta i razvoja biljaka, zaštite od patogena, boje

cvjetova, arome plodova, djeluju kao signalne komponente pri simbiozi s bakterijama fiksatorima N roda *Rhizobium*, štite biljku od UV zračenja i dr. S nutritivnog aspekta u ljudskoj prehrani ističe se njihova beneficianalna zaštitna uloga zbog velike antioksidacijske aktivnosti.

## 1.2. Cilj istraživanja

Laboratorijskim analizama utvrditi ukupni sadržaj kloroplastnih pigmenata, fenola, flavonoida i antioksidativne aktivnosti u soku pšenične trave kod više sorti pšenice.

Osnovna hipoteza istraživanja je da će različite sorte imati značajne razlike u ukupnom sadržaju kloroplastnih pigmenata, fenola, flavonoida i antioksidativne aktivnosti u soku pšenične trave (*Triticum aestivum L.*).

Očekuje se da će postojati određene grupe sorti u ispitivanim svojstvima s obzirom na zemlju oplemenjivačkog porijekla.

Također, veća antioksidativna aktivnost očekuje se kod sorata sa većim sadržajem fenola i flavonoida.



## 2. PREGLED LITERATURE

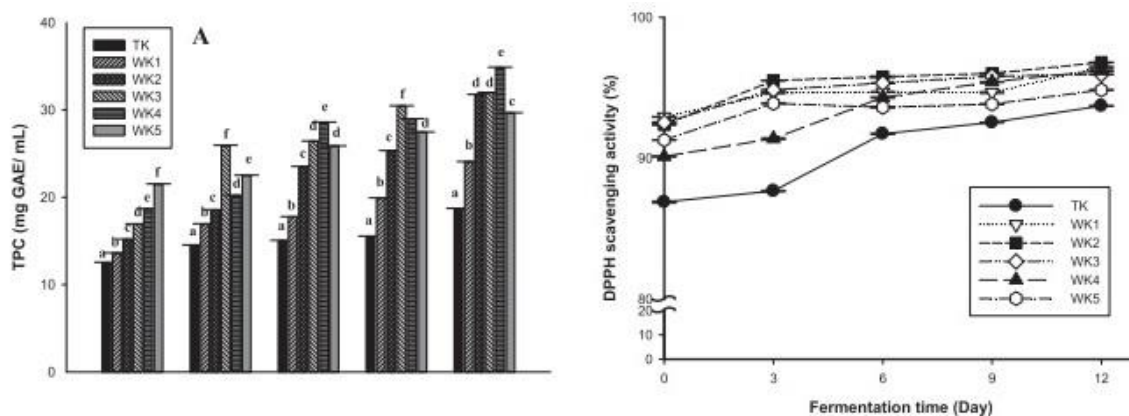
Tzu-Ying i sur. (2015.) su istraživali učinak miješanja soka pšenične trave i kombuchu tradicionalnog napitka u različitim omjerima u svrhu povećanja sadržaja fenolnih spojeva i antioksidativne aktivnosti u samom napitku (Slika 1.). Kombuchu napitak se tradicionalno priprema miješanjem crnog čaja i šećera.

**Table 1 – Combinations of black tea decoction and wheatgrass juice as fermentation substrates for preparing WGJ-blended kombucha.**

| Component                             | Group |     |     |     |     |                     |
|---------------------------------------|-------|-----|-----|-----|-----|---------------------|
|                                       | TK    | WK1 | WK2 | WK3 | WK4 | WK5                 |
| Black tea decoction (mL) <sup>a</sup> | 120   | 80  | 60  | 40  | 0   | 0                   |
| Wheatgrass juice (mL)                 | 0     | 40  | 60  | 80  | 120 | 120(S) <sup>c</sup> |
| Starter (mL) <sup>b</sup>             | 30    | 30  | 30  | 30  | 30  | 30                  |
| Total volume (mL)                     | 150   | 150 | 150 | 150 | 150 | 150                 |

TK = traditional kombucha; WK1–5 = kombucha supplemented at various ratios with wheatgrass juice.  
<sup>a</sup> Black tea decoction contains 10% (w/v) sucrose.  
<sup>b</sup> Starter: Freshly fermented kombucha (lower liquid portion, 30 mL) was used as inoculum or starter.  
<sup>c</sup> Wheatgrass juice contains 10% (w/v) sucrose.

**Slika 1.** Omjeri crnog čaja i soka pšenične trave za fermentaciju mješavine pšenične trave i kombuchu napitka (Tzu-Ying Sun i sur., 2015.)



**Slika 2.** Rezultati sadržaja ukupnih fenola i DPPH (Tzu-Ying i sur., 2015.)

Koncentracija fenola u svih šest skupina povećala se s vremenom fermentacije. Mikroorganizmi u kombuchu napitku (bakterije octenog vrenja i kvasci) oslobađaju enzime tijekom fermentacije koji mogu degradirati polifenole u male molekule. U svih 6 uzoraka antioksidativna aktivnost povećala se s vremenom inkubacije. Autori zaključuju da kombuchu napitak fermentiran u različitim omjerima sa sokom pšenične trave ima različitu antioksidativnu aktivnost te ona raste s povećanjem broja dana fermentacije (Slika 2.).

Arpita i sur. (2012.) istraživali su učinak liofilizacije i sušenja vrućim zrakom na sadržaj klorofila, ukupnih fenola i flavonoida te antioksidativnih svojstava brašna pšenične trave osmi dan nakon stavljanja na naklijavanje. U kvantitativnoj analizi antioksidativnih komponenti, svježi uzorci pšenične trave imali su najveću količinu askorbinske kiseline i klorofila te najnižu količinu ukupnih flavonoida i fenola. Antioksidacijski kapacitet ispitivan FRAP metodom uspoređivan je s vrijednostima utvrđenim u otopinama BHA i  $\alpha$ -tokoferola. Najveća antioksidativna aktivnost utvrđena je u etanolnom ekstraktu liofilizirane pšenične trave, dok je najniža utvrđena u otopini je  $\alpha$ -tokoferola. Također antioksidacijska aktivnost ispitivana DPPH metodom bila je najveća u liofiliziranoj pšenici.

Özköse i sur. (2016.) su u svom istraživanju analizirali nutritivni potencijal šest vrsta višegodišnjih trava (*T. durum*, kultivar Cesit 1252; *T. aestivum*, kultivar Dagdas 94; 50:50 mješavina prethodno navedena dva kultivara pšenice; *L. perenne*, kultivar Apple GL i lokalna populacija, *F. arundinacea*, kultivar Barlexas II), u proizvodnji soka te utjecaj gnojiva i termina otkosa na kemijske komponente i antioksidativni potencijal. Otkos pšenice izvršen je 18. i 30. dan nakon sjetve a za ostale trave dodan je još jedan termin otkosa koji je izvršen 39. dan. Analizirana je antioksidativna aktivnost DPPH metodom, ukupni sadržaj klorofila, karotena, vitamina C, fenola, elementarni sastav te viskoznost i boja uzoraka. Varijante uzgoja bile su s gnojidbom i bez, te žetvom u dva termina. Nakon žetve uzorci su vagani prije i poslije liofilizacije kako bi se odredio sadržaj vlage. Suha tvar, ukupni fenoli, flavonoidi, proteini, antioksidativna aktivnost i sadržaj Cu, Fe i P bili su viši u soku pšenične trave nego u ostalim ispitivanim sokovima. Upotreba gnojiva rezultirala je povećanjem sadržaja suhe tvari, karotenoida i proteina u sokovima dok se količina fenola, DPPH, flavonoida, klorofila i vitamina C smanjila. Količina kemijskih elemenata (Ca, Fe, Mg, Mn, Na, Ni) bila je veća u varijanti bez gnojidbe. Termin otkosa utjecao je na povećanje sadržaja vitamina C, ukupnih fenola, DPPH i većinu elemenata (osim Cu, Fe, K i P), ali nije utjecao na sadržaj suhe tvari. Autori zaključuju da ostale ispitivane trave imaju nutritivni potencijal kao i pšenična trava te se mogu koristiti u proizvodnji sokova zbog njihovog optimalnog sadržaja biološki aktivnih spojeva.

Suriyavathana i sur. (2016.) u svom istraživanju ističu važnost korištenja pšenične trave u farmaceutskoj industriji zbog sadržaja različitih fitokemikalija poput terpenoida, flavonoida, alkaloida, tanina, steroida i glikozida u metanolnom ekstraktu lišća.

Aydos i sur. (2011.) su u svom istraživanju ispitivali učinke i antioksidacijski status vodenih i etanolnih ekstrakata pšenične trave kod ljudske kronične mijeloidne leukemije na staničnoj liniji CML (K562). Najveći apoptotski učinak utvrđen je nakon 48 sati na stanicama koje su tretirane vodenim ekstraktom pšenične trave. Stopa vitalnosti stanične linije CML (K562) smanjena je za 14 % nakon tretmana etanolnim ekstraktom te 39 % pri vodenom ekstraktu, dok je u kontrolnoj skupini porasla za 24 % i 50 %. Antiproliferativni učinak etanolnih i vodenih ekstrakata bio je značajno različit u prva 24 sata, ali nakon 48 sati taj učinak se izjednačio. Došlo je do povećanja aktivnosti antioksidativnih enzima, što povećava prevenciju štetnog učinka oksidativnih reakcija. Rezultati istraživanja pokazali su da oba ekstrakta pšenične trave inhibiraju rast leukemijskih stanica te autori zaključuju da prehrana bogata biljnim nutrijentima može imati kemoprotektivni učinak.

Tugba i sur. (2014.) proveli su istraživanje koristeći nove analitičke metode za određivanje fenolnih spojeva i njihovih antioksidativnih aktivnosti. Pšenična trava je naklijavana u kontroliranim uvjetima te su otkosi bili u intervalima od 15-ti, 30-ti i 40-ti dan nakon stavljanja na naklijavanje. Nakon sušenja toplim zrakom u tami, usitnjavanjem je dobiveno pšenično brašno, iz kojeg su alkalnom hidrolizom ekstrahirane fenolne kiseline te je uzorak bio analiziran tekućinskom kromatografijom.

**Table 1.** Phenolic acid composition of alkaline hydrolysis of ethyl acetate extracts on sprouted Turkish Amber Durum according to HPLC results based on the dry weight of wheat grass ( $\mu\text{g/g}$  of sample, db).

| SAMPLE( $\mu\text{g/g}$ ) | 15 DAYS          | 30 DAYS          | 40 DAYS         | R <sup>2</sup> |
|---------------------------|------------------|------------------|-----------------|----------------|
| GALLIC                    | 3.45 $\pm$ 1.7   | 2.10 $\pm$ 6.7   | 1.3 $\pm$ 1.3   | 0.997          |
| SYRINGIC                  | 150.8 $\pm$ 1.3  | 75.8 $\pm$ 13.2  | 54.7 $\pm$ 4.2  | 0.994          |
| P-HYDROXYBENZOIC          | 35.4 $\pm$ 3.2   | 16.4 $\pm$ 1.3   | 4.2 $\pm$ 1.7   | 0.997          |
| CAFFEIC                   | 75.1 $\pm$ 1.8   | 32.3 $\pm$ 2.7   | 11.2 $\pm$ 1.3  | 0.999          |
| BENZOIC                   | 65.3 $\pm$ 2.7   | 54.8 $\pm$ 1.9   | 2.2 $\pm$ 0.5   | 0.999          |
| QUERCETIN                 | 115 $\pm$ 3.7    | 180.2 $\pm$ 1.4  | 5.95 $\pm$ 1.7  | 0.998          |
| P-COUMARIC                | 83.7 $\pm$ 12.1  | 7.4 $\pm$ 2.4    | 5.3 $\pm$ 1.1   | 0.998          |
| FERULIC                   | 1305.8 $\pm$ 1.7 | 809.4 $\pm$ 23.5 | 250.4 $\pm$ 1.5 | 0.999          |
| ELLAGIC                   | 18.3 $\pm$ 1.3   | 24.2 $\pm$ 1.1   | 42.2 $\pm$ 1.6  | 0.998          |
| BHA                       | 150.4 $\pm$ 1.8  | 260 $\pm$ 1.7    | 12 $\pm$ 1.2    | 0.999          |

**Slika 3.** Sastav fenolnih kiselina nakon alkalne hidrolize brašna pšenične trave ekstrahiranog etil-acetatom prema HPLC rezultatima preračunato na suhu masu ( $\mu\text{g/g}$  uzorka). (Tugba i sur., 2014.)

Ferulinska kiselina je dominantna fenolna kiselina u svim uzorcima pšenične trave (74-87 mg/100 g), što čini 69 % ukupnih kiselina (Slika 3.). Sadržaj ferulinske kiseline bio je u

pozitivnoj korelaciji s antioksidacijskom aktivnošću, ukupnim sadržajem fenola i koncentracijom drugih identificiranih pojedinačnih fenolnih kiselina. Autori tvrde da ferulinska kiselina može poslužiti kao marker za kontrolu kvalitete antioksidativnog učinka pšenične trave ili se može koristiti za praćenje promjene antioksidativnog kapaciteta nakon obrade. Ukupni sadržaj fenola je bio najviši u brašnu klijanaca pšenične trave 15 dana nakon stavljanja na naklijavanje (292,8 mg/100 g).

**Table 3.** DPPH radical scavenging capacity (% scavenging) of extracts obtained from sprouted Turkish amber durum.

| Sample                    | DPPH radical scavenging capacity (% scavenging) |
|---------------------------|---|
| 15 Days Amber wheat grass | 52.62a  |
| 30 days Amber wheat grass | 42.03a  |
| 40 days Amber wheat grass | 31.14a  |

**Slika 4.** Sposobnost uklanjanja DPPH radikala (% uklanjanja) ekstrakata u brašnu pšenične trave turske jantarne durum pšenice, (Tugba i sur., 2014.)

Iako je najveća antioksidativna aktivnost bilo kod klijanaca 15-ti dan nakon stavljanja na naklijavanje, nisu utvrđene statistički značajne razlike u odnosu na dva kasnija otkosa. Značajno veća antioksidativna aktivnost DPPH metodom utvrđena je kod slobodnih i vezanih fenola gdje je u ekstrakciji korišten etil-acetat. Razlike u antioksidativnoj aktivnosti u brašnu pšenične trave, između termina otkosa, u ekstraktima dobivenim alkalnom hidrolizom nisu bile značajne. To je posljedica povećanja količine kofeinske i vanilinske kiseline tijekom klijanja, dok se fenolne kiseline vezane za staničnu stjenku nisu značajno promijenile. U ekstraktima etil acetata kod svih ispitanih uzoraka detektirano je 10 fenolnih spojeva. Ferulinska kiselina, p-kumarinska i siringinska kiselina detektirane su u velikim količinama u usporedbi s drugim fenolnim kiselinama.

Sunil i sur. (2006.) u svom istraživanju procjenjuju antioksidativni kapacitet pšenične trave pri različitim uvjetima uzgoja. Otkosi klijanaca pšenične trave uzgajanih na supstratu odnosno na filter papiru, izvršeni su nakon 6, 7, 8, 10 i 15 dana od stavljanja na naklijavanje. Tijekom klijanja bili su zalijevani vodom iz slavine bez i sa dodatkom hraniva na obje varijante uzgojnog medija. U vodenim i etanolnim ekstraktima pšenične trave utvrđena antioksidacijska aktivnost metodama FRAP, ABTS i DPPH, određena je lipidna peroksidacija, sadržaj fenola i flavonoida te kapacitet apsorpcije kisikovih radikala ORAC

metodom. Kao kontrola analizirana je komercijalno dostupna tableta pšenične trave. Sadržaj fenola i flavonoida je u usporedbi s kontrolom bio u svim uvjetima uzgoja značajno veći, naročito u etanolnim ekstraktima. Najveće vrijednosti FRAP zabilježene kod 15 dana starih uzoraka pri uzgoju na tlu uz dodatak hraniva u obje varijante ekstrakata. U vodenim ekstraktima nisu utvrđene značajne razlike u DPPH aktivnosti između različitih uvjeta tijekom uzgoja. U slučaju etanolnih ekstrakta, pokazalo se da je najveća DPPH vrijednost kod pšenične trave uzgajane na tlu uz dodatak hraniva. ORAC vrijednosti vodenog i etanolnog ekstrakta nakon 10. dana pri prethodno spomenutoj varijanti uzgoja, bile su značajno veće, čak i od onih koje se u radovima navode za brojne prirodne ekstrakte voća i povrća.

Akbas i sur. (2016.) su proveli istraživanje termičke stabilnosti kapsuliranih prašaka u uvjetima probave te analizirali sadržaja antioksidanasa i fenola, srednju veličinu čestica te morfologiju i distribuciju u probavnom traktu. Inkapsulirani prašci pokazali su dobru stabilnost u želučanom soku i imali su 62 % veći sadržaj fenola u usporedbi s probavnom tekućinom, unutar 10 minuta probave. Sadržaj fenola u kapsuliranom prašku također ostaje termički stabilan i pri 40 °C, 55 °C i 70 °C. Predloženo je da se prah pšenične trave može koristiti kao funkcionalni sastojak hrane zbog njegove visoke antioksidativne aktivnosti, sadržaja fenola te zbog svoje termičke i digestivne stabilnosti za spomenuta svojstva.

Shirude Anup Astok i sur. (2011.) su utvrdili da ekstraktivne vrijednosti klorofila topive u vodi pokazuju veće vrijednosti od onih ekstraktnih vrijednosti alkohola. Razlog tomu je što što je sadržaj klorofila u soku pšenične trave oko 70 % i topiv je u vodi. Sok pšenične trave također je podvrgnut istraživanju gubitka pri sušenju i utvrđeno je da ukupno smanjenje mase iznosi 24,86 %. Provedeno je anti-hiperglikemijsko djelovanje i procjena glikogena u jetri metodom koja uključuje model Wistar štakora 21 dan, a dobiveni rezultati pokazuju da je anti-hiperglikemijska aktivnost značajna u većoj dozi (100mg) te je potvrđeno da pšenična trava može spriječiti pojavu hipoglikemijskih šokova prema rezultatima glikogena u jetri.

### **3. MATERIJAL I METODE**

#### **3.1. Postavljanje pokusa**

##### **3.1.1. Priprema supstrata**

Posude za naklijavanje ravnomjerno su napunjene s 350 g usitnjenog treseta te prekrivene aluminijskom folijom kako bi zadržao vlagu. Treset se priprema 2 dana prije sjetve, čuva u klima komori pri istim uvjetima pri kojima se naklijava pšenica i zalijeva tri puta sa po 50 mL destilirane vode.

##### **3.1.2. Priprema zrna pšenice**

15 g zrna od svake sorte preliveno je destiliranom vodom te stavljeno na magnetnu miješalicu na 5 min. Postupak miješanja ponovljen je dva puta, s time da je nakon miješanja ocijeđen suvišak vode, a pri drugom miješanju zrno je preliveno autoklaviranom vodom. Nakon miješanja na otvor staklenke je postavljena mrežica te je ocijeđen suvišak vode. Priprema zrna izvršena je dva dana prije sjetve.

##### **3.1.3. Sjetva**

Zrno je ravnomjerno raspoređeno na treset i prekriveno s dodatnih 60 g treseta. Nakon zalijevanja s 50 ml destilirane vode posude sa zrnom postavljene su u klima komoru na 20 °C sa fotoperiodom 12 sati svijetla 12 sati tame. Pšenica je svih 12 dana zalijevana svaki dan sa 50 mL destilirane vode.

##### **3.1.4. Otkos**

12. dan izvršen je otkos. Vlasi pšenične trave odrezani su pri dnu, te je od njih pripremljen sok koristeći sokovnik.

### 3.2. Određivanje sadržaja kloroplastnih pigmenata

Sadržaj kloroplastnih pigmenata (klorofila a, klorofila b i karotenoida) određen je spektrofotometrijskom metodom po Holmu i Wettsteinu (Holm, 1954.; Wettstein, 1957.). 100  $\mu$ l soka pšenične trave vagano je na analitičkoj vagi u plastičnu epruvetu od 15 mL s navojem. U epruvetu je dodano malo praha  $MgCO_3$  (na vrh noža) radi neutralizacije kiselosti i 990  $\mu$ l acetona. Uzorci su homogenizirani na vrtložnoj miješalici, a nakon toga centrifugirani na 14 000 rpm 10 min. Supernatanti su automatskom pipetom pipetirani u kivetu te su mjerene apsorbancije uzoraka koristeći spektrofotometar (Varian Cary 50 UV-vis) na valnim duljinama 662, 644 i 440 nm, uz aceton kao slijepa proba. Dobivene vrijednosti apsorbancije ( $A_{662}$ ,  $A_{644}$  i  $A_{440}$ ) uvrštene su u Holm-Wettsteinove jednadžbe za izračunavanje koncentracije pigmenata u  $mg/dm^{-3}$  i to klorofila a, klorofila b, ukupnih klorofila i karotenoida:

$$\text{Klorofil a} = 9,784 \times A_{662} - 0,990 \times A_{644}$$

$$\text{Klorofil b} = 21,426 \times A_{644} - 4,65 \times A_{662}$$

$$\text{Klorofil a+b} = 5,134 \times A_{662} + 20,436 \times A_{644}$$

$$\text{Karotenoidi} = 4,695 \times A_{440} - 0,268 \times (\text{klorofil a+b}).$$

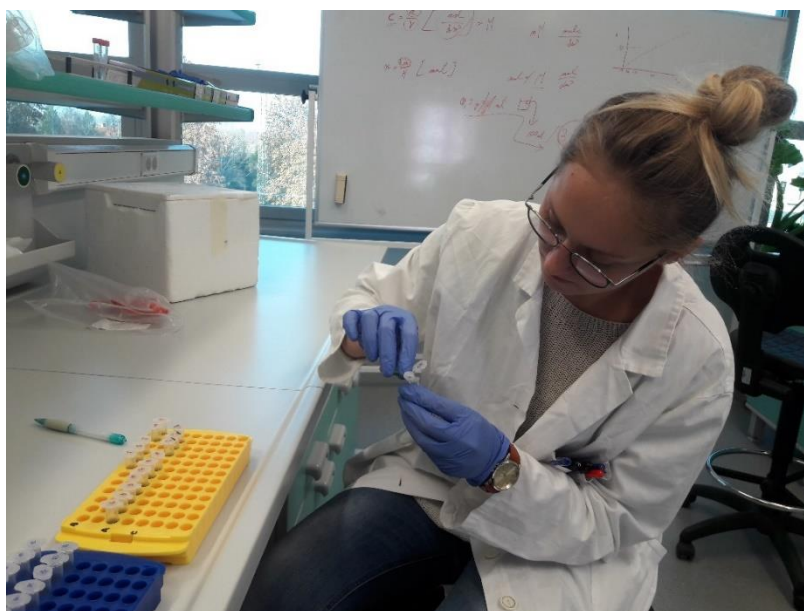
Dobivene vrijednosti su preračunate i izražene kao mg/g Sv.T. uzevši u obzir odvagano masu tkiva i razrjeđenje.



**Slika 5.** Pripremljeni uzorci za određivanje kloroplastnih pigmenata (Lucija Kereša)

### 3.3. Određivanje ukupnih fenola

Sadržaj ukupnih fenola (UF) određen je spektrofotometrijski metodom koristeći Folin-Ciocalteu reagens, prema Singleton i Rossi (1965.). Za izradu baždarne krivulje korišteni su rastući standardi otopine galne kiseline (GA). U odmjernoj tikvici od 100 mL otopljeno je 5 mg GA u 10 mL etanola te je nadopunjena sa dH<sub>2</sub>O do oznake 100 mL. Za pripremu zasićene otopine Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> otopljeno je 100 g bezvodnog Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> u 400 mL dH<sub>2</sub>O i otopina je zagrijavana do točke vrenja. Nakon hlađenja u otopinu je dodano par kristalića Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> te je nakon 24 sata profiltrirana i sa dH<sub>2</sub>O nadopunjeno do oznake 500 mL. U plastičnu epruvetu pipetirano je i odvagano 100 µl soka pšenične trave na analitičkoj vagi te dodano 1000 µl etanola. Etanolni ekstrakti su ostavljeni na inkubaciji 48 sati na -80 °C. Nakon toga ekstrakti se centrifugiraju 10 minuta na 4 000 okretaja/min. 100 µl ekstrakta je pipetirano u plastične epruvete od 2 mL, dodano je 1,5 ml dH<sub>2</sub>O, 100 µl Folin-Ciocalteu reagensa te promiješano na vrtložnoj miješalici. Nakon 5 min. dodano je 300 µl zasićene otopine Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> i zatim ponovno promiješano na vrtložnoj miješalici. Reakcijska smjesa je inkubirana 60 min. na 37 °C, a nakon inkubacije je izmjerena apsorbancija pri 765 nm. Koncentracija ukupnih fenola izračunata je iz jednadžbe pravca baždarne krivulje te izražena u ekvivalentima galne kiseline (mg GAE / ml soka).

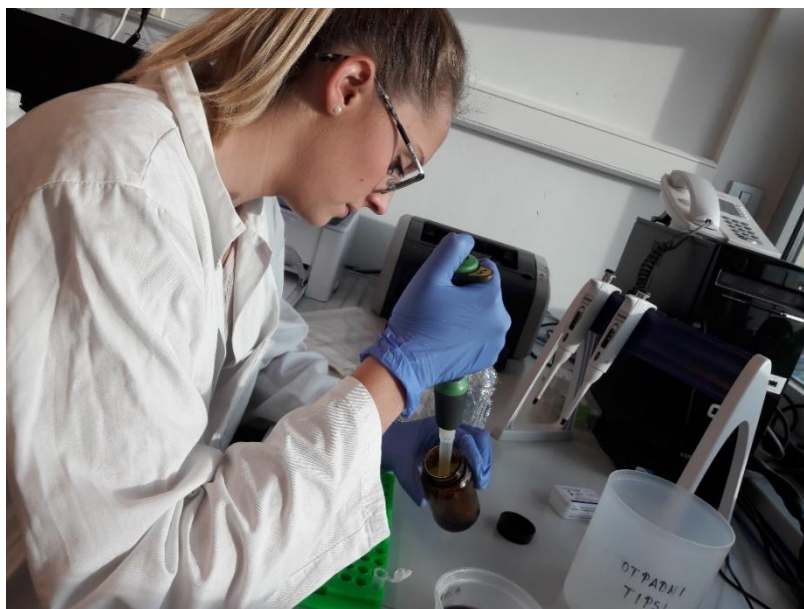


**Slika 6.** Priprema uzoraka za određivanje ukupnih fenola (Lucija Kereša)



### 3.4. Određivanje ukupne antioksidativne aktivnosti

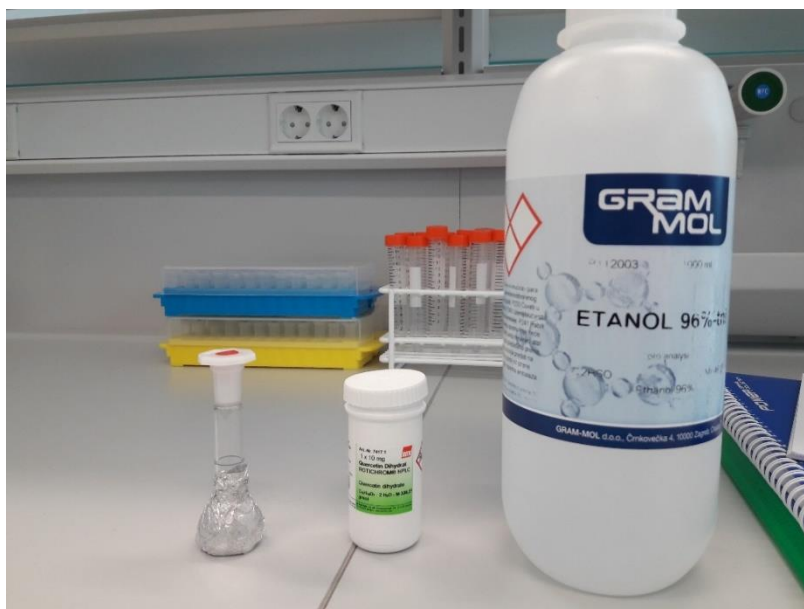
Za određivanje ukupne antioksidativne aktivnosti u soku pšenične trave korišten je DPPH reagens (2,2-difenil-1-pikril-hidrazil), metodom (Brand-Williams i sur., 1995.). Odvagano je 0,004 g DPPH na analitičkoj vagi te otopljeno u 100 ml etanola. Pripremljena je stock otopina askorbinske kiseline otapanjem 0,01 g askorbinske kiseline u 100 ml dH<sub>2</sub>O. Iz stock otopine pripremljeni su standardi rastućih koncentracija te su izmjerene apsorbance pri 520 nm, odmah nakon dodavanja DPPH reagensa (t<sub>0</sub>) i 30 minuta nakon dodavanja reagensa (t<sub>30</sub>). Napravljena je baždarna krivulja s točno poznatim koncentracijama otopine i određen je EC 50 (50 % inhibicije reakcije raspadanja DPPH radikala u prisustvu antioksidansa). Iz fenolnog ekstrakta razrijeđenog u omjeru 1:9, pipetirani su različiti volumeni ekstrakata (20, 30, 40, 50, 60, 70 µl) te je do volumena 100 µl dodan etanol, a zatim i DPPH reagens do volumena 2 ml. Nakon t<sub>30</sub> mjerena je apsorbance i izrađena krivulja iz koje je dobivena jednadžba pravca. Pomoću jednadžbe pravca izračunat je EC 50 svakog uzorka koji je ekvivalent EC 50 poznate koncentracije stock otopine askorbinske kiseline.



**Slika 7.** Pipetiranje uzoraka za spektrofotometrijsko određivanje ukupne antioksidativne aktivnosti (Lucija Kereša)

### 3.5. Određivanje flavonoida

Ukupni sadržaj flavonoida određen je spektrofotometrijski prema metodi koju je opisao Woisky, 1998. Pipetirano je 200 µl ekstrakta pšenične trave u epruvetu od 2 ml. Zatim je dodano 100 µl AlCl<sub>3</sub> te 1700 µl 96 %-tnog etanola, promiješano na vrtložnoj miješalici i inkubirano 60 min. na sobnoj temperaturi. Apsorbanca je mjerena na 415 nm valne duljine. Mjerenjem apsorbance rastućih koncentracija otopina kvercetina, izrađena je baždarna krivulja. Koncentracija ukupnih flavonoida u uzorcima izračunata je pomoću jednadžbe pravca baždarne krivulje te izražena u ekvivalentima kvercetina (mg QE / ml soka).



**Slika 8.** Kemikalije korištene za ekstrakciju i analizu sadržaja flavonoida (Lucija Kereša)

### 3.6. Analiza i obrada podataka

Sadržaj kloroplastnih pigmenata, fenola, flavonoida i antioksidativni potencijal određeni su spektrofotometrijski. Sadržaj kloroplastnih pigmenata i antioksidativna aktivnost mjereni su na uređaju Varian Cary 50 UV-VIS, a sadržaj fenola i flavonoida na uređaju UV Spectrophotometer Shimadzu UV-1800. Prikazani rezultati su dobiveni metodama statističke obrade podataka pomoću SAS Software 9.1.3., programske podrške (2002.,-2003., SAS Institute Inc., Cary, USA) i Microsoft Office Excell 2007, a od statističkih testova provedena je ANOVA (analiza varijance) i LSD test (test najmanjih značajnih razlika).

## 4. REZULTATI

Prema F testu, kod pet hrvatskih sorti, nije utvrđen značajan utjecaj sorte na sadržaj klorofila a, klorofila b, ukupnih klorofila, karotenoida te omjere klorofila i karotenoida u soku pšenične trave (Tablica 1.).

**Tablica 1.** Sadržaj klorofila a (kl a), klorofila b (kl b), klorofila a+b (kl a+b), karotenoida (kar), omjer klorofila a i b (kl a/kl b) te omjer klorofila i karotenoida (kl/kar) u soku pšenične trave kod pet sorti hrvatskog porijekla.

| Sorte            | Kl a<br>(mg/g SvT) | Kl b<br>(mg/g SvT) | Kl a+b<br>(mg/g SvT) | Kar<br>(mg/g SvT) | kl a/kl b | kl/kar |
|------------------|--------------------|--------------------|----------------------|-------------------|-----------|--------|
| Renata           | 0,38               | 0,13               | 0,51                 | 0,12              | 3,05      | 4,42   |
| Ilirija          | 0,57               | 0,19               | 0,76                 | 0,17              | 3,12      | 4,33   |
| Aida             | 0,25               | 0,09               | 0,34                 | 0,07              | 2,95      | 4,51   |
| Super<br>žitarka | 0,29               | 0,10               | 0,39                 | 0,09              | 2,99      | 4,55   |
| Lucija           | 0,38               | 0,13               | 0,50                 | 0,11              | 2,93      | 4,39   |
| F test           | 1,56               | 1,22               | 1,47                 | 1,78              | 1,18      | 1,54   |
| P                | 0,2576             | 0,3605             | 0,2818               | 0,2100            | 0,3776    | 0,2637 |

Podaci su prosjek tri ponavljanja; ANOVA, F test.

Sadržaj klorofila a kretao se u rasponu od 0,29 do 0,57 mg/g SvT dok se sadržaj klorofila b kretao u rasponu od 0,09 do 0,19 mg/g SvT. Najveći utvrđeni sadržaj karotenoida je iznosio 0,17 dok je najmanji sadržaj bio 0,09 mg/g SvT.

Kod sorti srpskog porijekla, F testom nije utvrđen značajan utjecaj sorte na sadržaj klorofila a, b, karotenoida te omjere klorofila i karotenoida u soku pšenične trave (Tablica 2.).

**Tablica 2.** Sadržaj klorofila a (kl a), klorofila b (kl b), klorofila a+b (kl a+b), karotenoida (kar), omjer klorofila a i b (kl a/kl b) te omjer klorofila i karotenoida (kl/kar) u soku pšenične trave kod pet sorti srpskog porijekla.

| Sorte     | Kl a<br>(mg/g SvT) | Kl b<br>(mg/g SvT) | Kl a+b<br>(mg/g SvT) | Kar<br>(mg/g SvT) | kl a/kl b | kl/kar |
|-----------|--------------------|--------------------|----------------------|-------------------|-----------|--------|
| Renesansa | 0,18               | 0,06               | 0,24                 | 0,05              | 3,08      | 4,48   |
| Sremica   | 0,29               | 0,09               | 0,38                 | 0,08              | 3,11      | 4,46   |
| Nizija    | 0,19               | 0,06               | 0,26                 | 0,06              | 2,96      | 4,30   |
| Redimer   | 0,30               | 0,10               | 0,40                 | 0,08              | 3,03      | 4,75   |
| Bambi     | 0,18               | 0,06               | 0,24                 | 0,05              | 3,07      | 4,54   |
| F test    | 0,91               | 0,92               | 0,91                 | 0,79              | 0,38      | 3,31   |
| P         | 0,4964             | 0,4918             | 0,4946               | 0,5579            | 0,8191    | 0,0570 |

Podaci su prosjek tri ponavljanja; ANOVA, F test.

U soku pšenične trave sorti srpskog porijekla, sadržaj klorofila a kretao se u rasponu od 0,18 do 0,29 mg/g SvT dok se sadržaj klorofila b kretao u rasponu od 0,06 do 0,10 mg/g SvT. Najveći utvrđeni sadržaj karotenoida je iznosio 0,08 dok je najmanji sadržaj bio 0,05 mg/g SvT.

Kod ispitivanih sorata mađarskog porijekla, F testom nije utvrđen značajan utjecaj sorte na sadržaj klorofila a, b, karotenoida te omjere klorofila i karotenoida u soku pšenične trave (Tablica 3.).

**Tablica 3.** Sadržaj klorofila a (kl a), klorofila b (kl b), klorofila a+b (kl a+b), karotenoida (kar), omjer klorofila a i b (kl a/kl b) te omjer klorofila i karotenoida (kl/kar) u soku pšenične trave kod pet sorti mađarskog porijekla.

| Sorte        | Kl a<br>(mg/g SvT) | Kl b<br>(mg/g SvT) | Kl a+b<br>(mg/g SvT) | Kar<br>(mg/g SvT) | kl a/kl b | kl/kar |
|--------------|--------------------|--------------------|----------------------|-------------------|-----------|--------|
| MV Magvas    | 0,30               | 0,10               | 0,40                 | 0,09              | 3,13      | 4,50   |
| MV Emese     | 0,34               | 0,11               | 0,44                 | 0,10              | 3,18      | 4,65   |
| MV Verbunkos | 0,25               | 0,08               | 0,34                 | 0,08              | 3,12      | 4,43   |
| MV Mambo     | 0,30               | 0,10               | 0,40                 | 0,09              | 3,13      | 4,47   |
| MV Mazurka   | 0,41               | 0,13               | 0,54                 | 0,12              | 3,14      | 4,69   |
| F test       | 1,01               | 0,89               | 0,98                 | 0,74              | 0,04      | 0,88   |
| P            | 0,4479             | 0,5065             | 0,4598               | 0,5850            | 0,9961    | 0,5119 |

Podaci su prosjek tri ponavljanja; ANOVA, F test.

U soku pšenične trave sorti mađarskog porijekla, sadržaj klorofila a kretao se u rasponu od 0,25 do 0,41 mg/g SvT dok se sadržaj klorofila b kretao u rasponu od 0,08 do 0,13 mg/g SvT. Najveći utvrđeni sadržaj karotenoida je iznosio 0,12 dok je najmanji sadržaj bio 0,08 mg/g SvT.

F testom nije utvrđen značajan utjecaj sorte na sadržaj klorofila a, b, karotenoida te omjere klorofila i karotenoida u soku pšenične trave kod ispitivanih sorti talijanskog porijekla (Tablica 4.).

**Tablica 4.** Sadržaj klorofila a (kl a), klorofila b (kl b), klorofila a+b (kl a+b), karotenoida (kar), omjer klorofila a i b (kl a/kl b) te omjer klorofila i karotenoida (kl/kar) u soku pšenične trave kod pet sorti talijanskog porijekla.

| Sorte             | Kl a<br>(mg/g SvT) | Kl b<br>(mg/g SvT) | Kl a+b<br>(mg/g SvT) | Kar<br>(mg/g SvT) | kl a/kl b | kl/kar |
|-------------------|--------------------|--------------------|----------------------|-------------------|-----------|--------|
| San Pastore       | 0,21               | 0,07               | 0,29                 | 0,06              | 2,93      | 4,49   |
| Libellula         | 0,23               | 0,08               | 0,31                 | 0,07              | 2,93      | 4,40   |
| Fiorello          | 0,20               | 0,07               | 0,27                 | 0,06              | 2,81      | 4,33   |
| Lambriego<br>Inia | 0,25               | 0,08               | 0,33                 | 0,07              | 3,02      | 4,49   |
| Arezzo            | 0,27               | 0,09               | 0,36                 | 0,08              | 2,98      | 4,47   |
| F test            | 0,35               | 0,31               | 0,34                 | 0,26              | 0,61      | 0,38   |
| P                 | 0,8360             | 0,8635             | 0,8431               | 0,8947            | 0,6678    | 0,8150 |

Podaci su prosjek tri ponavljanja; ANOVA, F test.

U soku pšenične trave sorti talijanskog porijekla, sadržaj klorofila a kretao se u rasponu od 0,21 do 0,27 mg/g SvT dok se sadržaj klorofila b kretao u rasponu od 0,07 do 0,09 mg/g SvT. Najveći utvrđeni sadržaj karotenoida je iznosio 0,08 dok je najmanji sadržaj bio 0,06 mg/g SvT.

F testom je utvrđen značajan utjecaj sorte na sadržaj klorofila a ( $P=0,0463$ ) i karotenoida ( $P=0,0454$ ) u soku pšenične trave kod dvadeset ispitivanih sorti (Tablica 5.).

**Tablica 5.** Sadržaj klorofila a (kl a), klorofila b (kl b), klorofila a+b (kl a+b), karotenoida (kar), omjer klorofila a i b (kl a/kl b) te omjer klorofila i karotenoida (kl/kar) u soku pšenične trave kod svih ispitivanih sorti.

| Sorte          | Kl a<br>(mg/g SvT) | Kl b<br>(mg/g SvT) | Kl a+b<br>(mg/g SvT) | Kar<br>(mg/g SvT) | kl a/kl b | kl/kar |
|----------------|--------------------|--------------------|----------------------|-------------------|-----------|--------|
| Renata         | 0,38               | 0,13               | 0,51                 | 0,12              | 3,05      | 4,42   |
| Ilirija        | 0,57               | 0,19               | 0,76                 | 0,17              | 3,12      | 4,33   |
| Aida           | 0,25               | 0,09               | 0,34                 | 0,07              | 2,95      | 4,51   |
| Super žitarka  | 0,29               | 0,10               | 0,39                 | 0,09              | 2,99      | 4,55   |
| Lucija         | 0,38               | 0,13               | 0,50                 | 0,11              | 2,93      | 4,39   |
| Renesansa      | 0,18               | 0,06               | 0,24                 | 0,05              | 3,08      | 4,48   |
| Sremica        | 0,29               | 0,09               | 0,38                 | 0,08              | 3,11      | 4,46   |
| Nizija         | 0,19               | 0,06               | 0,26                 | 0,06              | 2,96      | 4,30   |
| Redimer        | 0,30               | 0,10               | 0,40                 | 0,08              | 3,03      | 4,75   |
| Bambi          | 0,18               | 0,06               | 0,24                 | 0,05              | 3,07      | 4,54   |
| MV Magvas      | 0,30               | 0,10               | 0,40                 | 0,09              | 3,13      | 4,50   |
| MV Emese       | 0,34               | 0,11               | 0,44                 | 0,10              | 3,18      | 4,65   |
| MV Verbunkos   | 0,25               | 0,08               | 0,34                 | 0,08              | 3,12      | 4,43   |
| MV Mambo       | 0,30               | 0,10               | 0,40                 | 0,09              | 3,13      | 4,47   |
| MV Mazurka     | 0,41               | 0,13               | 0,54                 | 0,12              | 3,14      | 4,69   |
| San Pastore    | 0,21               | 0,07               | 0,29                 | 0,06              | 2,93      | 4,49   |
| Libellula      | 0,23               | 0,08               | 0,31                 | 0,07              | 2,93      | 4,40   |
| Fiorello       | 0,20               | 0,07               | 0,27                 | 0,06              | 2,81      | 4,33   |
| Lambriego Inia | 0,25               | 0,08               | 0,33                 | 0,07              | 3,02      | 4,49   |
| Arezzo         | 0,27               | 0,09               | 0,36                 | 0,08              | 2,98      | 4,47   |
| F test         | 1,88               | 1,69               | 1,83                 | 1,89              | 1,03      | 1,32   |
| P              | 0,0463             | 0,0814             | 0,0532               | 0,0454            | 0,4511    | 0,2274 |
| LSD            | 0,1972             | 0,0665             | 0,2634               | 0,585             | 0,2736    | 0,2870 |

Podaci su prosjek tri ponavljanja; ANOVA, F test, LSD test.

LSD testom je utvrđen značajno najveći sadržaj klorofila a u soku pšenične trave sorte Ilirija, hrvatskog porijekla te je iznosio 0,57 mg/g SvT te ujedno i najveći sadržaj karotenoida 0,17 mg/g SvT. Najniži sadržaj klorofila a i karotenoida je utvrđen kod sorata Bambi i Renesansa (kl a 0,18 mg/g SvT; kar 0,05 mg/g SvT).

F testom je utvrđen značajan utjecaj sorte na ukupnu antioksidativnu aktivnost u soku pšenične trave kod pet sorti hrvatskog porijekla ( $P=0,0008$ ) (Tablica 6.).

**Tablica 6.** Sadržaj fenola, flavonoida i antioksidativna aktivnost u soku pšenične trave kod pet sorti hrvatskog porijekla.

| Sorta         | Fenoli<br>( $\mu\text{g GA/ml soka}$ ) | Flavonoidi<br>( $\mu\text{g QC/ml soka}$ ) | DPPH<br>( $\text{mg IC}_{50\%}$ ) |
|---------------|--|--|-----------------------------------|
| Renata        | 1454,7                                 | 566,5                                      | 23,5 <sup>cd</sup>                |
| Ilirija       | 1367,3                                 | 536,5                                      | 21,1 <sup>d</sup>                 |
| Lucija        | 1311,1                                 | 570,7                                      | 26,7 <sup>bc</sup>                |
| Super Žitarka | 1148,8                                 | 421,3                                      | 28,9 <sup>ab</sup>                |
| Aida          | 1084,6                                 | 376,0                                      | 31,3 <sup>a</sup>                 |
| <b>F test</b> | 2,66                                   | 2,42                                       | 11,97                             |
| <b>P</b>      | 0,0954                                 | 0,1170                                     | 0,0008                            |

Podaci su prosjek tri ponavljanja; ANOVA, F test, prosjeci označeni različitim slovom se razlikuju prema LSD testu (<sup>a,b,c</sup>  $P=0,05$ ).

Prema LSD testu, najviša antioksidativna aktivnost je izmjerena u soku pšenične trave kod sorte Aida (31,3 mg IC<sub>50</sub>) te se nije značajno razlikovala od one izmjerene kod sorte Super žitarka (28,9 mg IC<sub>50</sub>). Najniža antioksidativna aktivnost je utvrđena u soku pšenične trave ekstrahiranom iz klijanaca sorte Ilirija te je iznosila 21,1 mg IC<sub>50</sub>%. Prosječni sadržaj fenola u soku pšenične trave kretao se od 1084,6 do 1454,7  $\mu\text{g GA/ml soka}$  dok se prosječni sadržaj flavonoida kretao od 376,0 do 570,7  $\mu\text{g QC/ml soka}$ .

U soku pšenične trave kod pet sorti srpskog porijekla, F testom je utvrđen značajan utjecaj sorte na antioksidativnu aktivnost ( $P=0,0041$ ), (Tablica 7.).

**Tablica 7.** Sadržaj fenola, flavonoida i antioksidativna aktivnost u soku pšenične trave kod pet sorata srpskog porijekla.

| Sorta         | Fenoli<br>( $\mu\text{g GA/ml soka}$ ) | Flavonoidi<br>( $\mu\text{g QC/ml soka}$ ) | DPPH<br>( $\text{mg IC}_{50\%}$ ) |
|---------------|--|--|-----------------------------------|
| Renesansa     | 1023,0                                 | 340,3                                      | 29,2 <sup>b</sup>                 |
| Sremica       | 1035,9                                 | 355,5                                      | 30,9 <sup>b</sup>                 |
| Nizija        | 864,4                                  | 359,2                                      | 42,5 <sup>a</sup>                 |
| Redimer       | 898,9                                  | 336,6                                      | 32,8 <sup>b</sup>                 |
| Bambi         | 874,6                                  | 378,1                                      | 40,5 <sup>a</sup>                 |
| <b>F test</b> | 2,44                                   | 0,09                                       | 7,75                              |
| <b>P</b>      | 0,1147                                 | 0,9841                                     | 0,0041                            |

Podaci su prosjek tri ponavljanja; ANOVA, F test prosjeci označeni različitim slovom se razlikuju prema LSD testu (<sup>a,b,c</sup>  $P=0,05$ )

Prema LSD testu, najviša antioksidativna aktivnost je izmjerena u soku pšenične trave kod sorata Nizija (42,5 mg IC<sub>50</sub>) i Bambi (40,5 mg IC<sub>50</sub>), koje se nisu međusobno statistički značajno razlikovale. Značajno najniža antioksidativna aktivnost je utvrđena u soku pšenične trave, ekstrahiranom iz klijanaca sorte Redimer (32,8 mg IC<sub>50</sub>), Sremica (30,9 mg IC<sub>50</sub>) i Renesansa (29,2 mg IC<sub>50</sub>), koje se također nisu međusobno statistički značajno razlikovale. Prosječni sadržaj fenola u soku pšenične trave kretao se od 864,39 do 1035,9  $\mu\text{g GA/ml soka}$  dok se prosječni sadržaj flavonoida kretao od 336,6 do 378,1  $\mu\text{g QC/ml soka}$ .



U soku pšenične trave kod pet sorti mađarskog porijekla, F testom nije utvrđen značajan utjecaj sorte na sadržaj fenola, flavonoida te antioksidativnu aktivnost (Tablica 8.).

**Tablica 8.** Sadržaj fenola, flavonoida i antioksidativna aktivnost u soku pšenične trave kod pet sorti mađarskog porijekla.

| Sorta         | Fenoli<br>( $\mu\text{g GA/ml soka}$ ) | Flavonoidi<br>( $\mu\text{g QC/ml soka}$ ) | DPPH<br>( $\text{mg IC50\%}$ ) |
|---------------|--|--|--------------------------------|
| MV Magvas     | 1150,0                                 | 464,9                                      | 20,9                           |
| MV Emese      | 1207,5                                 | 599,1                                      | 20,2                           |
| MV Verbunkos  | 1196,7                                 | 550,7                                      | 20,6                           |
| MV Mambo      | 1293,4                                 | 519,1                                      | 17,3                           |
| MV Mazurka    | 1250,4                                 | 440,7                                      | 20,4                           |
| <b>F test</b> | 1,29                                   | 0,85                                       | 0,98                           |
| <b>P</b>      | 0,3374                                 | 0,5254                                     | 0,4614                         |

Podaci su prosjek tri ponavljanja; ANOVA, F test, prosjeci označeni različitim slovom se razlikuju prema LSD testu (<sup>a,b,c</sup>  $P=0,05$ ).

Prosječni sadržaj fenola u soku pšenične trave kretao se od 1150,0 do 1293,4  $\mu\text{g GA/ml}$  soka, dok se prosječni sadržaj flavonoida kretao od 440,7 do 599,1  $\mu\text{g QC/ml}$  soka. Prosječna antioksidativna aktivnost se kretala od 17,3 do 20,9  $\text{mg IC50\%}$ . F testom je utvrđen značajan utjecaj sorte na sadržaj ukupnih fenola ( $P=0,0008$ ) i antioksidativnu aktivnost ( $P<0,0001$ ) u soku pšenične trave kod pet sorti talijanskog porijekla (Tablica 9.)

**Tablica 9.** Sadržaj fenola, flavonoida i antioksidativne aktivnosti u soku pšenične trave pet sorti talijanskog porijekla

| Sorta          | Fenoli<br>( $\mu\text{g GA/ml soka}$ ) | Flavonoidi<br>( $\mu\text{g QC/ml soka}$ ) | DPPH<br>(mg IC50%) |
|----------------|--|--|--------------------|
| San Pastore    | 1131,3 <sup>b</sup>                    | 346,6                                      | 25,6 <sup>b</sup>  |
| Libellula      | 1008,0 <sup>c</sup>                    | 369,7                                      | 35,3 <sup>a</sup>  |
| Fiorello       | 981,0 <sup>c</sup>                     | 393,4                                      | 36,4 <sup>a</sup>  |
| Lambriego Inia | 1267,6 <sup>a</sup>                    | 508,6                                      | 20,4 <sup>c</sup>  |
| Arezzo         | 1228,7 <sup>ab</sup>                   | 441,3                                      | 19,3 <sup>c</sup>  |
| <b>F test</b>  | 11,86                                  | 1,16                                       | 25,06              |
| <b>P</b>       | 0,0008                                 | 0,3848                                     | <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=0,05).

Prema LSD testu, najveći sadržaj fenola u soku pšenične trave utvrđen je kod sorte Lambriego Inia (1267,6  $\mu\text{g GA/ml soka}$ ) te se nije značajno razlikovao od sadržaja izmjenjenog u soku sorte Arezzo (1228,7  $\mu\text{g GA/ml soka}$ ). Najniži sadržaj fenola u soku pšenične trave utvrđen je kod sorte Fiorello (981,0  $\mu\text{g GA/ml soka}$ ) te se nije značajno razlikovao od sadržaja izmjenjenog u soku sorte Libellula (1080,0  $\mu\text{g GA/ml soka}$ ). Najviša antioksidativna aktivnost je izmjerena u soku pšenične trave kod sorata Fiorello (36,4 mg IC50) i Libellula (35,3 mg IC50), koje se nisu međusobno statistički značajno razlikovale. Značajno najniža antioksidativna aktivnost je utvrđena u soku pšenične trave, ekstrahiranom iz klijanaca sorata Arezzo (19,3 mg IC50) i Lambriego Inia (20,4 mg IC50), koje se također nisu međusobno statistički značajno razlikovale. Prosječni sadržaj flavonoida kretao se od 346,6 do 508,6  $\mu\text{g QC/ml soka}$ .

F testom je utvrđen značajan utjecaj sorte na sadržaj ukupnih fenola ( $P < 0,0001$ ), flavonoida ( $P = 0,0225$ ) i antioksidativnu aktivnost ( $P < 0,0001$ ) u sokovima pšenične trave kod svih dvadeset ispitivanih sorti (Tablica 10.).

**Tablica 10.** Sadržaj fenola, flavonoida i antioksidativna aktivnost u soku pšenične trave kod dvadeset ispitivanih sorti.

| Sorta          | Fenoli<br>( $\mu\text{g GA/ml soka}$ ) | Flavonoidi<br>( $\mu\text{g QC/ml soka}$ ) | DPPH<br>( $\text{mg IC}_{50\%}$ ) |
|----------------|--|--|-----------------------------------|
| Renata         | 1454,7                                 | 566,5                                      | 23,5                              |
| Ilirija        | 1367,3                                 | 536,5                                      | 21,1                              |
| Lucija         | 1311,1                                 | 570,7                                      | 26,7                              |
| Super Žitarka  | 1148,8                                 | 421,3                                      | 28,9                              |
| Aida           | 1084,6                                 | 376,0                                      | 31,3                              |
| Renesansa      | 1022,9                                 | 340,3                                      | 29,2                              |
| Sremica        | 1035,9                                 | 355,5                                      | 30,9                              |
| Nizija         | 864,4                                  | 359,2                                      | 42,5                              |
| Redimer        | 898,9                                  | 336,6                                      | 32,8                              |
| Bambi          | 874,6                                  | 378,1                                      | 40,5                              |
| MV Magvas      | 1150,0                                 | 464,9                                      | 20,9                              |
| MV Emese       | 1207,5                                 | 599,1                                      | 20,2                              |
| MV Verbunkos   | 1196,7                                 | 550,7                                      | 20,6                              |
| MV Mambo       | 1293,4                                 | 519,1                                      | 17,3                              |
| MV Mazurka     | 1250,4                                 | 440,7                                      | 20,4                              |
| San Pastore    | 1131,3                                 | 346,6                                      | 25,6                              |
| Libellula      | 1008,0                                 | 369,7                                      | 35,3                              |
| Fiorello       | 981,0                                  | 393,4                                      | 36,4                              |
| Lambriego Inia | 1267,6                                 | 508,6                                      | 20,4                              |
| Arezzo         | 1228,7                                 | 441,3                                      | 19,3                              |
| <b>F test</b>  | 7,15                                   | 2,12                                       | 20,96                             |
| <b>P</b>       | <0,0001                                | 0,0225                                     | <0,0001                           |
| <b>LSD</b>     | 177,24                                 | 174,13                                     | 4,6855                            |

Podaci su prosjek tri ponavljanja; ANOVA, F test, LSD test.

Prema LSD testu, najveći sadržaj fenola u soku pšenične trave utvrđen je kod sorte hrvatskog porijekla, Renata (1454,7  $\mu\text{g GA/ml soka}$ ) dok je, u usporedbi sa svim ispitivanim sortama, najniži sadržaj utvrđen kod sorte srpskog porijekla, Nizija (864,4  $\mu\text{g GA/ml soka}$ ). Najviši sadržaj flavonoida je utvrđen u soku pšenične trave kod sorte mađarskog porijekla, MV Emese (599,1  $\mu\text{g GA/ml soka}$ ), a najniži sadržaj kod sorte srpskog porijekla, Redimer (336,6  $\mu\text{g GA/ml soka}$ ). Najviša antioksidativna aktivnost je izmjerena u soku pšenične trave

srpskog porijekla, Nizija (42,5 mg IC50), a najniži kod sorte mađarskog porijekla, MV Mambo (17,3 mg IC50).

F testom je utvrđen značajan utjecaj države oplemenjivačkog porijekla na sadržaj kloroplastnih pigmenata (kl a P=0,0031; kl b P=0,0034; kl a+b P=0,0032; kar P=0,0031) te na omjer klorofila a i b (P=0,0043), u soku pšenične trave, (Tablica 11.).

**Tablica 11.** Prosječni sadržaj klorofila a (kl a), klorofila b (kl b), klorofila a+b (kl a+b), karotenoida (kar), omjer klorofila a i b (kl a/ kl b) te omjer klorofila i karotenoida (kl/ kar) u soku pšenične trave, grupirano po državama oplemenjivačkog porijekla.

| Sorte    | Kl a<br>(mg/g SvT) | Kl b<br>(mg/g SvT) | Kl a+b<br>(mg/g SvT) | Kar<br>(mg/g SvT)  | kl a/kl b          | kl/kar |
|----------|--------------------|--------------------|----------------------|--------------------|--------------------|--------|
| Hrvatska | 0,38 <sup>a</sup>  | 0,13 <sup>a</sup>  | 0,50 <sup>a</sup>    | 0,11 <sup>a</sup>  | 3,01 <sup>bc</sup> | 4,55   |
| Mađarska | 0,32 <sup>a</sup>  | 0,10 <sup>ab</sup> | 0,42 <sup>ab</sup>   | 0,09 <sup>ab</sup> | 3,14 <sup>a</sup>  | 4,51   |
| Italija  | 0,23 <sup>b</sup>  | 0,08 <sup>b</sup>  | 0,31 <sup>bc</sup>   | 0,07 <sup>b</sup>  | 2,93 <sup>c</sup>  | 4,44   |
| Srbija   | 0,23 <sup>b</sup>  | 0,07 <sup>b</sup>  | 0,30 <sup>c</sup>    | 0,07 <sup>b</sup>  | 3,05 <sup>ab</sup> | 4,44   |
| F test   | 5,19               | 5,12               | 5,18                 | 5,20               | 4,90               | 1,34   |
| P        | 0,0031             | 0,0034             | 0,0032               | 0,0031             | 0,0043             | 0,2697 |

Podaci su prosjek tri ponavljanja; ANOVA, F test, prosjeci označeni različitim slovom se razlikuju prema LSD testu (<sup>a,b,c</sup> P=0,05).

Prema LSD testu, najveći prosječni sadržaj klorofila a (0,38 mg/g SvT) , klorofila b (0,13 mg/g SvT), ukupnih klorofila (0,50 mg/g SvT) i karotenoida (0,11 mg/g SvT) utvrđen je kod sorti hrvatskog porijekla. Najniži prosječni sadržaj klorofila a (0,23 mg/g SvT) , klorofila b (0,07 mg/g SvT), ukupnih klorofila (0,30 mg/g SvT) i karotenoida (0,07 mg/g SvT) utvrđen je kod sorti srpskog porijekla. Sorte mađarskog porijekla imale su u prosjeku najveći omjer klorofila a/b (3,14) dok su sorte talijanskog porijekla imale najniži prosječni omjer klorofila a/b (2,93).

F testom je utvrđen značajan utjecaj države oplemenjivačkog porijekla na sadržaj ukupnih fenola ( $P < 0,0001$ ), flavonoida ( $P = 0,0003$ ) i antioksidativnu aktivnost ( $P < 0,0001$ ), u ispitivanim sokovima pšenične trave (Tablica 12.).

**Tablica 12.** Prosječni sadržaj fenola, flavonoida i antioksidativna aktivnost u soku pšenične trave, grupirano po državama oplemenjivačkog porijekla.

| Sorta    | Fenoli<br>( $\mu\text{g GA/ml soka}$ ) | Flavonoidi<br>( $\mu\text{g QC/ml soka}$ ) | DPPH<br>( $\text{mg IC50\%}$ ) |
|----------|--|--|--------------------------------|
| Hrvatska | 1273,9 <sup>a</sup>                    | 494,2 <sup>a</sup>                         | 26,3 <sup>b</sup>              |
| Mađarska | 1219,6 <sup>ab</sup>                   | 514,9 <sup>a</sup>                         | 19,9 <sup>c</sup>              |
| Italija  | 1123,3 <sup>b</sup>                    | 411,9 <sup>b</sup>                         | 27,4 <sup>b</sup>              |
| Srbija   | 939,4 <sup>c</sup>                     | 353,9 <sup>b</sup>                         | 35,2 <sup>a</sup>              |
| F test   | 17,08                                  | 7,25                                       | 18,83                          |
| P        | <0,0001                                | 0,0003                                     | <0,0001                        |

Podaci su prosjek tri ponavljanja; ANOVA, F test, prosjeci označeni različitim slovom se razlikuju prema LSD testu (<sup>a,b,c</sup>  $P = 0,05$ ).

Prema LSD testu, najveći prosječni sadržaj ukupnih fenola je utvrđena kod sorti porijeklom iz Hrvatske (1273,9  $\mu\text{g GA/ml soka}$ ) koje se nisu statistički značajno razlikovale od mađarskih sorti (1219,60  $\mu\text{g GA/ml soka}$ ). Najniži sadržaj ukupnih fenola je utvrđen u soku pšenične trave dobiveno iz sorti porijeklom iz Srbije (939,35  $\mu\text{g GA/ml soka}$ ). Mađarske i talijanske sorte se nisu međusobno statistički značajno razlikovale u vrijednostima ispitivanog pokazatelja. Najviši prosječni sadržaj flavonoida utvrđen je kod mađarskih sorti (514,9  $\mu\text{g QC/ml soka}$ ) te se nije značajno razlikovao od vrijednosti utvrđenih kod sorti hrvatskog porijekla (494,2  $\mu\text{g QC/ml soka}$ ). Najniži prosječni sadržaj flavonoida utvrđen je kod srpskih sorti (353,9  $\mu\text{g QC/ml soka}$ ) te se ove vrijednosti nisu značajno razlikovale od onih utvrđenih kod sorti talijanskog porijekla (411,9  $\mu\text{g QC/ml soka}$ ). Najviša antioksidativna aktivnost zabilježena je u prosjeku za srpske sorte (35,2  $\text{mg IC50\%}$ ) dok je najniža zabilježena kod sorti oplemenjivačkog porijekla iz Mađarske (19,9  $\text{mg IC50\%}$ ). Sorte talijanskog i hrvatskog porijekla se nisu međusobno značajno razlikovale u vrijednostima navedenog pokazatelja.

## 5. RASPRAVA

Znanstvenici odavno znaju da je pšenica postala glavna žitarica zbog nekoliko svojstava. Kumar (2011.) navodi kako pšenica ima nekoliko ljekovitih svojstva: škrob i gluten daju toplinu i energiju; unutrašnji omotač mekinja, fosfati i druge mineralne soli; vanjske mekinje, prijeko potrebna vlakna koja se ne mogu probaviti, što olakšava kretanje crijeva; klicama, vitaminima B i E i proteinima koji pomažu u izgradnji i popravku mišićnog tkiva. Cijela pšenica koja uključuje mekinje i klice pruža zaštitu od bolesti kao što su bolesti srca, upalu slijepog crijeva, bolest debelog crijeva i dijabetes. Pšenica koja je proklijala kroz 6 – 10 dana naziva se pšenična trava. Na temelju istraživanja pšenična trava smatra se bogatim izvorom hranjivih tvari i vitamina za ljudsko tijelo. U obliku svježeg soka ima visoke koncentracije klorofila, aktivnih enzima, vitamina i drugih hranjivih tvari. Sok pšenične trave ima klorofil koji neutralizira infekcije, liječi rane i sprječava upale, (Kothari, 2011.). To je zato što je sok pšenične trave najbogatiji izvor vitamina A, B, C, E i K, kalcija, željeza, magnezija, natrija, sumpora i 17 oblika aminokiselina (Kapil, 2012.).

Terapija pšeničnom travom preporuča se pacijentima koji boluju od kroničnih bolesti poput astme, kožnih bolesti, bolesti zglobova, dijabetesa, nesanicice i dr. (Ferruzzia i sur., 2007). Sok pšenične trave osigurava visoku razinu kisika kao i sve zelene biljke koje sadrže klorofil. Naš mozak kao i sva tjelesna tkiva funkcioniraju na optimalnoj razini u visoko oksidiranom okolišu (Miller 1941., Kapil 2012.). Dr. Bursher je izvijestio da kemijski sastav soka pšenične trave ima zapanjujuće sličnosti s kemijskom formulacijom ljudske krvi, pH faktor naše krvi je 7,4, a sok pšenične trave također ima isti zbog čega se brzo apsorbira u krv (Lam i sur., 1950., Kapil, 2012.). Dokazano je da sok pšenične trave ima veće količine vitamina C od naranče, a opće je poznato da je vitamin C snažan antioksidans koji pomaže u oporavku i prevenciji od bolesti. U soku pšenične trave također će se naći ista količina magnezija kao i u brokuli, mrkvi ili celeru. Magnezij je važan za dobru funkciju mišića i zdravlja crijeva jer pomaže kod eliminacije štetnih tvari Izvor je alkalnih, profilaktičkih i kurativnih elemenata i nadopunjuje proteine, ugljikohidrate i masti. (Bolda, 2011.).

Osim klorofila u biološki aktivne tvari spadaju i karotenoidi koje su znanstvenici proučavali i kao najvažnije izdvojili  $\beta$ -karoten, likopen, lutein i zeaksantin.  $\beta$ -karoten i likopen spadaju u skupinu karotenoida koji su topljivi u mastima, dok lutein i zeaksantin pripadaju ksantofilima koji imaju najmanje jednu hidroksilnu skupinu (Krinsky, 2005.). Lutein je dominantni karotenoid prisutan u pšenici, a zajedno sa zeaksantinom važan je za zdravlje kože i očiju ljudi jer apsorbiraju oštećujuće plavo svjetlo koje ulazi u oko (Kumar, 2011.).

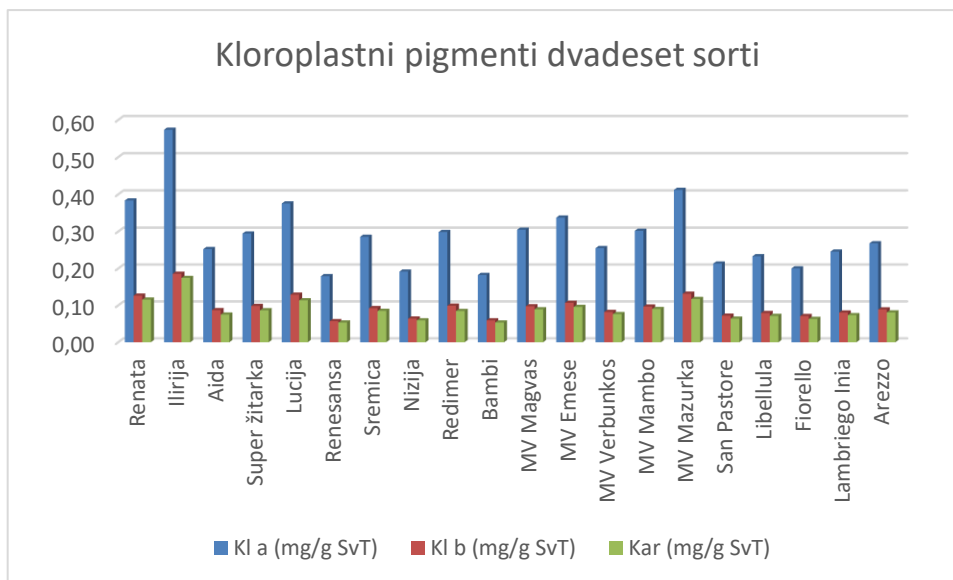
Karotenoidi imaju blagotvorni učinak što je posljedica njihove uloge kao antioksidanasa.  $\beta$ -karoten može imati dodatne prednosti zbog svoje sposobnosti da se pretvori u vitamin A. Pro-vitamin A se pretvara u vitamin A samo kada ga tijelo treba, čime se izbjegava potencijalna toksičnost predoziranja vitaminom A (Dutta i sur., 2005.). Dijetetski unos karotenoida povezan je sa smanjenim rizikom od različitih vrsta raka, kardiovaskularnih bolesti, metaboličkog sindroma i pretilosti. Ovi korisni zdravstveni učinci prehranbenih karotenoida uočeni su proučavanjem njihove bio dostupnosti, apsorpcije i metabolizma, jer ljudski organizam ne može sintetizirati te molekule već se moraju unositi hranom. Predložena biološka djelovanja karotenoida su brojna i uključuju njihovu uključenost u regulaciju gena, kao i njihove zaštitne uloge kao antioksidanata (Shmarakov i sur., 2013.). Karotenoidi su povezani s poboljšavanjem imunološkog sustava i smanjenim rizikom od degenerativnih bolesti kao što su starosna mišićna degradacija i stvaranje katarakte (Mathews, 1985., 1991.; Byers i sur., 1992.). Karotenoidi se također identificiraju kao potencijalni inhibitori Alzheimerove bolesti (Zaman, 1992.). Britton (1995.) smatra da bi karotenoidi kao učinkoviti antioksidansi morali ukloniti slobodne radikale iz sustava bilo reakcijom s njima da bi dobili bezopasni proizvod ili prekidom lančanih reakcija slobodnih radikala. Od svih poznatih karotenoida koji postoje u prirodi, ljudi unose manje od 40 koji su uobičajeni u voću i povrću. Karotenoidi su ograničeni u ljudskoj plazmi i uvelike su zastupljeni polinezasićenim ugljikovodicima,  $\beta$ -karoten, likopen te lipofilni ksantofili  $\beta$ -kriptoksantin, lutein i zeaksantin. Ostatak prehranbenih karotenoida unatoč njihovom relativnom izobilju u zelenom lisnatom povrću, općenito nije prisutan u ljudskim tkivima, npr. neoksantin koji je prisutan u višim biljkama, nikad nije otkriven u ljudskoj krvi. Pretpostavlja se da se neoksantin kao i drugi ksantofili mogu slabo apsorbirati u crijevima zbog njihovih polarnih karboksilnih skupina. Biodostupnost karotenoida djelomično je određena njihovim strukturnim svojstvima, što može odrediti njihovu topljivost u žučnim solima.

Fenol je važna komponenta svih biljaka, gdje se sintetizira iz L-tirozina ili L-fenilalanina putem šikimične kiseline. Enzimi za ovaj put ne nalaze se u životinjskim stanicama i stoga životinje ne proizvode fenol (ili razbijaju fenolni prsten), ali one koje jedu biljke nakupljaju fenole u svojim tkivima. Fenoli dobiveni iz biljaka u ljudskoj prehrani uključuju jednostavne fenole (hidroksibenzojeve kiseline), fenilpropanoide (hidroksicinamične kiseline), flavonoide (hidroksilne polifenole s tri prstena) i njihove kompleksne derivate, od kojih neki (poput aflavina crnog čaja) mogu biti prisutni u izvornoj biljci, ali nastaju tijekom

proizvodnje hrane. Fenoli daju svježiu hranu adstringentan okus i mogu biti izvor obezbojenja i "ukusnih okusa" (Lea, 1992). S ljudskog fiziološkog stajalište fenolni spojevi su od vitalnog značaja u odgovorima obrane, kao što su antioksidativna i antiproliferativna djelovanja. Fenolni spojevi su najizraženiji sekundarni metaboliti koji se nalaze u biljkama, a njihova distribucija je prikazana kroz cijeli proces metabolizma. Fenolni spojevi sadrže brojne vrste spojeva: jednostavne flavonoide, fenolne kiseline, kompleksne flavonoide i obojane antocijane (Babbar i sur., 2014.). Ovi fenolni metaboliti imaju važnu ulogu u drugim procesima, npr. ugradnji atraktivnih supstanci, ubrzavanju oplodnje, antibakterijskoj i antifungalnoj aktivnosti (Alasalvar i sur., 2001.; Acamovic i sur., 2005.; Edreva i sur., 2008.). Balasundram i sur. (2006.) opisali su antioksidativnu aktivnost, pojavu i latentnu upotrebu fenolnih spojeva u biljkama i autoindustrijskim nusproizvodima. Fenolni spojevi, npr. fenolne kiseline i flavonoidi mogu promicati zdravstvene beneficije smanjenjem rizika od metaboličkog sindroma i srodnih komplikacija dijabetesa tipa 2. Međutim, različite skupine fenolnih spojeva imaju različita biološka svojstva, a vrlo je malo poznato o mehanizmima pomoću kojih bi mogli doprinijeti prevenciji bolesti. Postoji više od 4000 poznatih flavonoida. Flavonoidi se osobito nalaze u drvenastim i vanjskim dijelovima biljaka (Macheix i sur., 1990.). Oni su stoga prisutni u onim dijelovima biljke, kao što su koža i sjemenke, koje se često odbacuju tijekom pripreme hrane. Kuhnau (1976.) je nazvao flavonoide "polu-esencijalnim" dijetetskim dijelovima; prema ovom gledištu, oni su bitni u prehrani kao skupina spojeva, bez da bilo koji individualni flavonoid ima istinsku "vitaminsku" funkciju. Ova "polu-esencijalna" funkcija može biti povezana s njihovom sposobnošću zaštite vitamina C i vitamina E od oksidativne razgradnje: (a) u biljci koja raste, (b) tijekom skladištenja hrane, (c) u procesu kuhanja, (d) tijekom digestija i apsorpcija i (e) u cirkulaciji i tjelesnim tkivima. Zbog toga što se flavonoidi uglavnom nalaze u biljnom materijalu u glikoziliranom obliku (konjugiranom s različitim ugljikohidratima), a ne kao aglikon (s izuzetkom biljke čaja *Camellia sinensis*, koja je bogata neglikoziliranim katehinima i galokatehinima) i zato što postoje nekoliko stotina prisutnih u prehrani, njihovo proučavanje u samoj hrani je analitički složeno. Izvorno se smatralo da se glikozidi ne mogu apsorbirati iz crijeva i da je stoga apsorpcija flavonoida iz prehrane zanemariva. Međutim, glikozilacija povećava topljivost flavonoida u vodi, a novija istraživanja su pokazala da ona zapravo olakšava njihovu apsorpciju iz gastrointestinalnog trakta u krvotok (Hollman, 1995.). Fenoli, osobito flavonoidi, fenolne kiseline i tanini imaju važnu osobinu inhibiranja  $\alpha$ -glukozidaze i  $\alpha$ -amilaze, koji su ključni enzimi i odgovorni za digestiju ugljikohidrata iz hrane u glukozu. (Lin i sur., 2016.).



Skoczylas i sur. (2017.) su ispitivali svježi i zamrznuti sok pšenične trave koji je čuvan tri mjeseca, a ispitan je u smislu: polifenolnih komponenti, ukupnih klorofila i karotenoida, antioksidativne i enzimske aktivnosti i boje. Sokovi su pripremljeni iz ljetne i zimske trave, u dvije faze rasta (16 i 21 cm). Prosječni sadržaj suhe tvari u svježem ljetnom soku pšenične trave bio je 48,7 g/kg, dok je u zimskom soku iznosio 52,0 g/kg. Srednja količina ukupnih topljivih krutina iznosila je 90 % i 93 % suhe tvari u ljetnom (S) i zimskom soku (W). Zamrzavanje i tromjesečno zamrznuto skladištenje sokova značajno je smanjilo razinu suhe tvari u sokovima S16 i S21 za 6 odnosno 10 %. Sadržaj pigmenata klorofila u 1 L sokova S16 i S21 bio je 481–565 mg, dok su sokovi W16 i W21 sadržavali 250-270 mg klorofila. Visok sadržaj klorofila u ljetnim sokovima vjerojatno je posljedica povećane izloženosti sunčevoj svjetlosti. Zelenu boju u sirovinama i proizvodima dobivenim iz njih određuje razina klorofila a i klorofila b, te njihove relativne proporcije. U našem istraživanju najveći sadržaj klorofila a (0,57 mg/g SvT), klorofila b (0,19 mg/g SvT) i karotenoida (0,17 mg/g SvT) imao je sok pšenične trave sorte Ilirija hrvatskog porijekla. Iako u našem istraživanju nije bilo zamrzavanja, između sorata su postojale razlike te je sorta Bambi imala najniži sadržaj klorofila a (0,18 mg/g SvT), klorofila b (0,06 mg/g SvT) i karotenoida (0,05 mg/g SvT). Sadržaj kloroplastnih pigmenata prikazan je u grafikonu 1. Sok pšenične trave također može biti vrijedan izvor karotenoida, budući da se njihov sadržaj u analiziranim sokovima pšenične trave kretao između 57,5 i 105,0 mg/L. Utvrđeno je da sok dobiven od trave sakupljene u lipnju u prosjeku sadrži 71 % više karotenoida od travanjske trave. Promjene u boji zelenih proizvoda tijekom skladištenja u smrznutom stanju nastaju zbog nestabilnosti klorofila, te je smrznuti sok pšenične trave sadržavao 19-30 % manje pigmenata klorofila od svježih sokova.

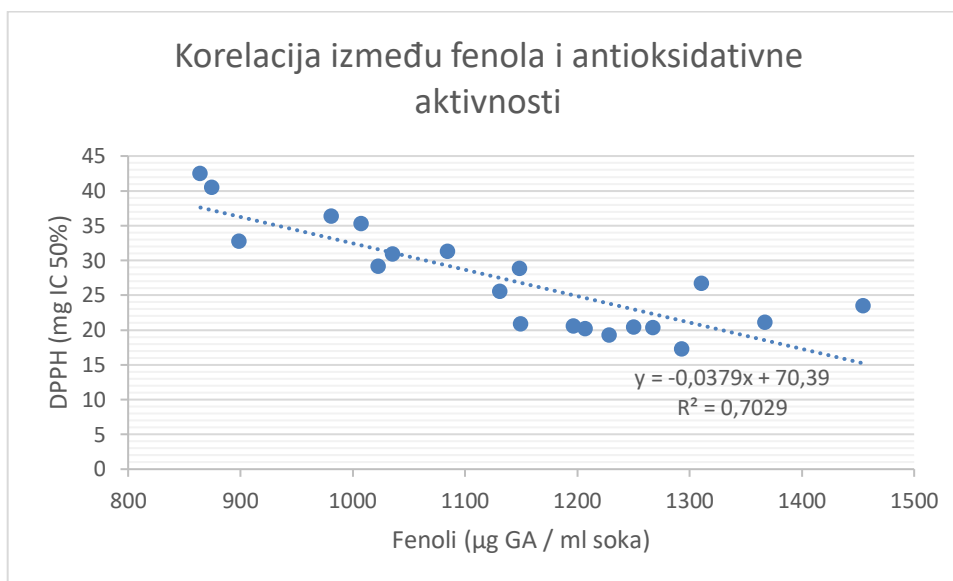


**Grafikon 1.** Sadržaj kloroplastnih pigmenata u istraživanim sortama

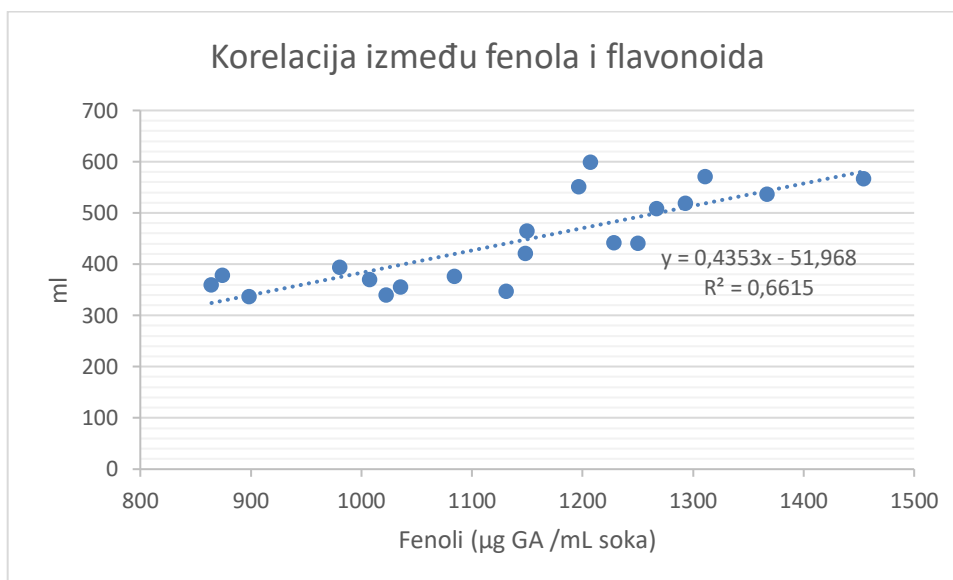
Skoczylas i sur. (2017.) utvrđuju da razine polifenola nisu bile značajno određene duljinom trave u ljetnim sokovima; međutim, u sokovima dobivenim iz zimske trave, polifenoli su bili približno 17 % viši u soku W16 nego u soku W21. U smrznutim sokovima, razina ukupnih polifenola povećala se nakon skladištenja za 3–41 %. Antioksidacijska aktivnost mjerena u 1 ml sokova dobivenih iz trave 16 i 21 cm duljine bila je 8.08–10.99 IM Troloxeq (DPPH) i 74.95–113.29 IM Troloxeq (ABTS). U soku dobivenom iz ljetne trave, antioksidacijska aktivnost procijenjena kao DPPH radikalna aktivnost bila je za 19 % niža nego u soku dobivenom iz zimske trave, dok je aktivnost ABTS kationa za uklanjanje radikala bila 44 % veća. Antioksidacijska aktivnost smrznutih sokova smanjila se u prosjeku za 8–36% (ABTS); razlike mjerene prema DPPH bile su neznatne. Ovaj rad je pokazao da su nakon zamrzavanja, sokovi zadržali 98 % sadržaja suhe tvari u svježim sokovima, 77 % ukupnih klorofila, 67 % karotenoida, 119 % ukupnih polifenola, 86 % aktivnosti katalaze i 100 % aktivnosti peroksidaze. Kvaliteta smrznutog proizvoda ovisi prvenstveno o kvaliteti sirovine, ali i o tehnološkim parametrima procesa zamrzavanja.

Ghumman i sur. (2017.) su procijenili kemijska, nutritivna i antiradikalna svojstva soka i brašna pšenične trave i mahunarki. Brašno pšenične trave pokazalo je veću sposobnost uklanjanja radikala, veći sadržaj pepela i klorofila te manji sadržaj proteina u usporedbi s brašnom mahunarki. Sok pšenične trave imao je znatno veći sadržaj K i Mg u usporedbi s mahunarkama. Utvrdili su da sadržaj pepela odgovara sadržaju minerala; veći sadržaj pepela ukazuje na prisutnost većih količina bitnih elemenata za sintezu klorofila. U njihovom

istraživanju sorte koje su imale veći sadržaj klorofila imale su i veću sposobnost uklanjanja radikala. U našem istraživanju sorte koje su imali najveći sadržaj klorofila nisu imali najvišu antioksidativnu aktivnost, što bi moglo biti rezultat sadržaja fenola koji kako su u svom istraživanju naveli Ghumman i sur. (2017.) može ovisiti o vezanju kiselina na fenolne baze.



**Grafikon 2.** Korelacija između fenola i antioksidativne aktivnosti u ispitivanim sortama



**Grafikon 3.** Korelacija između fenola i flavonoida u ispitivanim sortama

Ghumman i sur. (2017.) su također ustanovili pozitivne korelacije između sposobnosti uklanjanja radikala i ferulinske i sinapične kiseline, dok je sposobnost uklanjanja radikala bila negativno povezana s galnom i p-kumaričnom kiselinom. U njihovom istraživanju kapacitet uklanjanja radikala između brašna pšenične trave i brašna mahunarki varirao je od

36,1 % do 87,5 % odnosno 2,85–44,9 %. Sposobnost uklanjanja radikala pšenične trave pripisuje se klorofilu koji djeluje kao antioksidacijski sakupljač slobodnih radikala (Dhaliwal i sur., 2015.). Prema podacima iz grafikona 1. vidljivo je da je u našem istraživanju kod visokog sadržaja fenola, antioksidativna aktivnost bila niska i suprotno. Kako bi se utvrdio stvarni uzrok takvoj korelaciji, potrebno je utvrditi profil i zastupljenost pojedinačnih fenola u ukupnim fenolima, pošto se pojedine grupe fenola, dovode u svezu s padom ukupne antioksidacijske aktivnosti. Potencijal sposobnosti fenolnih spojeva za uklanjanje radikala ovisi o broju i položaju hidroksilnih skupina vezanih za strukturu prstena njihovih molekula (Rice-Evans i sur., 1996).

Piluzza i Bullita, (2011.) su ispitivali vezu između antioksidativne aktivnosti i sadržaja fenola kod dvadeset četiri biljne vrste mediteranskog područja. Za 24 acetonskih ekstrakata iz divljih i kultiviranih biljnih vrsta koje se tradicionalno koriste za zdravstvenu zaštitu životinja, utvrdili su trolox ekvivalentni antioksidacijski kapacitet TEAC metodom, te s dva testa, DPPH i ABTS. Ukupni fenoli, kao ekvivalent galne kiseline (GAE), su varirali u rasponu od 3,18 (*Allium sativum* L.) do 147,68 (*Pistacia lentiscus* L.) mg GAE/g suhe tvari. Visoke vrijednosti TEAC odgovarale su visokom sadržaju fenola, dok su biljke s niskom antioksidacijskom aktivnošću pokazivale nizak sadržaj fenola. TEAC test i ukupni sadržaj fenola su bili u pozitivnoj korelaciji i DPPH i ABTS test. Različiti odnosi između antioksidacijske aktivnosti i ukupnog sadržaja fenola mogu biti posljedica mnogih čimbenika. Također, moraju se uzeti u obzir potencijalne interakcije, odnosno sinergizam i antagonizam, između različitih antioksidanasa u smjesi koja antioksidacijsku aktivnost čini ne samo ovisnom o koncentraciji, već i o strukturi i interakciji između antioksidanasa. Piluzza i Bullita, (2011.) navode da uzorci poput *Artemisia arborescens* L., *Hedera helix* L., *Urtica dioica*, sa sličnom koncentracijom ukupnih fenola, variraju u antioksidacijskoj aktivnosti. Slično tome, *Pteridium aquilinum* i *Umbilicus rupestris* koje su imale različit ukupni sadržaj fenola, pokazale su sličnu antioksidacijsku aktivnost, ali vrijedi uzeti u obzir da antioksidacijska aktivnost biljnih ekstrakata može biti povezana s prisutnošću nekih pojedinačnih aktivnih fenolnih spojeva.

Adhikary i sur. (2017.) su proveli istraživanje s ciljem utvrđivanja fitokemijskog sastava pšenične trave (var. Kinesko proljeće) i vrednovati njegove antioksidativne potencijale u različitim fazama rasta (5., 7., 9., 11., 13. i 15. dan). Fitokemijske komponente su ekstrahirane s metanolom, te je ispitan ukupni sadržaj fenola i ukupni sadržaj flavonoida ekstrakta. Za procjenu antioksidacijske aktivnosti ekstrakta i utvrđivanje korelacija s

ukupnim sadržajem fenola i ukupnim sadržajem flavonoida korišteni su DPPH test, test obezbojenja  $\beta$ -karotena i sposobnost kelatiranja metala. Na temelju usporedbe IC50 podataka, pronađeno je da je aktivnost uklanjanja DPPH radikala u ekstraktu najbolja 7. dana rasta i ekvivalentna standardnoj galskoj kiselini. Ekstrakt je pokazao izvrsnu aktivnost keliranja metala i  $\beta$ -karotensko izbjeljivanje na 9. dan rasta, a IC50 odgovara standardnoj askorbinskoj kiselini, odnosno butiliranom hidroksitoluenu (BHT). Preliminarni pregled s tankoslojnom kromatografijom utvrdio je vjerojatne flavonoide koji bi mogli biti kvercetin, rutin ili mircetin i njihovi glikozidi. Značajne korelacije između antioksidacijskog djelovanja te ukupnog sadržaja fenola odnosno ukupniog sadržaja flavonoida ukazuju da su fenoli i flavonoidi glavni čimbenici antioksidativnog djelovanja.

## 6. ZAKLJUČAK

1. Međusobna usporedba sorti unutar države porijekla nije pokazala statistički značajan utjecaj sorte na sadržaj kloroplastnih pigmenata u soku pšenične trave.
2. U prosjeku za svih dvadeset ispitivanih sorti, utvrđen je značajan utjecaj sorte na sadržaj klorofila a i karotenoida te je najviša vrijednost obaju ispitivanih parametara utvrđena kod sorte hrvatskog porijekla Ilirija, a najniži sadržaj obaju navedenih kloroplastnih pigmenata kod sorata srpskog porijekla Renesansa i Bambi.
3. Kod sorata srpskog porijekla, najniža vrijednost antioksidativne aktivnosti je utvrđena kod sorte Renesansa dok je najviša vrijednost utvrđena u soku sorte Nizija.
4. Kod sorata hrvatskog porijekla, najniža vrijednost antioksidativne aktivnosti je utvrđena kod sorte Ilirija dok je najviša vrijednost utvrđena u soku sorte Aida.
5. Kod sorti mađarskog porijekla nije utvrđen značajan utjecaj sorte na sadržaj fenola, flavonoida i antioksidacijsku aktivnost.
6. Kod sorata talijanskog porijekla, u soku pšenične trave sorte Lambriego Inia utvrđen je najviši sadržaj fenola dok je najniža vrijednost utvrđena u soku pšenične trave sorte Fiorello. U soku pšenične trave sorte Arezzo utvrđena je najniža antioksidativna aktivnost, a najviše u soku pšenične trave sorte Fiorello.
7. U usporedbi svih dvadeset sorti najvišu vrijednost sadržaja ukupnih fenola je imala sorta hrvatskog porijekla Renata, a najniži sadržaj sorta srpskog porijekla Nizija, koja je ujedno imala i najveću antioksidacijsku aktivnost. Kod sorte MV Mambo, mađarskog porijekla, utvrđena je najniža vrijednost antioksidativne aktivnosti. Najniži sadržaj flavonoida je zabilježen u soku sorte srpskog porijekla, Redimer, a najviši u soku sorte mađarskog porijekla, MV Emese.
8. U prosjeku za sve sorte grupirane po državama porijekla, najveći prosječni sadržaj kloroplastnih pigmenata i ukupnih fenola zabilježen je kod sorti hrvatskog porijekla a najniži kod sorti srpskog porijekla. Najviši sadržaj flavonoida a ujedno i najniža antioksidativna aktivnost je utvrđena kod sorti mađarskog porijekla dok su srpske sorte imale najniži sadržaj flavonoida ali najveću antioksidativnu aktivnost.

## 7. POPIS LITERATURE

1. Aate J., Urade P., Potey L., Dr. Kosalge S. (2017.): A Review: Wheat Grass and its Health Benefits, International journal of pharmacy and pharmaceutical research, Vol.:9, Issue:4.
2. Acamovic T., Brooker J.D., (2005); Biochemistry of plant secondary metabolites and their effects in animals. Proc. Nutr Soc. 2005, 64, 403–412.
3. Adhikary M., Sarkar B. and Mukhopadhyay K. (2017.): Identification of flavonoids of Wheatgrass (*Triticum aestivum* L.) at various stages of growth and evaluation of their Antioxidant Activity; Oct 02-04, 2017; Bhubaneswar, Odisha, India: Can J biotech, Volume 1, Special Issue, Page 159.
4. Akbas E., Kilerciooglu M., Onder O. N., Koker A., Soyler B., Oztop M. H. (2016.): Wheatgrass juice to wheat grass powder: Encapsulation, physical and chemical characterization, Journal of Functional Foods, Volume 28, Pages 19-27.
5. Alasalvar C., Grigor J.M.; Zhang D.L., Quantick P.C., Shahidi F., (2001.); Comparison of volatiles, phenolics, sugars, antioxidant vitamins, and sensory quality of different colored carrot varieties. J.Agric. Food Chem. 2001, 49, 1410–1416.
6. Ashok S. A. (2011.): Phytochemical and pharmacological screening of wheatgrass juice (*Triticum Aestivum* L.), International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research
7. Aydos O. S, Avci A., Özkan T., Karadağ A., Gürleyik E., Altinok B., Sunguroğlu A. (2011.): Antiproliferative, apoptotic and antioxidant activities of wheatgrass (*Triticum aestivum* L.) extract on CML (K562) cell line, Turk J Med Sci 2011; 41 (4): 657-663.
8. Babbar, N., Oberoi, H.S., Sandhu, S.K., Bhargav, V.K., (2014.); Influence of different solvents in extraction of phenolic compounds from vegetable residues and their evaluation as natural sources of antioxidants, J. Food Sci. Technol. 2014., 51, 2568–2575.
9. Balasundram N., Sundram K., Samman, S., (2006.); Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. Food Chem. 2006, 99, 191–203.
10. Bolda R. B., (2011.); A study on wheat grass and its nutritional value, Food Science and Quality Management, ISSN 2225 – 0557, Vol 2, 2011.

11. Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E., Berset, C. (1995). Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie*, 28, pp.25-35.
12. Britton G. (1995.); Structure and properties of Carotenoids in relation to function. *FASEB J.* 9: 1551-1558.
13. Byers T., Perry G. (1992.); Dietary carotenes, Vit C and Vit E as protective antioxidants in human cancers, *Ann Rev. Nutr.* 12: 139-159.
14. Das A., Raychaudhuri U., Chakraborty R. (2012.): Effect of freeze drying and oven drying on antioxidant properties of fresh wheatgrass, *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 63:6, 718-721.
15. Dhaliwal, H.S., Sharma, N., Bano, A., Kumar, S. & Sharma, V. (2015). Non-enzymatic assay based in-vitro antioxidant activity and phytochemical screening of freeze dried wheat (*Triticum aestivum*) seedlings juice powder: Nature's finest medicine-Part-II. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 6, 4036–4046.
16. Dubravec K. D. i Regula I, (1995.); *Fiziologija bilja, školska knjiga Zagreb.*
17. Dutta D., Chaudhuri U. R., Chakraborty R., (2005.); Structure, health benefits, antioxidant property and processing and storage of carotenoids, *African Journal of Biotechnology* Vol. 4 (13), pp. 1510-1520.
18. Edreva A., Velikova V., Tsonev, T., Dagnon S., Gürel A.L., Aktas L., (2008.); Stress-protective role of secondary metabolites: Diversity of functions and mechanisms. *Gen. Appl. Plant. Physiol.* 2008, 34, 67–78.
19. Ferruzia MG., Blakesleeb J., (2007); Digestion, absorption, and cancer preventative activity of dietary chlorophyll derivatives. *Nutrition Research*, 2007; 27: 1-12
20. Ghumman A., Singh N. i Kaur A., (2017.); Chemical, nutritional and phenolic composition of wheatgrass and pulse shoots, *International Journal of Food Science and Technology* 2017, doi:10.1111.
21. Holm, G. (1954.): Chlorophyll mutations in barley. *Acta Agronomica Scandinavica.* 4: 457-471.



22. Hollman P.C.H., de Vries J.H.M., van Leeuwen S.D., Mengelers M.J.B., Katan M.B., (1955.); Absorption of dietary quercetin glycosides and quercetin in healthy ileostomy volunteers. *Am J Clin Nutr* 1995; 62: 1276–82.
23. Kapil S., (2012); *The Elixir Of Life, Wheatgrass Juice*. Popular Book Depot.
24. Kothari S., Jain, A., Mehta, SC. and Tonpay, SD., (2011); Hypolipidemic effect of fresh triticum aestivum (wheat) grass juice in hypercholesterolemic rats. *Acta Poloniae Pharmaceutica ñ Drug Research*, 2011; 68(2): 292-94.
25. Krinsky N. I, Johnson E. J., (2005.); Carotenoid actions and their relation to health and disease, *Molecular Aspects of Medicine* 26 (2005.) 459-516.
26. Kuhnau J., (1976.); The flavonoids: a class of semi-essential food components: their role in human nutrition. *World Rev Nutr Diet* 1976; 24: 117–20.
27. Kulkarni S. D., Tilak J. C., Acharya R., Rajurak 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, 218 – 227.
28. Kumar P., Yadava, R. K., Gollen, B., Kumar S., Verma R. K., Yadav S. (2011.); Nutritional Contents and Medicinal Properties of Wheat: A Review; *Life Sciences and Medicine Research*, Volume 2011: LSMR-22
29. Lam C, Brush B., (1950); Chlorophyll and wound healing. Experimental and clinical study. *Am J Surg*, 1950; 8: 204-210.
30. Lea A.G.H., (1992); Flavour, colour and stability in fruit products: the effect of polyphenols. In: Hemingway RW, Laks PE (eds) *Plant Polyphenols*. New York: Plenum Press, 1992, 827–47.
31. Lin D., Xiao M., Zhao J., Li Z., Xing B., Li X., Kong M., Li. L., Zhang Q., Liu Y., Chen H., Qin W., Wu H., Chen S., (2016.); An Overview of Plant Phenolic Compounds and Their Importance in Human Nutrition and Management of Type 2 Diabetes, *Molecules* 2016, 21, 1374
32. Macheix J.J., Fleuriet A., Billot J. (1990.); *Fruit Phenolics*. Boca Raton, FL: CRC Press, 1990.

33. Mathews-Roth M.M. (1985.); Carotenoid and cancer prevention experimental and epidemiological studies, *Pure. Appl. Chem.* 51: 717-722.
34. Mathews-Roth M.M. (1991.); Recent progress in the medical applications of carotenoids, *Pure Appl. Chem.* 63: 147-156.
35. Pevalek-Kozlina B., (2002.); *Fizijologija bilja*, Sveučilišni udžbenik.
36. Piluzza G. i Bullita S., (2011.); Correlations between phenolic content and antioxidant properties in twenty-four plant species of traditional ethnoveterinary use in the Mediterranean area, *Pharmaceutical Biology*, 2011; 49(3): 240–247.
37. Rice-Evans, C.A., Miller, N.J. & Paganga, G. (1996). Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free Radical Biology and Medicine*, 20, 933–956.
38. Shirude Anup Ashok (2011.): Phytochemical and pharmacological screening of wheatgrass juice (*Triticum aestivum L.*); *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*; Volume 9, Issue 1, July – August 2011; Article-029
39. Shmarakov I., Yuen J. J., Blaner W. S. (2013.); *Carotenoids and Human Health* (str 29-56), 10.1007/978-1-62703-203-2\_3.
40. Singleton, V.L., Rossi, J.A. (1965.): Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*. 16(3): 144-158.
41. Skoczylas L., Korus A., Tabaszewska M., (2017.); Evaluation of the quality of fresh and frozen wheatgrass juices depending on the time of grass harvest, *J Food Process Preserv.* 2017;e13401.
42. Sun T.-Y., Li J.-S, Chen C. (2015.): Effects of blending wheatgrass juice on enhancing phenolic compounds and antioxidant activities of traditional kombucha beverage, *Journal of food and drug analysis* 23, 709-718.
43. Suriyavathana M., Roopavathi I., Vijayan V. (2016.): Phytochemical Characterization of *Triticum Aestivum* (Wheat Grass), *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry* 2016; 5(1): 283-286.

44. Tugba A. K., Inci D. (2014.): A New Analytical Method for the Determination of Phenolic Compounds and Their Antioxidant Activities in Different Wheat Grass Varieties, *Ekoloji* 23, 90, 73-80.
45. von Wettstein, D. (1957.): Chlorophyll-letale und der submikroskopische form-wechsel der plastiden. *Experimental Cell Research*. 12(3): 427-506.
46. Zaman Z., Roche S., Fielden P., Frost P.G., Nerilla D.C., Cayley A.C.D. (1992.); Plasma concentration of vitamin a and E and carotenoids in Alzheimer's disease, *Age and Aging*. 21: 91-96.
47. Özköse 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, *Not Bot Horti Agrobi*, 2016, 44(2):499-507.
48. Woisky R, Salatino A. Analysis of propolis: some parameters and procedures for chemical quality control. *J Api Res*. 1998;37(99-105)

## 8. SAŽETAK

Mladi klijanci pšenice, koje nazivamo još i pšeničnom travom, bogati su izvor vitamina, minerala različitih fenolnih spojeva, klorofila i ostali biološki aktivnih komponenti sa velikim antioksidativnim potencijalom. Zbog svoje izrazite nutritivne vrijednosti danas je sve veći broj znanstvenih istraživanja čiji je cilj popularizacija i implementacija ovog dodatka u svakodnevnu prehranu ljudi. Cilj ovog rada je bio utvrditi da li postoje značajne razlike u sadržaju kloroplastnih pigmenata, fenola, flavonoida i ukupnoj antioksidacijskoj aktivnosti u soku pšenične trave kod 20 sorti. U pokusima je ispitivano 5 sorti hrvatskog, talijanskog, mađarskog i srpskog porijekla. Najvišu vrijednost sadržaja klorofila imala je hrvatska sorta Ilirija, a najnižu vrijednost imale su sorte srpskog porijekla Renesansa i Bambi. Najviša koncentracija fenola je utvrđena kod hrvatske sorte Renata. Najnižu koncentraciju fenola imala je sorta srpskog porijekla Nizija koja je imala najvišu vrijednost antioksidativne aktivnosti. Na sorti MV Mambo mađarskog porijekla utvrđena je najniža vrijednost antioksidativne aktivnosti. Prosječno najniži sadržaj flavonoida utvrđen je kod srpskih i talijanskih sorti. Dokazano je da kod nekih ispitivanih svojstava postoje sličnosti između sorti bez obzira na njihovo oplemenjivačko porijeklo. S druge strane, za neka ispitivana svojstva dokazana je sličnost između sorata ovisno o zemlji porijekla. Stoga je daljnja istraživanja nutritivne kvalitete soka pšenične trave potrebno usmjeriti na pretke sorti koje se ističu u određenim svojstvima kao i na njihove divlje srodnike.

## **9. SUMMARY**

Young seedlings of wheat, also called wheat grass, are rich source of vitamins, minerals, various phenolic compounds, chlorophylls, and other biologically active components with high antioxidant potential. Because of its nutritional value today, there is an increasing number of scientific research with goal of popularizing and implementing these supplement in the daily diet of people. The aim of this research was to find if there are significant differences in contents of chloroplast pigments, phenols, flavonoids and total antioxidant activity in wheat grass of 20 varieties. Five Croatian, Italian, Hungarian and Serbian varieties were examined in the experiments. The highest value of chlorophyll content was established in variety Ilirija, while the lowest value in Serbian varieties, Renesansa and Bambi. The highest concentration of phenol was found in the Croatian variety Renata. The lowest concentration of phenols was found in Serbian variety Nizi, which had the highest value of antioxidant activity. The lowest value of antioxidant activity was found on Hungarian variety MV Mambo. In the average, the lowest content of flavonoids was found in Serbian and Italian varieties. It has been shown that in some of the examined properties, there are similarities between varieties regardless of their breeding origin. Oppositely, for some of the examined parameters, similarity between varieties depends on the country of their origin, has been proven. Therefore, further research on the nutritional quality of wheat grass must be focused to the progenitors of the varieties that stand out in certain properties as well as their wild relatives.

## 10. POPIS TABLICA

**Tablica 1.** Sadržaj klorofila a (kl a), klorofila b (kl b), klorofila a+b (kl a+b), karotenoida (kar), omjer klorofila a i b (kl a/kl b) te omjer klorofila i karotenoida (kl/kar) u soku pšenične trave kod pet sorti hrvatskog porijekla. (Stranica 14)

**Tablica 2.** Sadržaj klorofila a (kl a), klorofila b (kl b), klorofila a+b (kl a+b), karotenoida (kar), omjer klorofila a i b (kl a/kl b) te omjer klorofila i karotenoida (kl/kar) u soku pšenične trave kod pet sorti srpskog porijekla. (Stranica 14)

**Tablica 3.** Sadržaj klorofila a (kl a), klorofila b (kl b), klorofila a+b (kl a+b), karotenoida (kar), omjer klorofila a i b (kl a/kl b) te omjer klorofila i karotenoida (kl/kar) u soku pšenične trave kod pet sorti mađarskog porijekla. (Stranica 15)

**Tablica 4.** Sadržaj klorofila a (kl a), klorofila b (kl b), klorofila a+b (kl a+b), karotenoida (kar), omjer klorofila a i b (kl a/kl b) te omjer klorofila i karotenoida (kl/kar) u soku pšenične trave kod pet sorti talijanskog porijekla. (Stranica 16)

**Tablica 5.** Sadržaj klorofila a (kl a), klorofila b (kl b), klorofila a+b (kl a+b), karotenoida (kar), omjer klorofila a i b (kl a/kl b) te omjer klorofila i karotenoida (kl/kar) u soku pšenične trave kod svih ispitivanih sorti. (Stranica 17)

**Tablica 6.** Sadržaj fenola, flavonoida i antioksidativna aktivnost u soku pšenične trave kod pet sorti hrvatskog porijekla. (Stranica 18)

**Tablica 7.** Sadržaj fenola, flavonoida i antioksidativna aktivnost u soku pšenične trave kod pet sorata srpskog porijekla. (Stranica 19)

**Tablica 8.** Sadržaj fenola, flavonoida i antioksidativna aktivnost u soku pšenične trave kod pet sorti mađarskog porijekla. (Stranica 20)

**Tablica 9.** Sadržaj fenola, flavonoida i antioksidativne aktivnosti u soku pšenične trave pet sorti talijanskog porijekla. (Stranica 21)

**Tablica 10.** Sadržaj fenola, flavonoida i antioksidativna aktivnost u soku pšenične trave kod dvadeset ispitivanih sorti. (Stranica 22)

**Tablica 11.** Prosječni sadržaj klorofila a (kl a), klorofila b (kl b), klorofila a+b (kl a+b), karotenoida (kar), omjer klorofila a i b (kl a/ kl b) te omjer klorofila i karotenoida (kl/ kar) u soku pšenične trave, grupirano po državama oplemenjivačkog porijekla. (Stranica 23)

**Tablica 12.** Prosječni sadržaj fenola, flavonoida i antioksidativna aktivnost u soku pšenične trave, grupirano po državama oplemenjivačkog porijekla. (Stranica 24)

## **11. POPIS SLIKA**

**Slika 1.** Omjeri crnog čaja i soka pšenične trave za fermentaciju mješavine pšenične trave i kombuchu napitka (Tzu-Ying Sun i sur., 2015.), (Stranica 4)

**Slika 2.** Rezultati sadržaja ukupnih fenola i DPPH (Tzu-Ying i sur., 2015.), (Stranica 4)

**Slika 3.** Sastav fenolnih kiselina nakon alkalne hidrolize brašna pšenične trave ekstrahiranog etil-acetatom prema HPLC rezultatima preračunato na suhu masu ( $\mu\text{g/g}$  uzorka). (Tugba i sur., 2014.), (Stranica 6)

**Slika 4.** Sposobnost uklanjanja DPPH radikala (% uklanjanja) ekstrakata u brašnu pšenične trave turske jantarne durum pšenice, (Tugba i sur., 2014.), (Stranica 7)

**Slika 5.** Pripremljeni uzorci za određivanje kloroplastnih pigmenata (Lucija Kereša), (Stranica 10)

**Slika 6.** Priprema uzoraka za određivanje ukupnih fenola (Lucija Kereša), (Stranica 11)

**Slika 7.** Pipetiranje uzoraka za spektrofotometrijsko određivanje ukupne antioksidativne aktivnosti (Lucija Kereša), (Stranica 12)

**Slika 8.** Kemikalije korištene za ekstrakciju i analizu sadržaja flavonoida (Lucija Kereša), (Stranica 13)



## **12. POPIS GRAFIKONA**

**Grafikon 1.** Sadržaj kloroplastnih pigmenata dvadeset sorti (Stranica 29)

**Grafikon 2.** Korelacija fenola i antioksidativne aktivnosti dvadeset sorti (Stranica 30)

**Grafikon 3.** Korelacija fenola i flavonoida između dvadeset sorti (Stranica 30)

# TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku

Diplomski rad

Fakultet agrobiotehničkih znanosti u Osijeku  
Sveučilišni diplomski studij, Povrćarstvo i cvjećarstvo

Sadržaj biološki aktivnih spojeva u soku pšenične trave

Lucija Kereša

## Sažetak

Mladi klijanci pšenice, koje nazivamo još i pšeničnom travom, bogati su izvor vitamina, minerala različitih fenolnih spojeva, klorofila i ostali biološki aktivnih komponenti sa velikim antioksidativnim potencijalom. Zbog svoje izrazite nutritivne vrijednosti danas je sve veći broj znanstvenih istraživanja čiji je cilj popularizacija i implementacija ovog dodatka u svakodnevnu prehranu ljudi. Cilj ovog rada je bio utvrditi da li postoje značajne razlike u sadržaju kloroplastnih pigmenata, fenola, flavonoida i ukupnoj antioksidacijskoj aktivnosti u soku pšenične trave kod 20 sorti. U pokusima je ispitivano 5 sorti hrvatskog, talijanskog, mađarskog i srpskog porijekla. Najvišu vrijednost sadržaja klorofila imala je hrvatska sorta Ilirija, a najnižu vrijednost imale su sorte srpskog porijekla Renesansa i Bambi. Najviša koncentracija fenola je utvrđena kod hrvatske sorte Renata. Najnižu koncentraciju fenola imala je sorta srpskog porijekla Nizija koja je imala najvišu vrijednost antioksidativne aktivnosti. Na sorti MV Mambo mađarskog porijekla utvrđena je najniža vrijednost antioksidativne aktivnosti. Prosječno najniži sadržaj flavonoida utvrđen je kod srpskih i talijanskih sorti. Dokazano je da kod nekih ispitivanih svojstava postoje sličnosti između sorti bez obzira na njihovo oplemenjivačko porijeklo. S druge strane, za neka ispitivana svojstva dokazana je sličnost između sorata ovisno o zemlji porijekla. Stoga je daljnja istraživanja nutritivne kvalitete soka pšenične trave potrebno usmjeriti na pretke sorti koje se ističu u određenim svojstvima kao i na njihove divlje srodnike.

**Rad je izrađen pri:** Fakultet agrobiotehničkih znanosti u Osijeku

**Mentor:** izv. prof. dr. sc. Miroslav Lisjak

**Broj stranica:** 44

**Broj grafikona i slika:** 11

**Broj tablica:** 12

**Broj literaturnih navoda:** 48

**Broj priloga:** /

**Jezik izvornika:** hrvatski

**Ključne riječi:** pšenična trava, sadržaj fenola, sadržaj flavonoida, kloroplastni pigmenti, antioksidativna aktivnost, DPPH

**Datum obrane:** 27.09.2019.

## Stručno povjerenstvo za obranu:

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

**Rad je pohranjen u:** Knjižnica Fakulteta agrobiotehničkih znanosti Osijeku, Sveučilištu u Osijeku, Vladimira Preloga 1.

# BASIC DOCUMENTATION CARD

Josip Juraj Strossmayer University of Osijek

Graduate thesis

**Faculty of Agrobiotechnical sciences**  
**University Graduate Studies, Vegetable and flower growing**

Content of biologically active compounds in wheat grass juice

Lucija Kereša

## **Abstract:**

Young seedlings of wheat, also called wheat grass, are rich source of vitamins, minerals, various phenolic compounds, chlorophylls, and other biologically active components with high antioxidant potential. Because of its nutritional value today, there is an increasing number of scientific research with goal of popularizing and implementing these supplement in the daily diet of people. The aim of this research was to find if there are significant differences in contents of chloroplast pigments, phenols, flavonoids and total antioxidant activity in wheat grass of 20 varieties. Five Croatian, Italian, Hungarian and Serbian varieties were examined in the experiments. The highest value of chlorophyll content was established in variety Ilirija, while the lowest value in Serbian varieties, Renesansa and Bambi. The highest concentration of phenol was found in the Croatian variety Renata. The lowest concentration of phenols was found in Serbian variety Nizi, which had the highest value of antioxidant activity. The lowest value of antioxidant activity was found on Hungarian variety MV Mambo. In the average, the lowest content of flavonoids was found in Serbian and Italian varieties. It has been shown that in some of the examined properties, there are similarities between varieties regardless of their breeding origin. Oppositely, for some of the examined parameters, similarity between varieties depends on the country of their origin, has been proven. Therefore, further research on the nutritional quality of wheat grass must be focused to the progenitors of the varieties that stand out in certain properties as well as their wild relatives.

**Thesis performed at:** Faculty of Agrobiotechnical Sciences Osijek

**Mentor:** PhD. Miroslav Lisjak, associate professor

**Number of pages:** 44

**Number of figures:** 11

**Number of tables:** 12

**Number of references:** 48

**Number of appendices:** /

**Original in:** Croatian

**Key words:** wheat grass, phenols content, flavonoids content, chloroplast pigments, antioxidant activity, DPPH

**Thesis defended on date:** 27.09.2019.

## **Reviewers:**

1. izv. prof. gr. sc. Andrijana Rebekić, chair

2. izv. prof. dr. sc. Miroslav Lisjak, mentor

3. prof. dr. sc. Tihana Teklić, member

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