

REPUBLIKA HRVATSKA
SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU
FAKULTET AGROBIOTEHNIČKIH ZNANOSTI OSIJEK

Marija Kristić, mag. ing. agr.

**BIOLOŠKI AKTIVNE KOMPONENTE PŠENIČNE TRAVE
(*TRITICUM AESTIVUM* L.) UZGAJANE U PROMJENJIVIM
EKOLOŠKIM UVJETIMA**

DOKTORSKA DISERTACIJA

Osijek, 2022.

REPUBLIKA HRVATSKA
SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU
FAKULTET AGROBIOTEHNIČKIH ZNANOSTI OSIJEK

Marija Kristić, mag. ing. agr.

**BIOLOŠKI AKTIVNE KOMPONENTE PŠENIČNE TRAVE
(*TRITICUM AESTIVUM* L.) UZGAJANE U PROMJENJIVIM
EKOLOŠKIM UVJETIMA**

- Doktorska disertacija -

Osijek, 2022.

REPUBLIKA HRVATSKA
SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU
FAKULTET AGROBIOTEHNIČKIH ZNANOSTI OSIJEK

Marija Kristić, mag. ing. agr.

**BIOLOŠKI AKTIVNE KOMPONENTE PŠENIČNE TRAVE
(*TRITICUM AESTIVUM* L.) UZGAJANE U PROMJENJIVIM
EKOLOŠKIM UVJETIMA**

- Doktorska disertacija -

Mentor: izv. prof. dr. sc. Miroslav Lisjak
Komentorica: izv. prof. dr. sc. Andrijana Rebekić

Povjerenstvo za ocjenu:

- 1. prof. dr. sc. Tihana Teklić, redovita profesorica Fakulteta agrobiotehničkih znanosti Osijek, predsjednica**
- 2. prof. dr. sc. Zdenko Lončarić, redoviti profesor Fakulteta agrobiotehničkih znanosti Osijek, član**
- 3. izv. prof. dr. sc. Ivana Generalić Mekinić, izvanredna profesorica Kemijsko-tehnološkog fakulteta u Splitu, član**

Osijek, 2022.

REPUBLIKA HRVATSKA
SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU
FAKULTET AGROBIOTEHNIČKIH ZNANOSTI OSIJEK

Marija Kristić, mag. ing. agr.

**BIOLOŠKI AKTIVNE KOMPONENTE PŠENIČNE TRAVE
(*TRITICUM AESTIVUM* L.) UZGAJANE U PROMJENJIVIM
EKOLOŠKIM UVJETIMA**

- Doktorska disertacija -

Mentor: izv. prof. dr. sc. Miroslav Lisjak
Komentorica: izv. prof. dr. sc. Andrijana Rebekić

**Javna obrana doktorske disertacije održana je 19. prosinca 2022. godine pred
Povjerenstvom za obranu:**

- 1. prof. dr. sc. Tihana Teklić, redovita profesorica Fakulteta agrobiotehničkih
znanosti Osijek, predsjednica**
- 2. prof. dr. sc. Zdenko Lončarić, izvanredni profesor Fakulteta agrobiotehničkih
znanosti Osijek, član**
- 3. izv. prof. dr. sc. Ivana Generalić Mekinić, izvanredni profesor Kemijsko-
tehnološkog fakulteta u Splitu, član**

Osijek, 2022.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku

Doktorska disertacija

Fakultet agrobiotehničkih znanosti Osijek

Poslijediplomski sveučilišni (doktorski) studij: Poljoprivredne znanosti

Smjer: Agrokemija

UDK: 633.19:631.147'527*633.19:665.112

Znanstveno područje: Biotehničke znanosti

Znanstveno polje: Poljoprivreda

Grana: Agroekologija

Biološki aktivne komponente pšenične trave (*Triticum aestivum* L.) uzgajane u promjenjivim ekološkim uvjetima

Marija Kristić, mag. ing. agr.

Disertacija je izrađena na Fakultetu agrobiotehničkih znanosti Osijeka Sveučilišta Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku

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

Komentorica: izv. prof. dr. sc. Andrijana Rebekić

Istraživanja su provedena s ciljem utvrđivanja hranidbene vrijednosti soka pšenične trave kao prirodnog dodatka prehrani. Ispitana je genetska specifičnost u sadržaju biološki aktivnih komponenti u soku pšenične trave kod 100 sorata pšenice euroazijskog oplemenjivačkog porijekla i 5 divljih srodnika, uzgajanih u klima komori. Na temelju dobivenih podataka odabrano je 9 sorti na kojima je ispitan utjecaj biofortifikacije pšenice selenom i cinkom u poljskom pokusu i dana otkosa pšenične trave uzgojene iz sjemena biofortificiranih biljaka, na sadržaj biološki aktivnih komponenti u soku. Poseban naglasak stavljen je na utjecaj ekoloških uvjeta uzgoja pšenične trave na antioksidativnu aktivnost i sadržaj nutritivno vrijednih fitokemikalija u soku. U uzorcima prikupljenih iz serija postavljenih pokusa utvrđen je sadržaj kloroplastnih pigmenta, fenola, flavonoida, flavanola, fenolnih kiselina, vitamina C, prolina i malondialdehida. Ukupna antioksidativna aktivnost u soku pšenične utvrđena je pomoću DPPH, FRAP i ORAC metoda te je određen kapacitet kelatiranja Fe iona. Rezultati upućuju na značajan utjecaj genotipa i ekoloških uvjeta uzgoja na nutritivnu kvalitetu soka pšenične trave. Također, utvrđeno je da odmak ekoloških uvjeta izvan granica optimuma za pšeničnu travu uzgajanu u kontroliranim uvjetima, a koji se odnose na smanjenje količine pristupačne vode, manji intenzitet osvjetljenja te niže temperature, povećavaju nutritivnu kvalitetu soka pšenične trave kroz stimulaciju sinteze i akumulaciju produkata sekundarnog metabolizma. Također, biofortifikacija Se i Zn je kod nekih sorata negativno utjecala na sadržaj vitamina C i flavonoida, kao važnih komponenti antioksidativnog statusa biljke, međutim kod nekih je sorata ovaj negativan utjecaj bio značajno manje izražen. Poznavanje specifičnosti kultivara i fiziološkog odgovora pšenične trave na različite uvjete uzgoja, omogućuje nam odabir sorti kod kojih je moguće agronomskom biofortifikacijom povećati koncentraciju i bioraspoloživost Se i Zn, bez negativnog utjecaja na važne komponente nutritivne kvalitete soka pšenične trave.

Broj stranica: 200

Broj slika i grafikona: 176

Broj tablica: 53

Broj literaturnih navoda: 159

Jezik izvornika: hrvatski

Ključne riječi: antioksidativna aktivnost, bioaktivne komponente, funkcionalna hrana, pšenična trava

Datum obrane: 19. 12. 2022.

Povjerenstvo za obranu:

1. prof. dr. sc. Tihana Teklić – predsjednica
2. prof. dr. sc. Zdenko Lončarić – član
3. izv. prof. dr. sc. Ivana Generalić Mekinić – član

Disertacija je pohranjena u:

Nacionalna i sveučilišna knjižnica u Zagrebu, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Gradska i sveučilišna knjižnica Osijek

BASIC DOCUMENTATION CARD

University of Josip Juraj Strossmayer in Osijek

PhD thesis

Faculty of Agrobiotechnical Sciences Osijek
Postgraduate university study: Agricultural sciences
Course: Agrochemistry

UDK: 633.19:631.147'527*633.19:665.112

Scientific Area: Biotechnical Sciences

Scientific Field: Agriculture

Branch: Agroecology

**Bioactive compounds in wheat grass (*Triticum aestivum* L.)
grown in variable environmental conditions**

Marija Kristić, M. Eng. Sc. Agr.

Thesis performed at Faculty of Agrobiotechnical Sciences Osijek, University of Josip Juraj Strossmayer in Osijek

Supervisor: Assoc. prof. Miroslav Lisjak, PhD

Co-supervisor: Assoc. prof. Andrijana Rebekić, PhD

Research was conducted with the aim of determining the nutritional value of wheatgrass juice as a natural food supplement. Genetic specificity in the content of biologically active components in wheatgrass juice was tested on 100 varieties of wheat of Eurasian breeding origin and 5 wild relatives. These varieties were grown in a climate chamber. Based on the obtained data, 9 varieties were selected, on which the impact of biofortification of wheat with selenium and zinc was tested in a field experiment and on the content of biologically active components in the juice. Special emphasis is placed on the influence of ecological growth conditions on antioxidant activity and the content of nutritionally valuable phytochemicals in wheatgrass juice. The content of chloroplast pigments, phenols, flavonoids, flavanols, phenolic acids, vitamin C, proline and malondialdehyde was determined in the samples collected from the set of experiments. Total antioxidant activity in wheatgrass juice was determined using DPPH, FRAP and ORAC methods, and Fe ion chelating capacity was determined. The results indicate a significant influence of genotype and ecological conditions of cultivation on the nutritional quality of wheatgrass juice. Also, it was determined that ecological conditions beyond the optimum for wheatgrass grown in controlled conditions, related to the reduction of the amount of accessible water, lower intensity of lighting and lower temperatures, increase the nutritional quality of wheatgrass juice through the stimulation of synthesis and the accumulation of products of secondary metabolism. Also, biofortification with Se and Zn had a negative effect on the content of vitamin C and flavonoids. These are important components of the plant's antioxidant status, however in some cultivars this negative influence was significantly less pronounced. Knowing the specificity of cultivars and the physiological response of wheatgrass to different growing conditions, allows us to select varieties where it is possible to increase the concentration and bioavailability of Se and Zn through agronomic biofortification, without negatively affecting the important components of the nutritional quality of wheatgrass juice.

Number of pages:200

Number of figures:176

Number of tables: 53

Number of references: 159

Original in: Croatian

Key words: antioxidant activity, bioactive compounds, functional food, wheat grass

Date of the thesis defense: 19. 12. 2022.

Reviewers:

- 1. Prof. Tihana Teklić, PhD** – president
- 2. Prof. Zdenko Lončarić, PhD** – member
- 3. Assoc. prof. Ivana Generalić Mekinić PhD** – member

Thesis deposited in:

National and University Library Zagreb, University of Josip Juraj Strossmayer in Osijek, City and University Library in Osijek

KAZALO

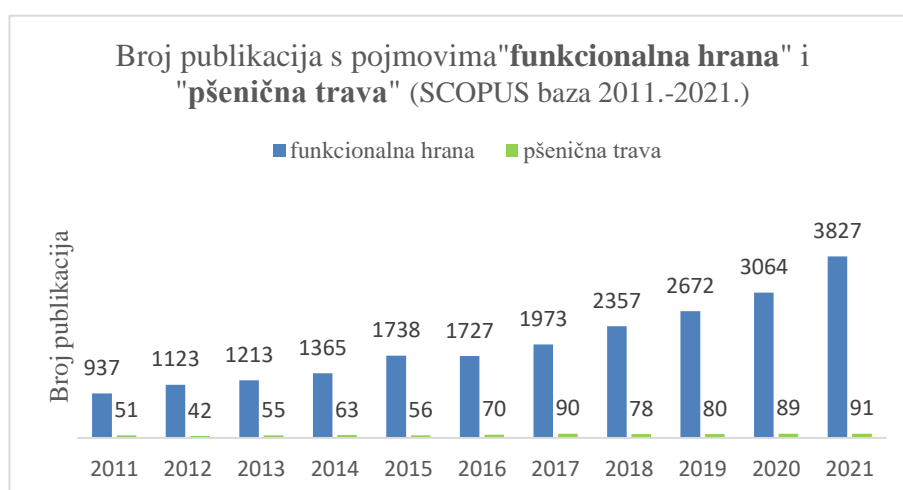
1. UVOD.....	1
2. PREGLED LITERATURE.....	3
3. CILJ ISTRAŽIVANJA.....	14
3.1. Ciljevi istraživanja.....	14
3.2. Hipoteza.....	14
4. MATERIJAL I METODE RADA.....	15
4.1. Uzgoj 100 sorti i 5 divljih srodnika pšenične trave u kontroliranim uvjetima	15
4.2. Uzgoj 9 sorti pšenice i biofortifikacija u polju	16
4.3. Uzgoj pšenične trave iz biofortificiranog zrna u kontroliranim uvjetima	17
4.4. Uzgoj pšenične trave iz biofortificiranog zrna u različitim ekološkim uvjetima u klima komori	17
4.5. Biljni materijal.....	17
4.6. Uzgoj pšenične trave i priprema soka	20
4.6.1. Priprema sjemena i sjetva	20
4.6.2. Uzgoj u kontroliranim uvjetima u klima komori	21
4.6.3. Priprema soka pšenične trave	22
4.7. Kemijske analize	22
4.7.1. Određivanje sadržaja kloroplastnih pigmenata.....	23
4.7.2. Određivanje sadržaja vitamina C.....	24
4.7.3. Određivanje antioksidativne aktivnosti pomoću DPPH metode.....	25
4.7.4. Određivanje antioksidativne aktivnosti FRAP metodom	26
4.7.5. Određivanje antioksidativne aktivnosti ORAC metodom	27
4.7.6. Određivanje sposobnosti kelatiranja.....	28
4.7.7. Određivanje sadržaja fenola	29
4.7.8. Određivanje sadržaja flavonoida	30
4.7.9. Određivanje sadržaja fenolnih kiselina.....	31
4.7.10. Određivanje sadržaja flavanola.....	32
4.7.11. Određivanje razine lipidne peroksidacije	32
4.7.12. Određivanje sadržaja prolina	33
4.8. Statistička obrada podataka	34
5. REZULTATI ISTRAŽIVANJA	36
5.1. Sadržaj biološki aktivnih komponenti u 100 sorti pšenične trave i 5 divljih srodnika.....	36
5.2. Pregled rezultata ispitivanja utjecaja dana otkosa na sadržaj biološki aktivnih komponenti u sokovima 9 sorata pšenične trave uzgojene iz zrna biljaka biofortificiranih Se i Zn u poljskom pokusu	44
5.2.1. Sadržaj kloroplastnih pigmenata u soku pšenične trave	44
5.2.2. Sadržaj antioksidanata i antioksidativna aktivnost (DPPH i FRAP) u soku 9 sorti pšenične trave biofortificirane Se i Zn.....	53

5.3. Pregled rezultata 9 sorti pšenične trave uzgajane u različitim okolišnim uvjetima.....	63
5.3.1. Utjecaj promijenjenih vodnih uvjeta na sadržaj bioloških komponenti u soku pšenične trave)	63
5.3.2. Utjecaj temperaturnih uvjeta uzgoja na sadržaj biološki aktivnih komponenti u soku pšenične trave	98
5.3.3. Utjecaj smanjenog osvjetljenja na biološki aktivne komponente u soku pšenične trave.	123
6. RASPRAVA.....	153
6.1. Sortna specifičnost pšenične trave u sadržaju biološki aktivnih komponenti u soku.....	153
6.2. Utjecaj dana otkosa i biofortifikacije Se i Zn na sadržaj biološki aktivnih komponenti u soku pšenične trave	154
6.3. Utjecaj uvjeta uzgoja na sadržaj biološki aktivnih komponenti u soku pšenične trave uzgajane u kontroliranim uvjetima	159
7. ZAKLJUČCI.....	167
8. LITERATURA	168
9. SAŽETAK	178
10. SUMMARY	179
11. PRILOG.....	180

Istraživanje je financirano od strane Hrvatske zaklade za znanost (HRZZ) u sklopu Uspostavnog istraživačkog projekta (UIP-2017-05-4292) Genotipska specifičnost pšenične trave (*Triticum aestivum* L.) visokonutritivnog prirodnog dodatka prehrani – WHEAT4GRASS, pod voditeljstvom izv. prof. dr. sc. Andrijane Rebekić

1. UVOD

Pod pojmom „funkcionalna hrana“ podrazumijevaju se namirnice i proizvodi koji su dio uobičajene prehrane, a kojima je dokazan pozitivan i blagotvoran učinak na zdravlje ljudi zbog čega nadilaze ono što je poznato pod pojmom „tradicionalni nutritivni učinak“. Štoviše, spomenuti korisni učinci se moraju znanstveno dokazati kako bi se opravdale dvije tvrdnje vezane uz pojam funkcionalne hrane: poboljšana funkcija te smanjenje rizika od bolesti (Roberfroid, 2002). U sklopu projekta FUFOSSE (The European Commission Concerted Action on Functional Food Science in Europe) Roberfroid (2002) navodi kako za dobrobit javnog zdravlja ne smijemo zanemariti razvoj funkcionalne hrane, već trebamo u potpunosti prepoznati njezinu korist i iskoristiti ju u što većoj mjeri. Özen i sur. (2014) u svom preglednom radu ističu iznimnu popularnost koju uživa funkcionalna hrana u Europi posljednjih godina. Birch i Bonwick (2019) su zaključili da je konzumacija funkcionalne hrane zapravo strategija za smanjenje učestalosti kroničnih zdravstvenih poremećaja što je potaknulo rast tržišta za funkcionalnom hranom, dok Dable-Tupas i sur. (2020) smatraju da će nova saznanja o učinku funkcionalne hrane na dobrobit ljudskog zdravlja dodatno povećati njezinu popularnost. Biljke koje obiluju biološki aktivnim sastojcima imaju farmaceutsku uporabu i visoku prehrambenu vrijednost. Biljni lijekovi ili dodaci prehrani također dobivaju na popularnosti, kao i znanstvena istraživanja o pšeničnoj travi u svojstvu „funkcionalne hrane“ (Minocha i sur., 2022). Ukoliko pregledamo broj publikacija s pojmom „funkcionalna hrana“ u naslovu, sažetku ili ključnoj riječi, vidjet ćemo da je u posljednjih deset godina broj istraživanja o navedenoj temi porastao za više od 308 % (Grafikon 1.) što je još jedna potvrda da se svijest o funkcionalnoj hrani kontinuirano povećava.



Grafikon 1. Broj publikacija koje su u naslovu, sažetku i ključnoj riječi imale pojmove "funkcionalna hrana" i "pšenična trava" u SCOPUS bazi u razdoblju od 2011.-2021. godine

Također iz Grafikona 1. vidljiv je porast broja publikacije s citiranosti pojmom „pšenična trava“ u posljednjih deset godina za 78 %. Pšenična trava je vrlo dobar izvor raznih vitamina, minerala i antioksidansa te ima dokazano protuupalno, antibakterijsko i antimikrobno djelovanje (Minocha i sur., 2022). Pšenična trava se koristi kao dodatak prehrani u obliku svježeg soka, praha ili tableta (Ogutu i sur., 2017; Rebecić i sur., 2019). Na svjetskoj razini, sve je veća zabrinutost zbog manjka dostatnih količina vitamina i minerala u prehrani koji zadovoljavaju potrebe organizma, odnosno stanja poznatog pod pojmom “skrivena glad” koje izaziva ozbiljne probleme u zemljama u razvoju gdje su žitarice glavni izvor hrane i nutrijenata (Ram i Govindan, 2020). Znanstvenici tvrde da navedeni problem zahvaća čak jednu trećinu ukupne svjetske populacije (Biesalski, 2013). Zink i selen su dva elementa koji uvelike doprinose normalnom razvoju organizma, a njihov je nedostatak u prehrani ujedno i najizraženiji. Stoga se opisani problem nedostataka nutrijenata može smatrati vrlo izazovnim zdravstvenim problemom te je potrebno pronaći odgovarajući način kako povećati unos potrebnih nutrijenata. Biofortifikacija usjeva jedno je od potencijalnih, učinkovitih, jednostavnih, brzih, sigurnih i relativno jeftinih načina kojim bi se osigurali važni nutrijenti u okviru globalne strategije za prevladavanje pothranjenosti nutrijentima (Szerement, 2021; Roy, 2022). Biofortifikacija selenom se može koristiti u svrhu povećanja prinosa usjeva u uvjetima koji nisu optimalni, ublažavajući negativne učinke okoline na metabolizam biljaka uz povećavanje antioksidativnih svojstva i sadržaja fitokemikalija u uzgajanim biljkama (Schiavon i sur., 2020).

Tijekom 1970-ih godina, otkriveno je da antioksidansi sprječavaju procese oksidacije, a time i nastanak stanja koje nazivamo oksidativni stres. Od tog otkrića, antioksidansi su se počeli intenzivno upotrebljavati kao dodaci u ljudskoj i animalnoj prehrani (Cömert i Gökmen, 2018; Granato i sur., 2020).

Biološki aktivne komponente kao što su flavonoidi, karotenoidi, fenolne kiseline i drugi spojevi sa sličnim antioksidacijskim djelovanjem, posebno su važni u deklariranju i proizvodnji funkcionalne hrane (Banwo i sur., 2021), a pretpostavka je kako će porast tržišta funkcionalne hrane zahtijevati sve više dokaza o njihovoj bioraspoloživosti i pozitivnim učincima na zdravlje (Birch i Bonwick, 2019).

2. PREGLED LITERATURE

Funkcionalna hrana

Interes potrošača za funkcionalnom hranom naglo raste zajedno sa znanstvenim interesom s ciljem utvrđivanja njezinih pozitivnih svojstava i utjecaja na ljudsko zdravlje. Glavni razlog navedenom je suvremeni način života i generalni porast broja stanovnika na planetu (Rani i sur., 2018). Funkcionalna hrana prvi put se spominje u Japanu sredinom osamdesetih godina. U to vrijeme spomenuti pojam se odnosio na prerađenu hranu koja, osim što je izvor energije, sadrži i sastojke blagotvornog utjecaja na specifične tjelesne i fiziološke funkcije. Danas još uvijek ne postoji točna definicija funkcionalne hrane (Hardy, 2000; Rani i sur., 2018). Funkcionalna hrana stoga može biti prirodnog porijekla ili je modificirana dodavanjem, uklanjanjem ili preinakom određenih komponenti kako bi u konačnici imala ciljani pozitivni utjecaj na ljudsko zdravlje (Rani i sur., 2018). Ona predstavlja obećavajući i dinamički dio prehrambene industrije koji se sve brže razvija zahvaljujući boljem razumijevanju i znanstvenim dokazima o uskoj povezanosti prehrane i ljudskog zdravlja (Friganović i sur., 2011).

Pšenična trava

Pšenična trava, odnosno mladi izdanci pšenice (*Triticum aestivum* L.) iz porodice Poaceae, se zbog svoje visoke nutritivne vrijednosti (Suriyavathana i sur., 2016; Grubišić i sur., 2019) ubrajaju u funkcionalnu hranu (Elayath i Iyer, 2012; Chomchan i sur. 2016; Kumar i sur. 2016; Ogutu i sur., 2017; Niroula i sur., 2019). Njezina visoka hranjiva vrijednost poznata je još iz doba starog Egipta (Sutar-Kapashikar i sur., 2018), no objavom rezultata znanstvenih istraživanja Charlesa Schnabela, 1930-ih godina, konzumacija pšenične trave se značajno proširila i u ljudskoj prehrani (Meyerowitz, 1999; Kumar i sur., 2016). Charles Schnabel je ispitivao učinak pšenične trave u hranidbi kokoši te utvrdio njezin pozitivni učinak na zdravlje kokoši i povećanje nosivosti u zimskom razdoblju u odnosu na one koje nisu hranjene pšeničnom travom. Zbog dokazanog pozitivnog utjecaja, Schnabel je patentirao pripravak od pšenične trave te se on ujedno smatra i prvim tržišno dostupnim funkcionalnim dodatkom prehrani. Danas su na tržištu dostupni pripravci pšenične trave u obliku praha, soka, tableta (Wigmore, 1985; Kumar i sur., 2016; Skoczylas i sur., 2018) ili se pak preporuča konzumacija svježe pšenične trave nakon otkosa (Wigmore, 1985). Pšenična trava ima visok sadržaj kloroplastnih pigmenata, minerala iz skupine makro-, mikro- i benefcijalnih elemenata, vitamina A i B kompleksa, C, E i K, flavonoida, bjelančevina i aminokiselina te ima dokazano

dobro antioksidativno djelovanje (Kulkarni i sur., 2006; Suriyavathana i sur., 2016; Skoczylas i sur., 2018; Devi i sur., 2018; Rebekić i sur., 2019). Pšenična trava se stoga koristi u prevenciji i liječenju različitih kroničnih bolesti (Rana i sur., 2011; Singh i sur., 2012; Chauhan, 2014; Payal i sur., 2015), pomaže u liječenju talasemije (Desai i sur., 2008), raka (Aydos i sur., 2011; Tandon i sur., 2011; Gore i sur., 2017), ima antialergijski učinak (Padalia i sur., 2010), pomaže u prevenciji i liječenju dijabetesa (Thammana i sur., 2016), ublažava simptome menopauze kod žena (Kumar i sur., 2017), koristi se u liječenju bolesti zubi (Mujoriya i Bodla, 2011) i brojnih drugih simptomatskih kroničnih i akutnih oboljenja.

Selen

Selen se od otkrića 1817. godine, smatrao toksičnim elementom. Međutim, Schwarz i Foltz su 1957. otkrili da nedostatak selena u ljudskom organizmu može uzrokovati nekrotičnu degeneraciju jetre. Nakon potvrde njegove beneficionalne funkcije, uslijedila su brojna istraživanja s ciljem ispitivanja preventivnog utjecaja selena na pojedine skupine bolesti kao i istraživanje njegove upotrebe u liječenju raznih bolesti (Reilly, 2006). Selen je poznat kao jedan od najkontraverznijih elemenata u tragovima. Razlog navedenom je što je u velikim dozama toksičan, a s druge strane, nedostatak selena u hranidbenom lancu je sa zdravstvenog aspekta globalni problem koji uzrokuje povećanu osjetljivost na razne bolesti kod životinja i kod ljudi (Lyons i sur., 2007). Međutim prva prava biokemijska, a time i fiziološka uloga selena u organizmu opisana je tek 1973. kada je otkriveno da je selen esencijalna komponenta enzima glutation peroksidaze (GPx). Danas se smatra da je selen esencijalni element za ljude, životinje (Vukadinović i Lončarić, 1998) i mikroorganizme (Kaur i sur., 2014) te je od temeljnog značaja za ljudsko zdravlje (Rayman, 2000; Ellis i Salt, 2003) s obzirom da je sastavni dio stanica imunološkog sustava čovjeka (Vukadinović i Lončarić, 1998) i ključan u suzbijanju razvoja virulentnosti i inhibiciji progresije HIV-a (Rayman, 2000; Hatfield i sur., 2016).

Također, selen je sastavni dio metabolizma hormona štitnjače i antioksidativnog obrambenog statusa (Rayman, 2000; Brown i Arthur, 2001; Rayman, 2012). Pozitivno utječe na plodnost kod muškaraca te može umanjiti rizik od pobačaja kod žena, a nedostatak selena se povezuje i sa slabim raspoloženjem. Selen ima važnu ulogu kod prevencije artritisa i arterioskleroze. Istraživanja su potvrdila pozitivan utjecaj veće koncentracije selena u krvi na smanjen rizik razvoja različitih kardiovaskularnih bolesti i povećanje antioksidativnog statusa u stanicama, što u konačnici rezultira povećanom otpornošću na uvjete stresa (Germ i Stibilj., 2007). Pokazalo se da spojevi sa selenom mijenjaju ekspresiju gena, utječu na oštećenje i popravak

DNA, utječu na stanične signalne puteve, inhibiraju staničnu proliferaciju, potiču apoptozu i inhibiraju nastajanje i razvoj metastaza različitih tipova tumora. Stoga je vjerojatno da pomanjkanje selena povećava rizik od nastanka raka (Hatfield i sur., 2012). Pojedine strukturne i fiziološke uloge selena u višim biljkama još nisu u potpunosti razjašnjene. Međutim, dokazan je njegov pozitivan utjecaj na povećanje tolerancije biljaka na oksidativni stres uzrokovan povećanim izlaganjem UV zračenju, usporavanje starenja i smanjenje štetnih učinaka sušnog stresa. Dokazano je i da selen sudjeluje u regulaciji vodnog statusa u biljkama u uvjetima suše (Germ i Stibilj, 2007) te da optimalni status selena u uvjetima nedostatka vode, smanjuje štetni utjecaj stresa (Yao i sur., 2009). Osim smanjenja štetnih posljedica stresa uzrokovanih otklonom abiotskih faktora, selen je također uključen i u povećanje otpornosti u uvjetima biotskog stresa izazvanog napadom različitih patogena i štetnika. Može spriječiti toksično djelovanje velikih koncentracija fosfora djelujući kao antagonist navedenom elementu što je naročito izraženo kod biljaka koje su njegovi hiperakumulatori (Kumar i sur., 2016). Mnogo je dokaza koji pokazuju da biofortifikacija usjeva poboljšava njihovu otpornost na abiotske čimbenike stresa (Dixit i sur., 2018; Feng i sur., 2013).

Cink

Potreba biljaka za cinkom je bila nepoznata sve do 1926. kada su Sommer i Lipman utvrdili da je cink potreban za rast i razvoj suncokreta i ječma (Nielsen, 2012). Iako je već desetljećima poznato da je cink neophodan za rast biljaka i životinja, esencijalnost cinka za ljude znanstveno je dokazana prije 40-ak godina (Prasad, 2008). Cink je značajan antioksidant, utječe na poboljšanje imuniteta i pomaže zacjeljivanje rana, važan je za rast fetusa i sintezu neurotransmitera u mozgu (Vukadinović i Vukadinović, 2011). Cink je kofaktor važnih enzima koji sudjeluju u pravilnom funkcioniranju antioksidativnog obrambenog sustava. Osim toga, cink štiti stanice od oksidativnih oštećenja, sudjeluje u stabilizaciji membrana i inhibira enzim nikotinamid adenin dinukleotid fosfat oksidazu (NADPH-oksidaža). Cink također inducira sintezu bjelančevina iz skupine metalotioneina koje su vrlo učinkovite u smanjenju razine hidroksilnih radikala i sekvestraciji na reaktivne kisikove jedinice (engl. *Reactive Oxygen Species*, ROS) koje se pojačano produciraju u stresnim uvjetima uslijed kroničnih i akutnih oboljenja, poput npr. dijabetesa tipa 2 (Chabosseau i Rutter, 2016; Marreiro i sur., 2017), pretilosti i raka (Marreiro i sur., 2017) i dr. Nedovoljan unos cinka prehranom, izaziva pojavu i razvoj različitih kožnih bolesti (Ogawa i sur., 2018), nastanak tumorskih tkiva (Prasad i sur., 2009), razne imunološke disfunkcije (Prasad, 2008), Alzheimerovu bolest, Wilsonovu bolest, depresiju (Chasapis i sur., 2012), usporava rast, izaziva probleme u regulaciji probave,

alopeciju, glositis, distrofiju noktiju te utječe na smanjenje imuniteta i hipogonadizam kod muškaraca (Saper i Rash, 2010). Jedna od kritičnih fizioloških uloga cinka u biološkim sustavima je njegova uloga u sintezi i metabolizmu proteina gdje je strukturni element velikog broja proteina. Procjenjuje se da je gotovo 2800 ljudskih proteina sposobno vezati cink, a također je važan kod enzima uključenih u sintezu proteina na ribosomima. Više od 300 enzima sadrži cink kao svoju bitnu katalitičku komponentu u samom reakcijskom centru. Glavna tri enzima koji sadrže cink su ugljična anhidraza (CA), alkohol dehidrogenaza (AD) i superoksid dismutaza (SOD) (Rattan 2015.). Ugljična anhidraza se nalazi u citoplazmi i katalizira prijenos i fiksaciju ugljičnog dioksida i bikarbonata u fotosintezi. Ovaj oblik enzima predstavlja ograničavajući faktor fiksacije CO₂ u biljkama C4 tipa fotosinteze. AD sudjeluje u pretvorbi acetaldehida u etanol u uvjetima hipoksije u rizosferi. Izoforme SOD, među kojima je i Zn-SOD, štite membranske lipide i proteine od oksidacije izazvane povećanom produkcijom superoksidnih radikala u slučaju narušavanja oksido-reduktivnog potencijala stanice, kada se slobodni elektroni vežu na atmosferski kisik. Enzimi koji sadrže cink sudjeluju u regulaciji fiziološke funkcije RNA, transkripciji s DNA te translaciji pri sintezi proteina (Hansch i Mendel 2009). Cink potiče sintezu citokroma C, sudjeluje u metabolizmu dušika i ugljikohidrata, utječe na usvajanje i premještanje fosfora (Rattan, 2015; Karthika i sur., 2018). Cink sudjeluje u regulaciji fizioloških funkcija biljaka te ima značajan utjecaj na njihov rast i razvoj, a time i na prinos. Ovaj mikroelement ima važnu ulogu u staničnim funkcijama kod svih živih organizama (Tsonev i Cebola Lidon, 2012; Ulhassan i sur., 2017). Aktivator je enzima, uključen je u ekspresiju i regulaciju gena, aktivnost fitohormona, sintezu proteina, fotosintezu, metabolizam ugljikohidrata, plodnost, formiranje sjemena i obranu od bolesti. Manjak cinka uzrokuje slabljenje fizioloških funkcija kod biljaka, što dovodi do značajne inhibicije rasta, nižih prinosa i loše kvalitete usjeva (Sadeghzadeh, 2013). Cink također utječe na mehanizme usvajanja i transporta vode, povećava kapacitet stanica za vodu čime se smanjuju štetni učinci kratkog razdoblja toplinskog ili solnog stresa, uslijed kojih dolazi do poremećaja u kretanju vode kroz biljku. Ovaj mikroelement je potreban za sintezu triptofana, aminokiseline iz koje se sintetizira hormon indol-3-octena kiselina, koja je najzastupljeniji oblik esencijalnog hormona rasta kod biljaka, auksina (Tsonev i Cebola Lidon, 2012). Sastavni je element približno 1200 proteina povezanih sa regulacijom DNA, transkripcijom na RNA, te translacijom i sintezom bjelančevina, a kao kofaktor prisutan je u enzimima iz skupine dehidrogenaza, proteinaza i peptidaza (Kumar i sur., 2016; Khan i sur., 2018).

Biofortifikacija

Gotovo kod polovice svjetskih tala na kojima se odvija poljoprivredna proizvodnja izražen je nedostatak cinka. Budući da žitarice imaju svojstveno niske koncentracije ovog elementa, njihovo uzgajanje na tlima s nedostatkom cinka dodatno smanjuje zastupljenost ovog elementa u zrnu. Dokazana je visoka povezanost između nedostatka cinka u tlima i kod ljudi. Manjak cinka peti je po redu uzrok smrti i bolesti u zemljama u razvoju. Prema Svjetskoj zdravstvenoj organizaciji (WHO), oko 800 000 ljudi godišnje umire od manjka cinka, od čega su 450 000 djeca mlađa od pet godina, a smatra se da oko trećine svjetskog stanovništva pati od nekog vida oboljenja uzrokovanog manjkom cinka (Das i Green, 2016). Isti se problem javlja i sa selenom te se smatra da oko 0,5 – 1 milijardi ljudi diljem svijeta ima veliki broj zdravstvenih problema povezanih s nedostatkom selena. Pretpostavlja se da čak i veći broj ljudi unosi manje doze selena od onih preporučenih koje bi rezultirale smanjenjem rizika od pojave i razvoja raka, kardiovaskularnih bolesti te teških zaraznih bolesti poput HIV-a (Paulraj i Kumar, 2016). Biofortifikacija, odnosno postupak ciljanog povećanja koncentracija esencijalnih elemenata u jestivim dijelovima biljaka, gnojidbom (agronomska biofortifikacija) ili selekcijom (genetska biofortifikacija) (Yin i sur., 2012), može biti rješenje za pothranjenost ili ublažavanje tzv. „skriveno gladi“ (Singh i sur., 2016; Duborská i sur., 2022). Ukoliko biofortifikacijom istovremeno apliciramo dva ili više elemenata onda govorimo o kobiofortifikaciji.

Biološki aktivne komponente

Prehrana bogata polifenolima ima značajnu ulogu u zaštiti od razvoja mnogih kroničnih patoloških stanja, uključujući rak, dijabetes, kardiovaskularne probleme. Uloga polifenola na ljudsko zdravlje još uvijek nije dovoljno istražena te je ova tematika vrlo aktualna u znanstvenim istraživanjima (Pandey i Rizvi, 2009). Do danas je otkriveno više od 8000 fenolnih spojeva (Altemimi i sur., 2017). Svi antioksidansi uništavaju slobodne kisikove jedinice koje izazivaju razvoj mnogih bolesti (Gupta, 2015)

Kulkarni i sur. (2006) su ispitivali antioksidativnu aktivnost pšenične trave metodom FRAP (engl. *Ferric Reducing Antioxidant Power Assay*). Vodeni i etanolni ekstrakti pripremljeni od pšenične trave uzgajane u različitim uvjetima ispitivani su 6., 7., 8., 10. i 15. dan nakon klijanja, a najviše vrijednosti FRAP-a su utvrđene u ekstraktima dobivenim iz klijanaca pšenične trave starih 15 dana.

Özköse i sur. (2016) su ispitivali utjecaj gnojidbe i otkosa na sadržaj klorofila, fenola, flavonoida, vitamina C i E te antioksidativne aktivnosti u sokovima tvrde pšenice, meke pšenice, engleskog ljulja i trstikaste vlasulje. Najveće vrijednosti sadržaja fenola su utvrđene u soku tvrde pšenice, a flavonoida u soku tvrde i meke pšenice. Primjena gnojiva je rezultirala

povećanjem sadržaja karotenoida i vrijednosti antioksidativne aktivnosti (osim kod engleskog ljulja), dok su vrijednosti sadržaja ukupnih flavonoida, fenola kod tvrde i meke pšenice te klorofila kod meke pšenice, bile značajno smanjene nakon gnojidbe.

Kaushal (2017) je provela istraživanje utjecaja vremena otkosa na antioksidativnu aktivnost u soku pšenične trave. Svaki dan do 15-og dana od klijanja je analiziran sok pšenične trave te je utvrđena najveća vrijednost antioksidativne aktivnosti kod biljaka starih 9 dana kao i pozitivna korelacija između vrijednosti sadržaja flavonoida i antioksidativne aktivnosti.

Urbonavičiūtė i sur. (2009) su ispitali utjecaj sorte na antioksidativna svojstva klijanaca pšenične trave. Sorte Širvinta 1 i Ada su se isticale najvišim vrijednostima antioksidativne aktivnosti, ali i sadržaja fenolnih spojeva, vitamina C i karotenoida.

Benincasa i sur. (2015) su analizirali izdanke različitih divljih srodnika pšenice (*Triticum aestivum* L.) te su ustanovili značajne razlike između vrijednosti sadržaja fenola i fenolnih kiselina u izdancima.

Agrawal i sur. (2015) su uspoređujući nutritivnu vrijednost soka pšenične trave ocijeđenog iz biljaka visokih 18-20, 23-25 te 28-30 cm, potvrdili da sok ocijeđen iz pšenične trave visoke između 23 i 25 cm, sadrži najviše fitokemikalija sa antioksidativnim djelovanjem.

Skoczylas i sur. (2018) su ustanovili značajne razlike u sadržaju klorofila u soku pšenične trave dobivenom iz biljaka uzgajanih do visine 16 odnosno 21 cm, dok između vrijednosti sadržaja karotenoida, polifenola, flavonoida i antioksidativne aktivnosti nisu potvrđene značajne razlike. Više vrijednosti ukupnih klorofila i karotenoida jesu utvrđene u soku pšenične trave dobivenom iz biljaka uzgajanih do visine 21 cm u ljetnom periodu, a u zimskom periodu više vrijednosti spomenutih parametara su dobivene u soku pšenične trave uzgajane do visine 16 cm.

Zbog svoje specifične metaboličke funkcije kod ljudi, sposobnost usvajanja, translokacije i akumulacije selena kod biljaka te unos u hranidbeni lanac, bili su također predmet brojnih istraživanja. Bez obzira što selen za biljke nije esencijalni element, dodatak selena tijekom rasta i njegova akumulacija povećava toleranciju biljaka na abiotske uzročnike stresa poput, niskih i visokih temperatura, nedostatak vode, zaslanjenost tla, UV zračenje i prisustvo teških metala (Hawrylak-Nowak i sur., 2018).

Chu i sur. (2010) su istraživali učinak selena na rast i fiziološka svojstva klijanaca pšenice (*Triticum aestivum* L. cv Han NO.7086) izloženih niskim temperaturama te zaključili da opskrba selenom može povećati antioksidacijski kapacitet mladih biljaka te da optimalna koncentracija selena ima utjecaj na smanjenje proizvodnje slobodnih radikala i peroksidaciju

lipida u membrani.

Yao i sur. (2009) su proučavali učinak selen na rast i fiziološka svojstva pšenice (*Triticum aestivum* L. cv Shijiazhuang NO. 8) izložene sušnom stresu. Tretmani sa 1,0, 2,0 i 3,0 mg Se/kg značajno su utjecali na povećanje aktivnosti korijena, sadržaj prolina, aktivnost peroksidaze i katalaze, sadržaj karotenoida i klorofila. Iz dobivenih rezultata autori zaključuju kako optimalna opskrba selenom ima povoljan učinak na rast pšenice u uvjetima suše.

Wang i sur. (2020) su ispitivali učinak kemijskog oblika selen dodanog u različitim fenološkim fazama pšenice. Njihovi rezultati pokazuju da je biofortifikacija pšenice selenom najučinkovitija u količini 20 g/kg selenata dodano folijarno u fazi prije nalijevanja zrna.

Ghumman i sur. (2017) su utvrdili razliku u sadržaju kloroplastnih pigmenata u soku pšenične trave dviju sorti, PBW343 (7,05 mg/g) i RAJ3765 (6,69 mg/g), no za DPPH vrijednost nije dokazana statistički značajna razlika između ispitivanih sorti. Također, utvrđen je značajan utjecaj sorte na sadržaj pojedinih fenolnih spojeva i to na galnu, ferulinsku, p-kumarinsku i sinapičnu kiselina.

Chomchan i sur. (2016) su proučavali razlike u fitokemijskim sastojcima, fenolnom profilu i antioksidativnom djelovanju kod soka rižine i pšenične trave. Sok pšenične trave sadržavao je više ukupnih klorofila (2,827 mg/g sv.t.), karotenoida (0,051 mg/g sv.t.), vitamina C (0,487 mg/g sv.t.) te imao bolju antioksidativnu aktivnost utvrđenu FRAP metodom (7,78 mg pirogalol/g) u usporedbi sa sokom rižine trave.

Özköse i sur. (2016) su istraživali hranjivi potencijal soka kod više vrsta trava, tvrde pšenice, meke pšenice, engleskog ljulja i trstikaste vlasulje. Sok pšenične trave (*Triticum sp.*) je sadržavao više fenola (tvrda pšenica, 443 mg GAE/L) i flavonoida (meka pšenica 598,7 mg KTE/g sv.t.) te značajno manje ukupnih klorofila u usporedbi s vrstama *Lolium* i *Festuca*.

Benincasa i sur. (2015) su određivali sadržaj ukupnih fenola i fenolnih kiselina u pšeničnoj travi različitih *Triticum* vrsta (*T. monococcum* L. ssp. *monococcum* var. Monlis, *T. turgidum* L. spp. *dicoccum* var. Augeo; var. Ross Rubino; var. Zefiro, *T. aestivum* L. spp. *spelta* var. Pietro; var. Giuseppe), *T. turgidum* L. ssp. *durum* var. Creso i *T. aestivum* L. ssp. *aestivum* var. Orso). Varijeteti vrsta *T. monococcum* L. i *T. turgidum* L. su sadržavali dva puta više fenolnih kiselina, u usporedbi s preostalim ispitivanim vrstama, ali autori zaključuju kako sve ispitivane vrste imaju veliki hranjivi potencijal te se mogu koristiti kao funkcionalna hrana zbog sadržaja visokovrijednih hranjivih tvari.

Kaur i sur. (2021) su određivali antioksidativnu aktivnost DPPH metodom, sadržaj fenola, flavonoida, aminokiselina, kloroplastnih pigmenata te mineralni sastav praha dobivenog od

soka pšenične trave, četiriju sorata. Sorte HD-3086 i C-306 su se isticala značajno višim vrijednostima antioksidativne aktivnosti utvrđene DPPH metodom, u usporedbi s druge dvije ispitivane sorte.

Şavşatlı (2020) je proučavao antioksidativnu aktivnost pšenične trave deset sorti iz grupa tvrdih i mekih pšenica, *T. durum* L. (Meram-2002, Selçuklu-97, Saribaşak), *T. aestivum* L. (Ekiz, Konya-2002, Karahan-99, Altınbaşak, Altınöz, Adana-99) i *T. monococcum* L. Najvišim vrijednostima sadržaja ukupnih fenola (mg GA/g sv.t.) i najvećom antioksidativnom aktivnošću isticala su se sorte tvrdih pšenica Selçuklu-97 i Saribaşak te divlji srodnik *T. monococcum* L.

Kaushal (2017) je proučavala utjecaj dana otkosa na sadržaj flavonoida i antioksidativnu aktivnost u soku pšenične trave. Autorica je sok analizirala od prvog do petnaestog dana. Vrijednosti za oba svojstva su rasle do 9. dana kada su utvrđeni maksimumi te je do 15. dana primijećen pad vrijednosti ispitivanih parametara. Zaključuje kako bi se za sok s najboljim hranjivim svojstvima otkos trebao obaviti tjedan dana nakon sjetve.

Skoczylas i sur. (2018) su uspoređivali sadržaj klorofila, karotenoida, ukupnih fenola, flavonoida i antioksidativnu aktivnost utvrđenu DPPH metodom, u soku pšenične trave uzgajane do određene visine tijekom zimskog odnosno ljetnog perioda. U oba perioda otkos se vršio pri visini izdanaka pšenice 16 i 21 cm. U oba perioda, 10. dan od sjetve pšenična trava je bila visoka 16 cm, a 12. dan u zimskom, odnosno 15. dan u ljetnom periodu, trava je dosegla visinu od 21 cm. U ljetnom razdoblju sok pšenične trave dobiven od biljaka visine 21 cm, odnosno u drugom otkosu, imao je više vrijednosti sadržaja klorofila a (423,2 mg/L), klorofila b (141,8 mg/L), ukupnih klorofila (565 mg/L), karotenoida (105 mg/L) u usporedbi sa sokom koji je cijeden iz pšenične trave stare 10 dana, visine 16 cm. Također su utvrđene više vrijednosti sadržaja flavonoida (553,6 mg KTE/L) i veća antioksidativna aktivnost (9,07 µM TroloxE/mL). Nasuprotno, u soku pšenične trave koja je uzgaja u zimskom periodu, više vrijednosti sadržaja klorofila a (214,8 mg/L), klorofila b (55,6 mg/L), ukupnih klorofila (270,4 mg/L), karotenoida (59,4 mg/L), ukupnih polifenola (932,6 mg KTE/L), flavonoida (443,4 mg KTE/L) i antioksidativne aktivnosti (10,99 µM TroloxE/mL) su utvrđene kod biljaka starih 10 dana, odnosno nakon prvog otkosa.

Kulkarni i sur. (2006) su proučavali antioksidativno djelovanje vodenih i etanolnih ekstrakata pšenične trave rezane na 6., 7., 8., 10. i 15. dan od dana sjetve. Zamijećen je rast vrijednosti sadržaja fenola i flavonoida u vodenim i etanolnim ekstraktima pšenične trave, od 6. do 15. dana. FRAP vrijednost je bila najniža na 6. dan otkosa, a najviša 15. dan otkosa, odnosno 7.

dan otkosa u pojedinim uvjetima uzgoja.

Jančić i sur. (2022) su ispitali nutritivni sastav, sadržaj biološki aktivnih tvari i antioksidativno djelovanje pirove trave (*Triticum spelta* L.). Otkosi su obavljani 9., 11. i 12. dan od dana proklijavanja. Najviši sadržaj ukupnih fenola u vodenim ekstraktima (107,1 mg GAE/g) i najviša antioksidativna aktivnost utvrđena FRAP metodom (101,4 μ M TroloxE/g), utvrđena je u ekstraktima dobivenim iz klijanaca starih 9 dana.

Akcan Kardaş i Durucasu (2014) su istraživali utjecaj dana otkosa (15, 30 i 40 dana od sjetve) na sadržaj fenola i antioksidativnu aktivnost pšenične trave te utvrdili da sadržaj ukupnih fenola i antioksidativna aktivnost opadaju sa starenjem biljaka, odnosno u kasnijim otkosima.

Şavşatlı (2020) je također određivao antioksidativnu aktivnost i sadržaj ukupnih fenola u soku deset sorti pšenične trave koje pripadaju mekim odnosno tvrdim pšenicama te kod divljeg srodnika, *T. monococcum* L. Otkos pšenične trave je odrađen na tri visine (5-6, 8-9 i 11-12 cm). U prosjeku za sve sorte, najviša vrijednost antioksidativne aktivnosti je utvrđena kod pšenične trave visoke 8-9 cm, dok je najviši sadržaj ukupnih fenola utvrđen kod pšenične trave visine 11-12 cm (36,4 mg GAE/g sv.t.).

Parit i sur. (2018) su također istraživali učinak dana otkosa na antioksidativnu aktivnost pšenične trave. Ekstrakti pšenične trave su analizirani 0., 8. i 16. dan nakon klijanja. Rastući trend antioksidativne aktivnosti određene DPPH i FRAP metodom zabilježen je kod kasnijih otkosa te je najviša vrijednost utvrđena u ekstraktima dobivenim iz biljaka starih 16 dana.

Germ i Stibilj (2007) navode da selen može povećati otpornost biljaka na oksidativni stres izazvan UV zračenjem i potaknuti rast starih sadnica. Nedavno je dokazano da selen značajno utječe na sposobnost regulacije vodnog statusa biljaka u uvjetima suše.

D'Amato i sur. (2018) su zaključili da je biofortifikacija rižinih klica selenom učinkovit način povećanja sadržaja selena i fenolnih kiselina u ljudskoj prehrani. Rižine klice su naklijavane u vodi, otopini natrijeva selenita i natrijeva selenata i to u koncentracijama 15, 45, 135 i 405 mg/L. Autori navode da su klijanci riže naklijavani pri koncentraciji otopine natrijevog selenita 45 mg/L imali su visoki sadržaj Se i fenolnih kiselina.

D'Amato i sur. (2020) navode kako su dosadašnja istraživanja uvijek imala za cilj odrediti učinak Se na agronomske i fiziološke parametre biofortificiranih biljaka. Autori smatraju kako su kod većine istraživanja korištene previsoke koncentracije otopina Se koje inhibiraju rast biljke te da se buduća istraživanja trebaju usredotočiti i na oblik Se, koncentraciju, vrijeme i način primjene i to za svaku biljnu vrstu i fazu rasta. Njihova je preporuka da se koriste niže koncentracije kako bi se izbjeglo nakupljanje u dijelovima biljke koje služe u prehrani čovjeka,

čime se ograničava rizik od prekoračenja preporučenih dnevnih doza unosa. Zaključuju da bi se biofortifikacija biljaka selenom trebala više orijentirati na biljne vrste koje se ne koriste u svakodnevnoj prehrani već na one koje će se koristiti kao funkcionalni dodatak prehrani, u ovom slučaju s ciljem povećanja koncentracije selena u organizmu.

Deng i sur. (2017) su biofortificirali rižu u fazi vlatanja i klasanja te utvrdili više vrijednosti sadržaja Se u zrnu riže biofortificirane u fazi klasanja.

Huang i sur. (2018) su istraživali učinak vremena obogaćivanja tla selenom na sadržaj Se u smeđoj riži. Selen su unijeli u tlo u tri različite fenofaze: kraj nicanja - početak busanja, busanje, kraj vlatanja - početak klasanja. Primjena Se u fenofazi pred kraj vlatanja i početkom klasanja, rezultirala je najvišim koncentracijama Se u riži. U mladim izdancima, najviše koncentracije Se su utvrđene kod biljaka koje su uzgajane na tlu u koje je selen dodan u fazi busanja.

Chu i sur. (2013) su istraživali učinak Se na prinos i fiziološki odgovor pšenice, u različitim fazama rasta. Folijarno su biofortificirali pšenicu otopinama koje su sadržavale Se u koncentracijama 0, 10, 20, 30, i 50 mg/L, u četiri faze razvoja pšenice: busanje - vlatanje, vlatanje - klasanje, klasanje - cvatnja i cvatnja - nalijevanje zrna. Značajno viši sadržaj klorofila je utvrđen kod pšenice biofortificirane u fazi klasanje - cvatnja. Primjena selena u fazi vlatanje - klasanje te u fazi klasanje - cvatnja rezultirala je manjim sadržajem malondialdehida. U fazama klasanje - cvatnja i vlatanje - klasanje, sve testirane koncentracije otopina Se, osim one najviše, izazvale su povećanje sadržaja prolina, dok je u fazi cvatnja - nalijevanje zrna, jedino otopina koncentracije Se 30 mg/L, utjecala na značajan porast sadržaja prolina. Biofortifikacija Se u fazama vlatanje - klasanje i klasanje - cvatnja, rezultirala je višim sadržajem prolina u usporedbi sa pšenicom koja je biofortificirana Se u fazama busanje - vlatanje i cvatnja - nalijevanje zrna. Autori zaključuju da je fenofaza pšenice klasanje - cvatnja, najoptimalnija za biofortifikaciju selenom s obzirom na utjecaj na prinos i njegovu akumulaciju, a najefikasnija koncentracija otopine Se između 20 i 30 mg/L.

Li i sur. (2022) su ispitivali utjecaj biofortifikacije Se i faze biofortifikacije kod žitarice klipasti muhar (*Setaria italica* L.). Biofortifikaciju su proveli u fazi vlatanja i nalijevanja zrna sa otopinama Se različitih koncentracija. S obzirom na sadržaj Se u zrnu žitarice, najoptimalnijom se pokazala biofortifikacija u fazi vlatanja s otopinom Se koncentracije 15,4 g/10000 m⁻². Di i sur. (2023) su biofortificirali pšenicu natrijevim selenitom (Na₂SeO₃) i natrijevim selenatom (Na₂SeO₄) u dvije koncentracije (15 i 30 g/ha) te primijenili otopine jednom u tri faze: busanje, kasno vlatanje - rano klasanje i nalijevanje zrna. Na temelju procjene ekološkog rizika i preporučenog unosa Se, autori navode da je 15 g/ha Se u formi natrij selenita, optimalna

koncentracija za učinkovitu biofortifikaciju pšenice.

Jančić i sur. (2022) su proučavali tijekom dvije godine učinak različitih okolišnih uvjeta na sadržaj biološki aktivnih komponenti i antioksidativnu aktivnost u ekstraktima pirove trave (*Triticum spelta* L.). Temperatura pri uzgoju je iznosila 21 °C, navodnjavanje svakih 12, 8 i 6 sati sa dnevno noćnim režimima 24/0 h, 16/8 h i 6/6/6/6 h. Najniže vrijednosti klorofila b su utvrđene kod pira koji je tijekom uzgoja zalijevan četiri puta dnevno i koji je uzgajan pri dnevno noćnom režimu 6/6/6/6, a najviše klorofila b je sadržavao ekstrakt pirove trave koje je uzgajana pri 24 satnoj svjetlosti te zalijevan svakih 12 sati. Najniži sadržaj flavonoida (35,3 mg KTE/g) je utvrđen u vodenom ekstraktu pirove trave koja je navodnjavan svakih 6 sati a dnevno noćni režim je iznosio 6/6/6/6 h dok je najveći sadržaj flavonoida (129 mg KTE/g) utvrđen u vodenom ekstraktu pirove trave uzgajane 24 h osvjetljenju, navodnjavane svakih 12 sati. Kod pirove trave uzgajane pri dnevno noćnom režimu 6/6/6/6 i irigaciji svakih 6 sati utvrđene su najniže vrijednosti antioksidativnog kapaciteta po FRAP (71,9 μ M TroloxE/g) i DPPH metodi (623,2 μ M TroloxE/g). Najviši antioksidativni kapacitet po FRAP metodi utvrđen je u ekstraktu pirove trave uzgajane pri 24 h osvjetljenju te navodnjavane svakih 12 sati (123,5 μ M TroloxE/g), dok je po DPPH metodi najviša vrijednost (967 μ M TroloxE/g) utvrđena u ekstraktu biljaka uzgajanih pri 24 satnom osvjetljenju i navodnjavanih svakih 6 sati.

3. CILJ ISTRAŽIVANJA

3.1. Ciljevi istraživanja

Postavljeni su sljedeći ciljevi istraživanja:

1. Ispitati genotipsku specifičnost 100 sorti i 5 divljih srodnika pšenične trave u sadržaju kloroplastnih pigmenata, fenolnih spojeva, flavonoida te antioksidacijske aktivnosti.
2. Ispitati utjecaj biofortifikacije sjemena ispitivanih genotipova s cinkom i selenom na sadržaj kloroplastnih pigmenata, fenola, flavonoida te antioksidacijsku aktivnost u soku pšenične trave.
3. Ispitati utjecaj različitih ekoloških uvjeta uzgoja na sadržaj kloroplastnih pigmenata, fenola i flavonoida te antioksidacijsku aktivnost u soku pšenične trave uzgojene iz biofortificiranog zrna.

3.2. Hipoteza

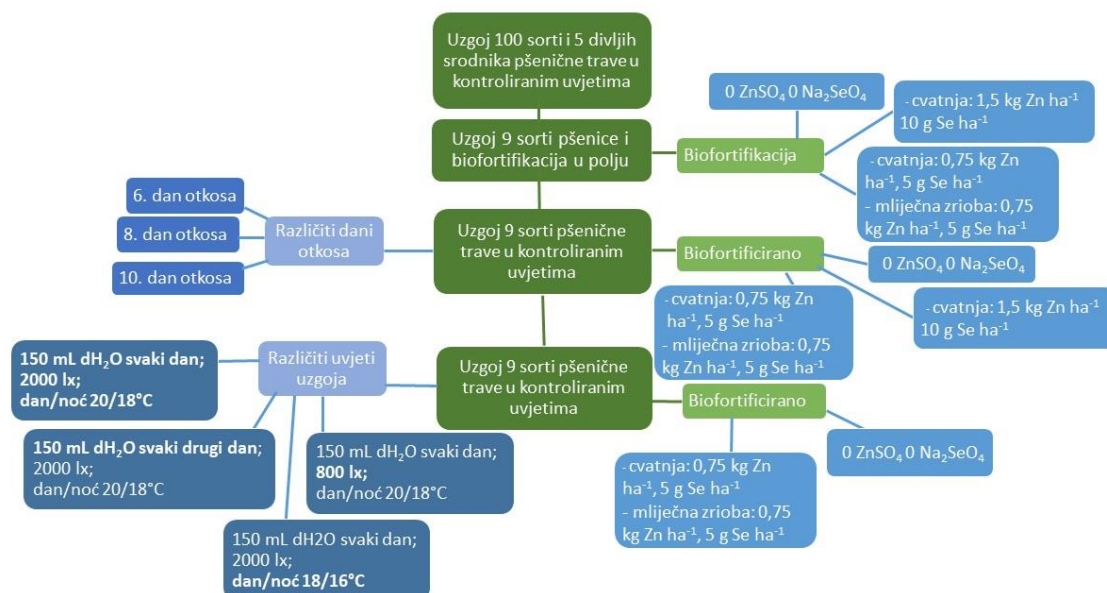
Dobiveni rezultati predloženog istraživanja će dati pregled sadržaja kloroplastnih pigmenata, fenola, flavonoida te antioksidativne aktivnosti u 100 sorti i 5 divljih srodnika pšenične trave. Osim toga, utvrditi će se koliko je značajna sortna specifičnost pšenične trave u sadržaju navedenih biološki aktivnih spojeva. Uzgoj odabranih sorti pšenične trave u kontroliranim uvjetima uz oscilaciju ekoloških parametara, intenziteta i duljine trajanja osvjetljenja, temperature i pristupačne vode, dati će odgovor na pitanje koji su uvjeti uzgoja najoptimalniji za pojedinu sortu obzirom na sadržaj istraživanih bioloških aktivnih spojeva. Također, ovo istraživanje će pojasniti kako se analizirane komponente ponašaju pri promjenjivim ekološkim uvjetima rasta. Uzgoj biljaka u kontroliranim uvjetima iz biofortificiranog zrna iz poljskog pokusa, dati će odgovor na pitanje može li biofortifikacija selenom i cinkom utjecati na sadržaj kloroplastnih pigmenata, fenola i flavonoida u pšeničnoj travi, te jesu li takve biljke otpornije na uvjete abiotskog stresa uz zadržavanje kvalitete nutritivnog sastava. Istraživanje će olakšati korisnicima odabir sorte i uvjeta u kućnom uzgoju kako bi se zadržala optimalna nutritivna i biološka vrijednost ovog funkcionalnog dodatka prehrani.

4. MATERIJAL I METODE RADA

Sva istraživanja provedena u sklopu ove disertacije se mogu podijeliti na četiri glavna pokusa, odnosno dijela:

- Uzgoj 100 sorti i 5 divljih srodnika pšenične trave u kontroliranim uvjetima
- Uzgoj 9 sorti pšenice i biofortifikacija u polju
- Uzgoj pšenične trave iz biofortificiranog zrna u kontroliranim uvjetima
- Uzgoj pšenične trave iz biofortificiranog zrna u različitim ekološkim uvjetima u klima komori

Shema plana istraživanja je prikazana na Slici 1.



Slika 1. Shematski prikaz pokusa

4.1. Uzgoj 100 sorti i 5 divljih srodnika pšenične trave u kontroliranim uvjetima

Prvi dio istraživanja je proveden na 100 sorti pšenice te 5 divljih srodnika. Pšenična trava je uzgajana u klima komori te je 12. dan od dana sjetve pripremljen svježi sok koji se koristio za analize. Na osnovu dobivenih podataka analiza, odabrano je 9 sorti koje su korištene u daljnjim istraživanjima.

4.2. Uzgoj 9 sorti pšenice i biofortifikacija u polju

Nakon pokusa u kontroliranim uvjetima, sjeme odabranih 9 sorti je posijano u pokusne parcele veličine 6,25 m² (5 m × 1,25 m). Poljski pokus je postavljen na lokaciji Nemetin, na pokušalištu Fakulteta agrobiotehničkih znanosti. Na pokusnim poljima je provedena standardna agrotehnika za pšenicu. Vrijeme provedbe biofortifikacije i koncentracije dodanog selena i cinka su prikazane u Tablici 1.

Tablica 1. Tretmani biofortifikacije Se i Zn

	ZnSO ₄	Na ₂ SeO ₄	Vrijeme primjene
TRETMAN 1 (Bio 0)	0	0	-
TRETMAN 2 (Bio 1)	1,5 kg Zn/ha	10 g Se/ha	Cvatnja (Zadoks 65)
TRETMAN 3 (Bio 2)	0,75 kg Zn/ha	5 g Se/ha	Cvatnja (Zadoks 65)
	0,75 kg Zn/ha	5 g Se/ha	Mliječna zrioba (Zadoks 75)

Cink i selen dodani su u obliku cinkovog sulfata (ZnSO₄) i natrijevog selenata (Na₂SeO₄). Žetva je obavljena specijaliziranim kombajnom te se dobiveno zrno koristilo za uzgoj pšenične trave u kontroliranim uvjetima.



Slika 2. Poljski pokus pred žetvu

4.3. Uzgoj pšenične trave iz biofortificiranog zrna u kontroliranim uvjetima

Nakon žetve pšenice na polju iz dobivenog biofortificiranog zrna pšenična trava je uzgajana u kontroliranim uvjetima u klima komori. Priprema sjemena, sjetva i uvjeti uzgoja su bili jednaki kao i kod uzgoja sorti u prvom pokusu. Otkosi pšenične trave obavljani su 6., 8. i 10. dan od dana sjetve te su analizirani sokovi koji su bili pripremljeni na dan otkosa.

4.4. Uzgoj pšenične trave iz biofortificiranog zrna u različitim ekološkim uvjetima u klima komori

Utjecaj različitih uvjeta uzgoja je ispitivan kod svih 9 biofortificiranih sorti pšenice iz prvog i trećeg tretmana biofortifikacije, odnosno sjeme dobiveno iz nebiofortificirane pšenice (Bio 0) te sjeme pšenice biofortificirane u fazi cvatnje i mliječne zriobe (Bio 2), Tablica 1. Analizirana su 54 uzorka soka pšenične trave. Pokus je postavljen na 9 sorti, dva tretmana biofortifikacije te su biljke uzgajane pri 4 različita uvjeta: kontrola (uvjeti koji se, prema dostupnoj literaturi, koriste u većini pokusa sa pšeničnom travom), pri deficitu vode, pri nižoj temperaturi te pri slabijem osvjetljenju. Analiziran je sok pšenične trave koji je pripremljen od biljaka 10. dan od dana postavljanja pokusa.

4.5. Biljni materijal

Istraživanje je provedeno na 100 sorti pšenice euroazijskog oplemenjivačkog porijekla te na 5 divljih srodnika. Korišteno je sjeme pšenice iz vegetacije 2013./2014. godine. Sjeme svih sorti korištenih u pokusima ustupljeno je od Fakulteta agrobiotehničkih znanosti Osijek, a sjemenski materijal divljih srodnika iz 2013./2014. godine, ustupljen je iz kolekcije koja je stvorena u sklopu HRZZ projekta „Stvaranje pšenice za budućnost – potraga za novim genima iz postojećih izvora“. Od navedenih 100 sorata koje su analizirane, 30 je porijeklom iz Hrvatske, a po 10 iz Mađarske, Srbije, Italije, Austrije, Francuske, Njemačke i Rusije. Svi korišteni genotipovi, osim divljih srodnika, s podrijetlom i godinom priznavanja su prikazani u Tablici 2. Od divljih srodnika korišteni su *T. compactum*, *T. dicoccoides*, *T. monococcum*, *T. spelta*, *T. sphaerococcum*.

Tablica 2. Popis sorti pšenice korištenih u pokusu (n=100)

Redni broj	Naziv sorte	Podrijetlo	Godina priznavanja	Redni broj	Naziv sorte	Podrijetlo	Godina priznavanja
1.	U1	Hrvatska	1936.	26.	Lela	Hrvatska	2006.
2.	Zlatna dolina	Hrvatska	1971.	27.	Zlata	Hrvatska	2007.
3.	Osječka crvenka	Hrvatska	1976.	28.	Felix	Hrvatska	2008.
4.	Osječka 20	Hrvatska	1978.	29.	Anđelka	Hrvatska	2008.
5.	Sana	Hrvatska	1982.	30.	Ružica	Hrvatska	2008.
6.	Slavonija	Hrvatska	1984.	31.	Panonia NS	Srbija	1964.
7.	Žitarka	Hrvatska	1985.	32.	Sremica	Srbija	1974.
8.	Ana	Hrvatska	1988.	33.	Nizija	Srbija	1979.
9.	Adriana	Hrvatska	1988.	34.	NS Rana 5	Srbija	1991.
10.	Srpanjka	Hrvatska	1989.	35.	Renesansa	Srbija	1995.
11.	Demetra	Hrvatska	1991.	36.	Simonida	Srbija	2003.
12.	Divana	Hrvatska	1995.	37.	Bambi	Srbija	2004.
13.	Super žitarka	Hrvatska	1997.	38.	Nirvana	Srbija	2004.
14.	Barbara	Hrvatska	1997.	39.	Redimer	Srbija	2006.
15.	Golubica	Hrvatska	1998.	40.	Pesma	Srbija	2009.
16.	Lucija	Hrvatska	2001.	41.	MV Palma	Mađarska	1994.
17.	BC Elvira	Hrvatska	2002.	42.	MV Magdalena	Mađarska	1996.
18.	Panonija	Hrvatska	2002.	43.	MV Magvas	Mađarska	1998.
19.	Janica	Hrvatska	2003.	44.	MV Csardas	Mađarska	1999.
20.	Alka	Hrvatska	2003.	45.	MV Emese	Mađarska	2000.
21.	Renata	Hrvatska	2006.	46.	MV Verbunkos	Mađarska	2001.
22.	Aida	Hrvatska	2006.	47.	MV Mambo	Mađarska	2001.
23.	Pipi	Hrvatska	2006.	48.	MV Mazruka	Mađarska	2003.
24.	Ilirija	Hrvatska	2006.	49.	MV Toldi	Mađarska	2008.
25.	Katarina	Hrvatska	2006.	50.	MV Menuett	Mađarska	2009.

Redni broj	Naziv sorte	Podrijetlo	Godina priznavanja	Redni broj	Naziv sorte	Podrijetlo	Godina priznavanja
51.	San Pastore	Italija	1940.	76.	Contra	Njemačka	1990.
52.	Fiorello	Italija	1947.	77.	Gorbi	Njemačka	1991.
53.	Libellula	Italija	1965.	78.	Dekan	Njemačka	1999.
54.	Mistralis	Italija	1968.	79.	Altos	Njemačka	2000.
55.	Lambriego Inia	Italija	1980.	80.	Darwin	Njemačka	2000.
56.	Gemini	Italija	1981.	81.	Capelle Desprez	Francuska	1946.
57.	Arezzo	Italija	1995.	82.	Etoile de Choisy	Francuska	1950.
58.	Ravenna	Italija	1997.	83.	Festival	Francuska	1981.
59.	Blasco	Italija	2002.	84.	Soissons	Francuska	1987.
60.	Avorio	Italija	2004.	85.	Renan	Francuska	1989.
61.	Ikarus	Austrija	1984.	86.	Sideral	Francuska	1990.
62.	Capo	Austrija	1990.	87.	Isnegrain	Francuska	1997.
63.	Ludwig	Austrija	1997.	88.	Apache	Francuska	1998.
64.	Edison	Austrija	2001.	89.	Bastide	Francuska	2003.
65.	SW Maxi	Austrija	2002.	90.	Bermude	Francuska	2007.
66.	Eurofit	Austrija	2004.	91.	Ukrainka	Rusija	1926.
67.	Eurojet	Austrija	2005.	92.	Erythrospermum	Rusija	1935.
68.	Antonius	Austrija	2006.	93.	Bezostaja	Rusija	1959.
69.	Komarom	Austrija	2008.	94.	Avrora	Rusija	1972.
70.	Esevan	Austrija	2009.	95.	Kavkaz	Rusija	1972.
71.	Apollo	Njemačka	1984.	96.	Lutescens 8	Rusija	1982.
72.	Herzog	Njemačka	1986.	97.	Albatross Odeskyi	Rusija	1990.
73.	Alidos	Njemačka	1987.	98.	Viktoriya Odesskay	Rusija	1998.
74.	Astron	Njemačka	1989.	99.	Mironovskaya 65	Rusija	2000.
75.	Andros	Njemačka	1989.	100.	Prima Odeskaya	Rusija	2002.

U drugom dijelu pokusa koji je proveden u polju, na temelju statističke obrade rezultata dobivenih u preliminarnom testiranju 100 sorata i 5 divljih srodnika, za biofortifikaciju u poljskim uvjetima odabrano je 9 sorti (Tablica 3), čije je sjeme korišteno za treći i četvrti dio pokusa, odnosno za uzgoj pšenične trave iz biofortificiranog zrna u kontroliranim uvjetima.

Tablica 3. Devet sorti korištenih u poljskom pokusu te pokusima u kontroliranim uvjetima

Redni broj	Sorta
1.	Katarina
2.	Ilirija
3.	Srpanjka
4.	Soissons
5.	Divana
6.	Antonius
7.	Felix
8.	U1
9.	Dekan

4.6. Uzgoj pšenične trave i priprema soka

4.6.1. Priprema sjemena i sjetva

Za prvi pokus u kojem je ispitivano 100 sorti i 5 divljih srodnika, u staklene posude je izvagano 15 g zrna. Posude su napunjene destiliranom vodom i stavljene na magnetnu miješalicu 5 min. Nakon toga, zrno je ocijeđeno, te se postupak ispiranja ponovio još jednom s destiliranom vodom, i jednom s autoklaviranom vodom kako bi se zrno što bolje ispralo. Nakon toga zrno je istreseno u staklenke koje su potom prekrivene mrežicom. Staklenke su postavljene otvorom prema dolje, kako bi iscurio višak vode, i ostavljene u zamračenoj prostoriji dva dana da zrno proklija. Tijekom naklijavanja, zrno je dva puta isprano autoklaviranom vodom. Na dan sjetve, u sve posude je odvagana jednaka masa treseta. Iz staklenke su istresena proklijala zrna i raspoređena po cijeloj površini. Prekrivena slojem treseta debljine 3 mm i prelivena s 50 mL destilirane vode te postavljena u komoru za rast biljaka.

Za treći dio pokusa, odnosno za uzgoj pšenične trave iz biofortificiranog zrna, u staklenu bocu od 100 mL izvagano je 60 g sjemena. Sjeme je preliveno s autoklaviranom vodom te stavljeno na magnetnu miješalicu 5 minuta. Suvišak vode uklonjen je procjeđivanjem kroz plastičnu cjediljku te je isti postupak ponovljen dva puta. Po završetku zadnjeg ispiranja, sjeme je prebačeno u autoklavirane teglice, prekriveno mrežicom i okrenuto naopako kako bi se

ocijedio višak vode. Teglice sa sjemenom su stajale u tamnom prostoru 24 sata. Sljedeći dan sjeme je posijano u treset. U plastične posude je izvagano 300 g treseta koji je zaliven sa 150 mL destilirane vode. Sjeme je ravnomjerno raspoređeno po površini supstrata, prekriveno sa 150 g treseta te ponovno zaliveno sa 150 mL destilirane vode.

Za četvrti pokus, odnosno uzgoj pšenične trave iz biofortificiranog zrna u različitim ekološkim uvjetima, od svake sorte vagano je po 12 g sjemena koje je ispirano na isti način kao i u prethodnom pokusu te je umjesto destilirane, korištena autoklavirana voda. 24 sata nakon pripreme, sjeme je posijano u posude u koje je prethodno odvagano 350 g treseta koji je prije sjetve bio zaliven destiliranom vodom. Sjeme je prekriveno sa 50 g treseta, te dodatno zaliveno sa 50 mL destilirane vode.

4.6.2. Uzgoj u kontroliranim uvjetima u klima komori

U prvom pokusu temperatura zraka u komori je postavljena na 20 °C sa 12-satnim fotoperiodom. Vlaga zraka je bila kontinuirano 65 %. Pšenica je svaki dan zalijevana s 50 mL destilirane vode. U trećem pokusu, u kojem je testiran utjecaj dana sjetve na svojstva soka pšenične trave, biljke su svaki dan zalijevane sa 150 mL destilirane vode. Zadana temperatura zraka u komori tijekom 12 sati dana je iznosila 20 °C, a tijekom 12 sati noći 18 °C. Vlaga zraka je iznosila 95 %.

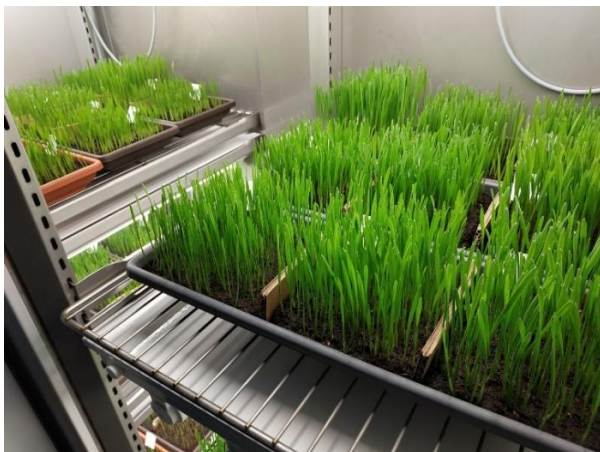
U četvrtom dijelu pokusa gdje su testirani ekološki uvjeti uzgoja na nutritivni sastav soka pšenične trave, klijanci su uzgajani 10 dana. Svaki dan je zalijevano sa 50 mL destilirane vode. Varijante uvjeta uzgoja prikazane su u Tablici 4. Vlaga zraka od 85 % je bila jednaka u sve 4 varijante isto kao i fotoperiod koji je bio postavljen na 14 h dan i 10 h noć.

Tablica 4. Tretmani ekoloških uvjeta uzgoja pšenične trave u klima komori

	KOLIČINA VODE	SVJETLO	TEMPERATURA
KONTROLA	150 mL dH₂O svaki dan (V1)	100 % svjetlo (2000 lx) (S1)	Dnevna 20 °C Noćna 18 °C (T1)
KOLIČINA VODE	150 mL dH₂O svaki drugi dan zalijevano (V2)	100 % svjetlo (2000 lx)	Dnevna 20 °C Noćna 18 °C
TEMPERATURA	150 mL dH ₂ O svaki dan	100 % svjetlo (2000 lx)	Dnevna 18 °C Noćna 16 °C (T2)
SVJETLO	150 mL dH ₂ O svaki dan	30 % svjetlo (800 lx) (S2)	Dnevna 20 °C Noćna 18 °C

4.6.3. Priprema soka pšenične trave

U svima pokusima u kontroliranim uvjetima u klima komori (Slika 3.), biljke pšenične trave su rezane na visini 2-3 cm iznad površine treseta. Nadzemni dio biljke korišten je za pripremu soka pomoću ručnog sokovnika za pšeničnu travu (Wheatgrass Bl-30, Stainless Steel, Tajvan), Slika 4.



Slika 3. Pšenična trava u klima komori



Slika 4. Sokovnik za pšeničnu travu

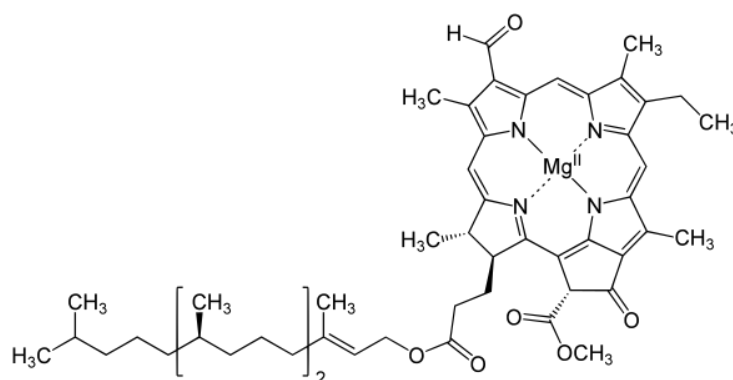
4.7. Kemijske analize

U prvom pokusu sa 100 sorti i 5 divljih srodnika, u soku je određen sadržaj kloroplastnih pigmenata, sadržaj ukupnih fenola i flavonoida te antioksidacijska aktivnost DPPH metodom. U dijelu istraživanja gdje je ispitivan utjecaj dana otkosa na nutritivnu kvalitetu soka pšenice uzgojene iz zrna nakon biofortifikacije u polju, uz prethodno navedene analize, u soku je dodatno određen sadržaj vitamina C te antioksidativna aktivnost FRAP metodom. U dijelu istraživanja u kojemu je ispitivan utjecaj ekoloških uvjeta na sadržaj biološki aktivnih komponenti u soku pšenične trave, određen je sadržaj kloroplastnih pigmenata, vitamina C, fenola, flavonoida, fenolnih kiselina, flavanola, prolina, te antioksidativna aktivnost DPPH, FRAP i ORAC metodama kao i sposobnost kelatiranja i razina lipidne peroksidacije. Spektrofotometrijska mjerenja u prvom i trećem pokusu obavljena su na uređajima Varian Cary 50 UV-VIS (Varian Medical Systems, Inc., SAD), na kojem je analiziran sadržaj kloroplastnih pigmenata i antioksidativna aktivnost DPPH metodom te na uređaju Shimadzu UV-1800 UV/VIS (Shimadzu, Japan), koji je korišten za analize sadržaja fenola i flavonoida. U četvrtom pokusu, sadržaj klorofila i antioksidativna aktivnost DPPH metodom su izmjerene na

spektrofotometru Varian Cary 50 UV-VIS (Varian Medical Systems, Inc., SAD), a za ostale analize korišten je multimodalni čitač mikrotitarskih pločica Tecan Spark (Tecan Trading AG, Švicarska).

4.7.1. Određivanje sadržaja kloroplastnih pigmenata

Ekstrakcija uzoraka rađena je u acetonu te su apsorbancije izmjerene pri valnim duljinama 662, 644 i 440 nm. Izmjerene apsorbancije se uvrstavaju u jednadžbe prema Holmu (1954) i Wettsteinu (1957) iz kojih se izračuna sadržaj klorofila a (Slika 5.), klorofila b i karotenoida.



Slika 5. Kemijska struktura klorofila a

Postupak određivanja:

Za prvi i treći pokus, pipetirano je 100 μ L soka pšenične trave u plastične epruvete od 15 mL s navojem te je uzorak izvagan. U epruvete je zatim dodana mala količina praha $MgCO_3$ (na vrh špatule) radi neutralizacije kiselosti i 9,90 mL acetona. Uzorci su promiješani na vrtložnoj miješalici, a potom centrifugirani pri 4 $^{\circ}C$ na 14 000 okretaja/min u trajanju od 10 minuta. Supernatant je automatskom pipetom prenesen u staklenu kivetu te je izmjerena apsorbancija pri valnim duljinama 662, 644 i 440 nm. Aceton je korišten kao slijepa proba. Dobivene vrijednosti apsorbancije (A_{662} , A_{644} i A_{440}) uvrštene su u Holm-Wettsteinove jednadžbe za izračun koncentracije pigmenata u mg/L (Holm, 1954; Wettsteins, 1957):

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

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

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

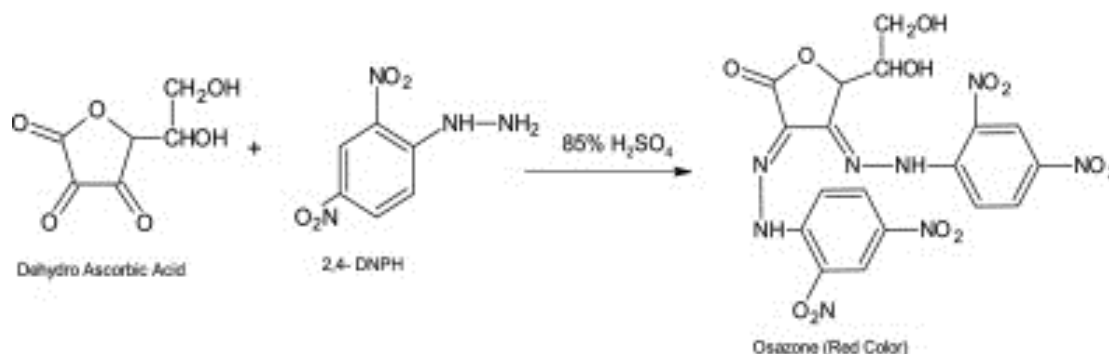
$$\text{Karotenoidi} = 4,695 \times A_{440} - 0,268 \times (\text{klorofil a+b})$$

Dobivene vrijednosti se preračunaju i izražane su kao miligram pigmenata po gramu svježe tvari (mg/g sv.t.), uzevši u obzir odvagano masu soka i razrjeđenje (Holm, 1954; Wettstein, 1957). U posljednjem dijelu istraživanja, gdje je ispitivan utjecaj ekoloških uvjeta na

bioaktivne komponente u soku, pipetirano je 50 μL soka pšenične trave u epruvete te je dodano 9,95 mL acetona. Rezultati su izraženi u miligramima pigmenata na mililitar svježeg soka (mg/mL soka pšenične trave).

4.7.2. Određivanje sadržaja vitamina C

Sadržaj vitamina C određen je metodom po Roe i Kuetheru (1943). DNPH je spoj koji s askorbinskom kiselinom stvara osazon crvene boje čiji intenzitet obojenja se mjeri pri 520 nm (Slika 6.).



Slika 6. Reakcija askorbinske kiseline sa 2,4-DNPH-om

Potrebne kemikalije:

- otopina trikloroctene kiseline (TCA), $c=13,3\%$, otopljeno je 13,3 g u 100 mL destilirane vode (dH_2O)
- otopina 2,4 dinitrofenilhidrazina (DNPH), $c=2\%$, otopljeno je 2 g DNPH, 0,23 g tiouree, 0,27 g bakrova sulfata (CuSO_4) u 100 mL 5 M sumporne kiseline (H_2SO_4)
- otopina sumporne kiseline (H_2SO_4), $c=5\text{ M}$, u odmjernoj tikvici od 100 mL, 27,81 mL H_2SO_4 koncentracije 96 % je razrijeđeno s dH_2O do oznake
- otopina sumporne kiseline (H_2SO_4), $c=65\%$, u odmjernoj tikvici od 100 mL, 57,28 mL H_2SO_4 koncentracije 96 % je razrijeđeno s dH_2O do oznake

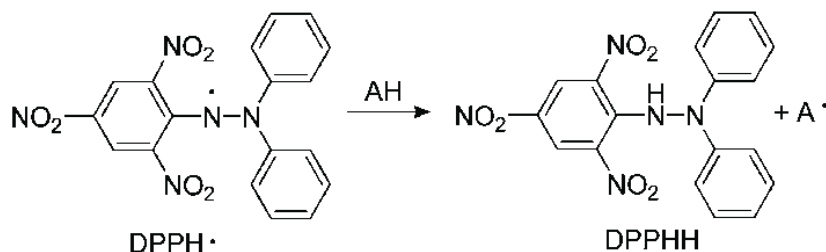
Postupak određivanja:

Za određivanje vitamina C u trećem pokusu pipetirano je 300 μL soka pšenične trave u epruvetu od 15 mL i izvagano. Dodano je 5700 μL destilirane vode i promiješano na vrtložnoj miješalici. Potom su uzorci stavljeni na centrifugu tijekom 10 minuta pri brzini 4000 RCF (engl. *Relative Centrifugal Force*) na 4 °C kako bi se talog odvojio od soka, odnosno kako bi se biljni sok izbistrio. 200 μL supernatanta je pipetirano u dvije epruvete (za uzorak i slijepu probu svakog pojedinog uzorka). Potom je pipetirano 125 μL dH_2O i otopine TCA te je dodana

otopina DNPH-a samo u epruvetu sa uzorkom, odnosno DNPH se ne dodaje u slijepu probu. Uzorci su inkubirani u vodenoj kupelji 3 sata pri 37 °C. Nakon inkubacije 75 µL otopine DNPH je dodano i u slijepu probu te 1000 µL 65 % H₂SO₄ u obje epruvete. Reakcijska smjesa je promiješana na vrtložnoj miješalici te je očitana apsorbancija pri 520 nm. Dobivene vrijednosti koncentracije vitamina C u slijepim probama potrebno je oduzeti od vrijednosti dobivenih u uzorcima. Otopine askorbinske kiseline u različitim koncentracijama poslužile su za izradu baždarnog pravca iz čije jednadžbe je izračunata koncentracija vitamina C u uzorcima te izražena u mg vitamina C na 100 g svježje tvari (mg vit C/g sv.t.). U posljednjem pokusu sok pšenične trave je razrijeđen s destiliranom vodom u omjeru 1:1, od čega je pipetirano 400 µL i dodano 7000 µL dH₂O. Nakon toga uzorak je filtriran kroz filter za medicinsku špricu sa najlonskom membranom poroznosti 0,20 µm. Nakon filtracije pipetirano je 200 µL soka te dodano 125 µL dH₂O. Svi sljedeći koraci u analizi određivanja vitamina C jednaki su kao i u trećem pokusu, a dobiveni rezultati su izraženi u mikrogramima vitamina C po mililitru soka pšenične trave (µg vit C/mL).

4.7.3. Određivanje antioksidativne aktivnosti pomoću DPPH metode

Ova metoda se temelji na sposobnosti antioksidansa da deaktivira slobodne radikale prijenosom vodikovih atoma (HAT mehanizam) (Slika 7.).



Slika 7. Mehanizam reakcije DPPH s antioksidansom

Potrebne kemikalije:

- otopina 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH), otopljeno je 0,004 g u 100 mL etanola (96 %), preliveno u tamnu bocu i stavljeno u ultrazvučnu kupelj (jačina 100, frekvencija 80) u trajanju od 15 minuta

Postupak određivanja:

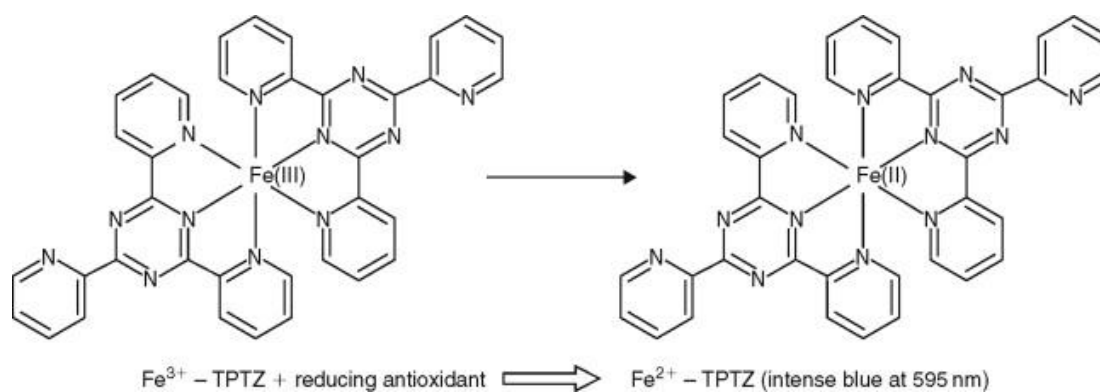
U prvom i trećem pokusu, u epruvete od 2 mL pipetirano je 500 µL soka, odvagano te je dodano 1 mL 70 % etanola. Sadržaj je promiješan na vrtložnoj miješalici, centrifugiran pri 4 °C na 6 000 RCF, 15 minuta i dekantiran. Dobivene otopine su korištene u daljnjim koracima analize.

Za četvrti pokus sok pšenične trave je razrijeđen destiliranom vodom u omjeru 1:1. Ponovno je razrijeđen u omjeru 1:1 te je pipetirano 800 μL prethodnog razrjeđenja i 800 μL dH_2O u epruvetu od 2 mL te su uzorci soka promiješani na vrtložnoj miješalici i centrifugirani 15 minuta pri 6000 RCF i 4 °C.

Pipetirano je 40, 60, 80 i 100 μL dobivenog ekstrakta te nadopunjeno do 100 μL s 70 % etanolom u prvom i trećem pokusu, odnosno s dH_2O u četvrtom dijelu pokusa. U svaki uzorak je potom dodano 1 900 μL DPPH reagensa nakon čega je uzorak inkubiran na tamnom mjestu pri sobnoj temperaturi. Nakon 30 minuta izmjerena je apsorbancija reakcijskih otopina pri 517 nm. Za standard je korištena otopina askorbinske kiseline (0,015 g askorbinske kiseline je otopljeno u 100 mL dH_2O) (Brand-Williams i sur., 1995). U prvom pokusu u kojem je analizirano 100 sorti pšenice i 5 divljih srodnika DPPH vrijednost je izražena kao masa tkiva u gramima potrebna za 50 %-tnu inhibiciju reakcije oksidacije DPPH (IC 50). U trećem dijelu pokusa kada je analizirano 9 sorti pšenice, vrijednosti su izražene u mg soka pšenične trave potrebnog za IC 50. U četvrtom dijelu pokusa, kada je pšenična trava uzgajana pri različitim ekološkim uvjetima, dobivene vrijednosti antioksidacijske aktivnosti su izražene kao volumen soka pšenične trave (μL) potreban za IC 50.

4.7.4. Određivanje antioksidativne aktivnosti FRAP metodom

FRAP metoda (engl. *Ferric Reducing Antioxidant Power*) je metoda izmjene jednog elektrona kojom se mjeri sposobnost redukcije. Kod ove metode u prisutnosti antioksidanta dolazi do redukcije žuto obojenog kompleksa Fe(III)-TPTZ u plavo obojeni kompleks Fe(II)-TPTZ putem SET mehanizma (Benzie i Strain, 1996) (Slika 8.).



Slika 8. Reakcija Fe^{3+} s TPTZ

Potrebne kemikalije:

- natrijev acetatni pufer, $c=300$ mM, $\text{pH}=3,6$, izvagano je 3,1 g natrijevog acetata, dodano 16

mL octene kiseline i nadopunjeno s dH₂O do oznake u odmjernoj tikvici od 1 L

- HCl otopina, c=40 mM, 1,65 mL koncentrirane otopine HCl (11 M) prebačeno je u odmjernu tikvicu od 1 L i nadopunjeno dH₂O do oznake

- FRAP reagens (TPTZ-2,4,6-tri[2-piridil]-s-triazin), c=10 mM, odvagano je 0,031 g TPTZ i dodano 10 mL 40 mM HCl, otopljeno u vodenoj kupelji pri 50 °C

- otopina željezovog klorida (FeCl₃), c=20 mM, odvagano je 0,054 g FeCl₃ × 6 H₂O i otopljeno u 10 mL dH₂O

Postupak određivanja:

U trećem pokusu odvagano je 50 µL soka pšenične trave u epruvetu od 2 mL te je potom dodano 1000 µL 70 % etanola. Sadržaj u epruveti je promiješan na vrtložnoj miješalici, centrifugiran 15 minuta pri 4 °C i 6000 RCF-a te dekantiran. U četvrtom pokusu, sok pšenične trave je razrijeđen s dH₂O u omjeru 1:1 te je iz tog razrijeđenja pipetirano 400 µL u epruvetu od 15 mL, dodano je 7000 µL dH₂O, promiješano na vrtložnoj miješalici i centrifugirano 10 minuta pri 4000 RPM pri 4 °C. FRAP reagens pripremljen je od acetatnog pufera (pH 3,6), TPTZ (TPTZ-2,4,6-tri[2-piridil]-s-triazin), željezovog klorida te destilirane vode. Otopina 1 M željezovog (II) sulfata korištena je kao standard, a koncentracije su se kretale od 0-1 mmol/L. U trećem pokusu u epruvetu od 2 mL pipetirano je 100 µL ekstrakta uzorka i 1000 µL FRAP reagensa. Uzorci su inkubirani 4 minute u mraku u vodenoj kupelji pri 37 °C. U 4. minuti je mjerena apsorbancija pri 593 nm, a rezultati su izraženi u mmol FeSO₄/g svježe tvari. U četvrtom pokusu, u mikrotitarsku pločicu je pipetirano 20 µL razrijeđenog soka pšenične trave, dodano 200 µL reagensa te su nakon inkubacije u 4. minuti očitane apsorbancije na čitaču mikrotitarskih pločica, a rezultati su izraženi u mmol FeSO₄/mL soka pšenične trave.

4.7.5. Određivanje antioksidativne aktivnosti ORAC metodom

ORAC metodom (engl. *Oxygen Radical Absorbance Capacity*) se određuje antioksidacijski kapacitet uzorka praćenjem inhibicije djelovanja slobodnog peroksil radikala koji nastaje raspadanjem 2,2-azobis (2-metilpropionamid)-dihidroklorida (AAPH) (Cao i sur., 1993). Mjerenja se provode određivanjem ekscitacije pri 485 nm i emisije pri 520 nm.

Potrebne kemikalije:

- fosfatni pufer, c= 0,2 M, pH=7, odvagano je 6,242 g natrijevog fosfata dihidrata (NaH₂PO₄ × 2H₂O) i 5,687 g dinatrijevog hidrogenfosfata (Na₂HPO₄) te je jedno i drugo zasebno otopljeno u 200 mL dH₂O. U novoj tikvici od 200 mL je pomiješano 61 mL 0,2 M otopine Na₂HPO₄ i

39 mL 0,2 M otopine $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \times 2\text{H}_2\text{O}$ te je ista nadopunjena dH_2O do oznake.

- fosfatni pufer, $c = 0,075 \text{ M}$, $\text{pH} = 7$, u odmjernu tikvicu od 100 mL je dodano 37,5 mL 0,2 M otopine fosfatnog pufera te je ista nadopunjena dH_2O do oznake

- otopina fluoresceina, otopljeno je 0,015 g fluoresceina u 100 mL 0,075 M fosfatnog pufera. Potom je od te otopine uzeto 100 μL te je nadopunjeno s 10 mL 0,075 fosfatnog pufera. Na poslijetku je od dobivene otopine uzeto 50 μL te je nadopunjeno s 50 mL 0,075 M fosfatnog pufera

- otopina AAPH (2,2'-azobis(2-amidinopropan) dihidroklorid), otopljeno je 0,207 g AAPH u 5 mL 0,075 M fosfatnog pufera

Postupak određivanja:

Čitač mikrotitarskih pločica termostatiran je na 37 °C kako bi brzina stvaranja radikala bila konstantna. Uzorak soka pšenične trave je razrijeđen dodatkom dH_2O u omjeru 1:500. Nakon što su uzorci promiješani na vrtložnoj miješalici u jažicu mikrotitarske pločice dodano je 225 μL fluoresceina i 37,5 μL uzorka. Za slijepu probu korišten je 0,075 M fosfatni pufer, a otopine Troloxa koncentracija od 0-25 μM korištene su za izradu baždarnog pravca. Pripremljene reakcijske smjese su termostatirane 20 minuta pri 37 °C. Nakon 20 minuta dodano je 37,5 μL AAPH te je tijekom 150 minuta bilježena promjena fluorescencije svakih 60 sekundi. Pri izračunu koncentracija grafikon je prvo potrebno normalizirati na način da se sve izmjerene vrijednosti fluorescencije oduzmu od izmjerene vrijednosti fluorescencije u nultoj minuti te 100% odražava početni signal fluorescencije nakon dodatka AAPH, a zatim izračunati površine ispod krivulja za svaki uzorak i standarde. Rezultati su izraženi u mmol Troloxa po mL soka pšenične trave.

4.7.6. Određivanje sposobnosti kelatiranja

Svojstvo kelatiranja je sposobnost stvaranja kompleksa između kelatirajućeg sredstva (ferozina ili spojeva iz analiziranog uzorka) i metalnog iona (Fe^{2+}). Kod ove metode antioksidansi formiraju kompleks s metalnim ionima, tako da je u konačnici njihov kapacitet kelatiranja metala indikator antioksidativne aktivnosti. Mjeri se kelatirajući kapacitet antioksidansa prema fero- (Fe^{2+}) ionu. Kapacitet kelatiranja Fe iona određen je prema Yen i sur. (2000).

Potrebne kemikalije:

- otopina ferozina, $c = 5 \text{ mmol/L}$, 0,1269 g ferozina je otopljeno u 50 mL 50 % metanola

- otopina željezovog (II) klorida (FeCl_2), $c = 2 \text{ mmol/L}$, 0,0199 g FeCl_2 je otopljeno u 50 mL

50 % metanola

Postupak određivanja:

Razrijeđeni uzorak je pipetiran u jažicu (50 μ L) te je dodano 185 μ L metanola, 5 μ L FeCl₂ i 10 μ L ferozina. Reakcijska smjesa je inkubirana 10 minuta u tami, pri sobnoj temperaturi. Kao kontrola korištena je reakcijska smjesa bez dodatka uzorka. Apsorbancija reakcijske smjese je mjerena pri 562 nm. Sposobnost kelatiranja Fe²⁺ iona dodatkom uzorka (%) i sprječavanje nastanka kompleksa željezo-ferozin računa se korištenjem izraza:

$$\text{Kelatna sposobnost (\%)} = [1 - (A_{\text{uzorka}}/A_{\text{kontrola}})] \times 100$$

gdje je:

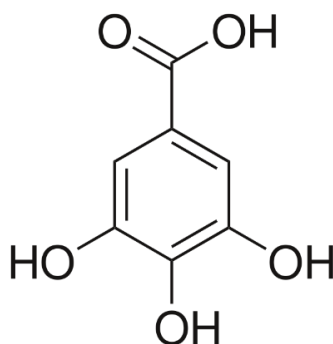
A_{uzorka} - apsorbancija smjese reagensa i uzorka izmjerena nakon 10 minuta

A_{kontrola} - apsorbancija smjese metanola, FeCl₂ i ferozina

Rezultati su izraženi u mmol EDTA/L soka pšenične trave.

4.7.7. Određivanje sadržaja fenola

Sadržaj ukupnih fenola je određen metodom s Folin-Ciocalteu reagensom. Folin-Ciocalteu reagens je smjesa fosfovolframove i fosfomolibden kiseline, a pri oksidaciji fenolnih sastojaka ove kiseline se reduciraju u volframov oksid i molibdenov oksid koji su plavo obojeni.



Slika 9. Kemijska struktura galne kiseline

Potrebne kemikalije:

- Folin-Ciocalteu reagens

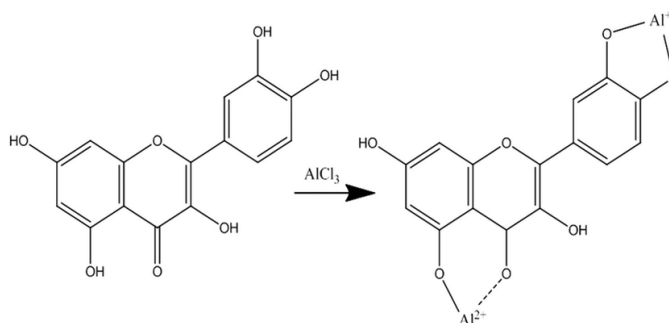
- otopina natrijevog karbonata, zasićena (Na₂CO₃), 100 g bezvodnog Na₂CO₃ je otopljeno u 400 mL dH₂O, nakon 24 sata otopina je profiltrirana te nadopunjena s dH₂O do oznake u odmjerne tikvici od 500 mL

Postupak određivanja:

Za određivanje ukupnih fenola po Folin-Ciocalteu (Singleton i Rossi, 1965) kao standard je korištena galna kiselina (Slika 9.). U prvom i trećem pokusu u epruvetu od 2 mL pipetirano je 100 μL biljnog soka i odvagano na analitičkoj vagi. U epruvete je zatim dodano 1 mL 70 % etanola i promiješano na vrtložnoj treskalici. Fenoli iz uzoraka su ekstrahirani tijekom 48 sati pri $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$. Nakon toga uzorci su centrifugirani 15 min pri 6 000 RCF i $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ te dekantirani. 100 μL ekstrakta je pipetirano u plastične epruvete od 2 mL, dodano je 1,5 mL dH_2O , 100 μL Folin-Ciocalteu reagensa te je sadržaj promiješan na vrtložnoj treskalici. Nakon 5 minuta dodano je 300 μL zasićene otopine Na_2CO_3 , reakcijska smjesa je promiješana i inkubirana 60 minuta pri $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ nakon čega je izmjerena apsorbancija pri 765 nm. U četvrtom pokusu sok je razrijeđen s dH_2O u omjeru 1:1. 1 mL razrijeđenog ekstrakta pipetirano je u epruvetu od 2 mL te je dodano 400 μL dH_2O . Nakon homogenizacije na vrtložnoj miješalici, u reakcijsku smjesu pipetirano je 30 μL uzorka, dodano 70 μL dH_2O , a svi ostali koraci su jednaki kao i u prethodnim pokusima. Koncentracija ukupnih fenola preračunata je pomoću jednadžbe pravca baždarne krivulje dobivene mjerenjem apsorbancija otopina galne kiseline poznatih koncentracija (0-0,30 mg galne kiseline/mL) dok je za slijepu probu korišteno 20 μL otapala korištenog za ekstrakciju fenola. Rezultati su izraženi u ekvivalentima galne kiseline (μg GAE/mL uzorka) za prvi pokus, odnosno u mikrogramima galne kiseline u 100 μg svježe tvari (μg GAE/100 μg svježe tvari) za treći pokus kada je analizirano 9 sorti. U četvrtom dijelu pokusa rezultati su izraženi u mg GAE/mL soka pšenične trave.

4.7.8. Određivanje sadržaja flavonoida

Flavonoidi su sekundarni metaboliti s antioksidativnim djelovanjem čija snaga ovisi o broju i položaju slobodnih OH skupina. Spektrofotometrijska analiza na bazi formiranja aluminijevog kompleksa je jedan od najčešće korištenih postupaka za određivanje ukupnih flavonoida (Slika 10.).

Slika 10. Reakcija kvercetina s AlCl_3

Potrebne kemikalije:

- otopina aluminijevog klorida (AlCl_3), $c=4\%$, 4 g aluminijevog klorida (AlCl_3) je otopljeno u 100 mL destilirane vode (dH_2O)

Postupak određivanja:

U prvom i trećem pokusu, 200 μL razrijeđenih etanolnih ekstrakata u omjeru 1:10, korištenih za analizu sadržaja fenola, pipetirano je u epruvetu od 2 mL. Dodano je 100 μL AlCl_3 (4 %) te 1 700 μL etanola (96 %). Reakcijska smjesa je promiješana na vrtložnoj treskalici te je inkubirana 60 minuta u tami, pri sobnoj temperaturi. Za standard su korištene otopine kvercetina u rasponu koncentracija od 0 do 20 μg QCE/mL. U prvom i trećem pokusu, apsorbancije uzoraka su izmjerene na spektrofotometru pri valnoj duljini 415 nm. Za četvrti pokus, sok pšenične trave je razrijeđen u omjeru 1:1 s destiliranom vodom. Pipetirano je 1000 μL razrijeđenog uzorka, dodano 400 μL dH_2O te je za reakcijsku smjesu korišteno 200 μL navedenog razrjeđenja. Svi ostali analitički koraci jednaki su kao u prvom i trećem pokusu. U prvom i četvrtom pokusu rezultati su izraženi kao μg QCE/mL soka pšenične trave, a u trećem pokusu rezultati su izraženi kao μg QCE/100 mg svježe tvari (Ordonez i sur., 2006).

4.7.9. Određivanje sadržaja fenolnih kiselina**Potrebne kemikalije:**

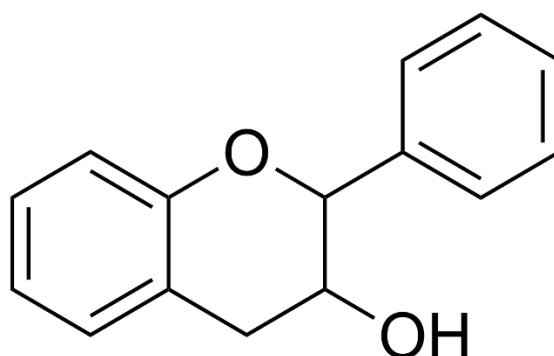
- Arnou reagens, čini ga 10 % NaNO_2 i 10 % Na_2MoO_4 , izvagano je 2,5 g natrijevog nitrita (NaNO_2) i 2,9375 g natrijevog molibdata (Na_2MoO_4) i otopljeno u 25 mL dH_2O
- otopina klorovodične kiseline (HCl), $c=0,5\text{ M}$, 10,407 mL HCl otopine (36 %) razrijeđeno je s dH_2O do oznake u odmjerenoj tikvici od 250 mL
- otopina natrijevog hidroksida (NaOH), $c=1\text{ M}$, odvagano je 3,9997 g NaOH i otopljeno u 100 mL dH_2O

Postupak određivanja:

Koncentracija ukupnih fenolnih kiselina u biljnim ekstraktima određena je spektrofotometrijski koristeći Arnou reagens prema protokolu *European Pharmacopoeia* (2004). Sok pšenične trave je razrijeđen u dva koraka, u prvom u omjeru 1:1 a u drugom koraku je 1000 μL dodatno razrijeđeno sa 400 μL dH_2O i promiješano na vrtložnoj treskalici. U epruvetu od 2 mL je dodano 500 μL H_2O , 100 μL razrijeđenog soka pšenične trave, 100 μL otopine HCl i 100 μL otopine Arnouog reagensa. Za slijepu probu, umjesto uzorka dodano je 100 μL 80 % metanola. Uzorci su promiješani na vrtložnoj treskalici nakon čega je dodano 100 μL otopine NaOH i

100 μL autoklavirane vode. Nakon ponovnog miješanja pipetirano je 200 μL reakcijske smjese u jažice mikrotitarske pločice i izmjerene su apsorbancije pri valnoj duljini 490 nm. Za izradu baždarne krivulje korištena je serija standarda poznatih koncentracija kavene kiseline u rasponu od 10-500 mg/mL pripremljenih od osnovnog standarda koncentracije 1 mg KE/mL otopljenog u 80 % metanolu. Na osnovu izmjerenih apsorbancija i poznatih koncentracija kavene kiseline konstruiran je baždarni pravac čija je jednadžba korištena za preračun koncentracije ukupnih fenolnih kiselina u uzorcima. Vrijednosti su izražene kao ekvivalent miligrama kavene kiseline po litri soka pšenične trave (mg KE/L).

4.7.10. Određivanje sadržaja flavanola



Slika 11. Kemijska struktura flavanola

Potrebne kemikalije:

- otopina DMACA, $c=0,1\%$, otopljeno je 0,15 g DMACA u 150 mL 1 M HCl u metanolu

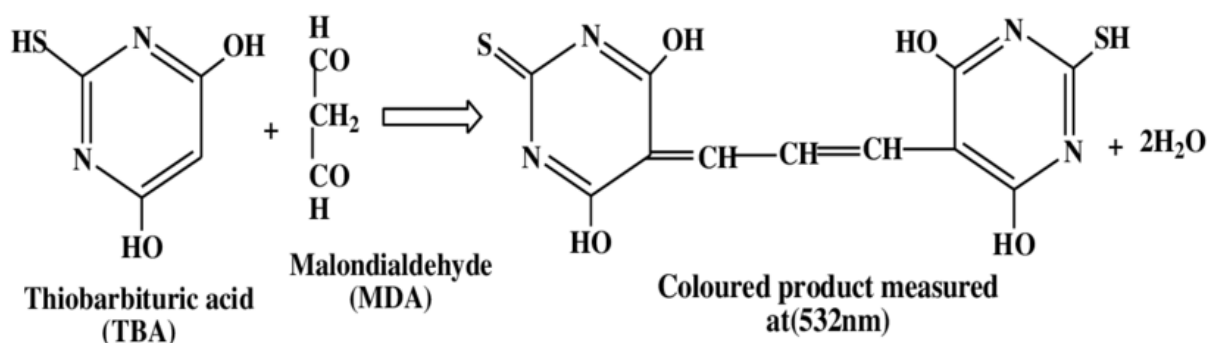
Postupak određivanja:

Ukupni flavanoli (Slika 11.), određuju se putem p-dimetilaminocinamaldehyd (DMACA) metode (Kusznierewicz i sur., 2008). Sok pšenične trave razrijeđen je u omjeru 1:1 s dH_2O . Iz tog razrjeđenja pipetirano je 1000 μL epruvetu od 2 mL te dodatno razrijeđeno s 400 μL dH_2O . Dobiveno razrjeđenje promiješano je na vrtložnoj treskalici te je pipetirano u reakcijsku smjesu. 200 μL razrjeđenja soka pšenične trave pomiješa se s 300 μL DMACA otopine. Inkubacija je trajala 10 minuta na sobnoj temperaturi te je potom mjerena apsorbancija pri 640 nm. Kao standard korištene su poznate koncentracije otopine katehina u rasponu od 0 do 3 mg/L te su rezultati izraženi u mg katehina ekvivalenata po litri soka pšenične trave (mg KTE/L).

4.7.11. Određivanje razine lipidne peroksidacije

Razina lipidne peroksidacije se određuje na principu reakcije malondialdehida sa

tiobarbiturnom kiselinom (Slika 12.), prema protokolu Heath i Packer (1968).



Slika 12. Reakcija TBA s MDA

Potrebne kemikalije:

- otopina trikloroctene kiseline (TCA), c=0,1 %, 0,1 g TCA je otopljeno u 100 mL dH₂O
- otopina tiobarbiturne kiseline u 20 % trikloroctenoj kiselini (TBA u TCA), otopljeno je 0,5 g TBA u 50 mL dH₂O i promiješano s 20 g TCA otopljenih u 40 mL te nadopunjeno s dH₂O do oznake u odmjernoj tikvici od 100 mL

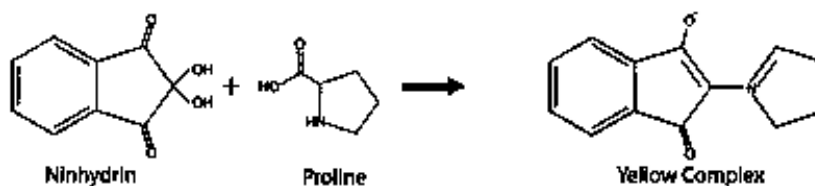
Postupak određivanja:

U epruvetu od 2 mL pipetiran je sok pšenične trave i 0,1 % otopina trikloroctene kiseline (TCA). Potom je promiješano na vrtložnoj treskalici i centrifugirano 5 minuta na 6000 RCF pri 4 °C. Nakon centrifugiranja odvojeno je 0,5 mL supernatanta u epruvetu s čepom na navoj te je dodano 1 mL otopine 0,5 % TBA u 20 % TCA. Za slijepu probu je korišteno 1,5 mL otopine 0,5 % TBA u 20 % TCA. Uzorci i slijepa proba su promiješani na vrtložnoj treskalici te inkubirani 30 minuta pri 95 °C. Nakon inkubacije reakcijske smjese su ohlađene na ledu, prebačene iz epruveta s čepom na navoj u epruvete za centrifugiranje i centrifugirane 10 minuta na 6000 RCF pri 4 °C. Apsorbancija kompleksa je mjerena na 532, a nespecifična apsorbancija uzoraka pri 600 nm. Rezultati su izraženi u mmol/L soka pšenične trave, dobiveni su uvrštavanjem specifičnih i nespecifičnih apsorbancija u izraz:

$$\text{TBARS} = (A_{532} - A_{600}) \times V_{\text{reakcijske smjese}} \times 10^3 / 155 \times V_{\text{soka}}$$

4.7.12. Određivanje sadržaja prolina

Sadržaj prolina određen je prema protokolu Carillo i Gibon (2011), gdje prolin u reakciji sa ninhidrinom stvara kompleks žute boje (Slika 13.).



Slika 13. Reakcija prolina s ninhidrinom

Potrebne kemikalije:

- otopina reagensa koji sadrži 1 % otopinu ninhidrina u 60 % octenoj kiselini i 20 % etanol.

Postupak određivanja:

Sok pšenične trave je razrijeđen u omjeru 1:1 te je 500 μL razrijeđenog soka pipetirano u epruvetu od 2 mL i centrifugirano 10 minuta na 6000 RCF pri 4 °C. U 100 μL uzorka soka pšenične trave dodano je 200 μL reagensa koji čini 1 % ninhidrin u 60 % octenoj kiselini i 20 % etanolu. Reakcijska smjesa je inkubirana 20 minuta na 95 °C nakon čega su izmjerene apsorbancije pri 520 nm. Za standard je korištena otopina prolina (0-1 mmol), a rezultati su za prolin izraženi u mmol PRO/L soka pšenične trave.

4.8. Statistička obrada podataka

Statistička obrada podataka provedena je pomoću softvera Enterprise Guide, verzija 7.1 (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA) i Microsoft Office Excel 2016. Na temelju klaster analize analiziranih 100 sorata pšenice i 5 divljih srodnika izabrano je 9 najvarijabilnijih koje su ispitivane u daljnjim pokusima. Hijerarhijska klaster analiza ispitivanih sorata pšenice provedena je na temelju podataka o koncentracijama mikro i makro elemenata (K, Ca, Mg, Mn, Fe i Zn), sadržaja kloroplastnih pigmenata i antioksidativnoj aktivnosti u soku pšenične trave.

Od mjera opisne statistike, za sva ispitivana svojstva tijekom cijelog istraživanja izračunate su aritmetička sredina i standardna devijacija. Normalnost raspodjele ispitivanih varijabli ispitana je pomoću Kolmogorov-Smirnovljevog testa ($p < 0,05$) a homogenost varijanci pomoću Bartlettovog testa ($p < 0,05$). Jednostrukom analizom varijance za nezavisne uzorke (One Way ANOVA) ispitan je utjecaj genotipova na ispitivana svojstva (antioksidativna aktivnost utvrđena metodom DPPH, sadržaj kloroplastnih pigmenata, ukupnih fenola i flavonoida). Višefaktorijskom analizom varijance utvrđeni su utjecaji tretmana (sorta, dan otkosa pšenične trave, biofortifikacija Se i Zn) na ispitivana svojstva (antioksidativna aktivnost

utvrđena metodama DPPH i FRAP, sadržaj kloroplastnih pigmenata, vitamina C, ukupnih fenola i flavonoida). Također, spomenutom analizom utvrđen je utjecaj tretmana (sorta, biofortifikacija Se i Zn, ekološki uvjeti uzgoja) na ispitivana svojstva (antioksidativna aktivnost utvrđena metodama DPPH, FRAP, ORAC i kelatiranje Fe iona, sadržaj kloroplastnih pigmenata, vitamina C, prolina, malondialdehida, ukupnih fenola, flavonoida, fenolnih kiselina, flavanola). Utvrđene statistički značajne razlike između tretmana dokazane su Tukeyevim HSD testom na razini značajnosti od 0,01.

5. REZULTATI ISTRAŽIVANJA

5.1. Sadržaj biološki aktivnih komponenti u 100 sorti pšenične trave i 5 divljih srodnika

U prvom pokusu koji je proveden na 100 sorti, jednostrukom analizom varijance za nezavisne uzorke (*One Way ANOVA*), utvrđen je značajan učinak genotipa na sadržaj klorofila a, sadržaj ukupnih klorofila (mg/g sv.t.), karotenoida (mg/g sv.t.), ukupnih fenola ($\mu\text{g GAE/mL}$ uzorka), flavonoida ($\mu\text{g QCE/mL}$ uzorka) te na antioksidativnu aktivnost određenu DPPH metodom (potrebna masa tkiva (g) da bi postigli 50 % inhibicije reakcije). Značajan učinak genotipa nije utvrđen za sadržaj klorofila b, omjer klorofila a i b te omjer klorofila i karotenoida. Najviša vrijednost za klorofil a, ukupne klorofile (Tablica 5.) i karotenoide (Tablica 6.) utvrđena je kod sorte Ilirija, a najniža kod sorte Simonida.

Tablica 5. Utjecaj genotipa pšenične trave na sadržaj kloroplastnih pigmenata (mg/g sv.t.) u soku pšenične trave

SORTA	Klorofil a	Klorofil b	Klorofil a + b
ALBATROSS ODESKYI	0,307 ± 0,134	0,208 ± 0,165	0,515 ± 0,134
ADRIANA	0,287 ± 0,011	0,092 ± 0,006	0,379 ± 0,017
AIDA	0,252 ± 0,114	0,087 ± 0,042	0,339 ± 0,156
ALIDOS	0,391 ± 0,025	0,115 ± 0,005	0,506 ± 0,028
ALKA	0,439 ± 0,091	0,151 ± 0,030	0,590 ± 0,122
ALTOS	0,198 ± 0,069	0,137 ± 0,096	0,335 ± 0,031
ANA	0,363 ± 0,145	0,116 ± 0,047	0,479 ± 0,192
ANDROS	0,304 ± 0,125	0,195 ± 0,122	0,499 ± 0,020
ANTONIUS	0,273 ± 0,008	0,096 ± 0,009	0,369 ± 0,010
ANĐELKA	0,368 ± 0,231	0,121 ± 0,072	0,489 ± 0,302
APACHE	0,220 ± 0,040	0,071 ± 0,012	0,291 ± 0,052
APOLLO	0,274 ± 0,045	0,088 ± 0,011	0,362 ± 0,055
AREZZO	0,268 ± 0,104	0,089 ± 0,031	0,357 ± 0,135
ASTRON	0,289 ± 0,081	0,218 ± 0,184	0,507 ± 0,124
AVORIO	0,360 ± 0,056	0,117 ± 0,012	0,477 ± 0,068
AVRORA	0,292 ± 0,040	0,086 ± 0,012	0,379 ± 0,051
BAMBI	0,182 ± 0,025	0,059 ± 0,006	0,242 ± 0,030
BARBARA	0,306 ± 0,026	0,121 ± 0,052	0,428 ± 0,077
BASTIDE	0,282 ± 0,070	0,088 ± 0,025	0,369 ± 0,095
BC ELVIRA	0,289 ± 0,046	0,091 ± 0,014	0,380 ± 0,059
BERMUDE	0,330 ± 0,061	0,105 ± 0,019	0,435 ± 0,080
BEZOSTAJA	0,234 ± 0,033	0,072 ± 0,009	0,307 ± 0,042
BLASCO	0,378 ± 0,074	0,129 ± 0,035	0,507 ± 0,108
CAPELLE DE SPERZ	0,230 ± 0,005	0,073 ± 0,001	0,304 ± 0,006
CAPO	0,236 ± 0,065	0,092 ± 0,037	0,328 ± 0,102
CONTRA	0,274 ± 0,077	0,206 ± 0,167	0,480 ± 0,101
DARWIN	0,264 ± 0,095	0,185 ± 0,132	0,449 ± 0,071
DEKAN	0,326 ± 0,051	0,261 ± 0,256	0,587 ± 0,207

DEMETRA	0,469 ± 0,122	0,156 ± 0,042	0,625 ± 0,164
DIVANA	0,315 ± 0,049	0,099 ± 0,015	0,414 ± 0,063
EDISON	0,241 ± 0,044	0,084 ± 0,025	0,325 ± 0,069
ERYTHOSPERMUM	0,350 ± 0,144	0,231 ± 0,168	0,581 ± 0,103
ESEVAN	0,214 ± 0,077	0,154 ± 0,101	0,368 ± 0,033
ETOILE DE CHOISI	0,274 ± 0,032	0,086 ± 0,011	0,360 ± 0,043
EUROFIT	0,287 ± 0,017	0,091 ± 0,005	0,379 ± 0,022
EUROJET	0,192 ± 0,097	0,135 ± 0,079	0,327 ± 0,094
FELIX	0,294 ± 0,018	0,090 ± 0,008	0,384 ± 0,025
FESTIVAL	0,236 ± 0,033	0,074 ± 0,010	0,310 ± 0,043
FIORIELLO	0,199 ± 0,052	0,071 ± 0,015	0,271 ± 0,067
GEMINI	0,318 ± 0,077	0,110 ± 0,031	0,428 ± 0,108
GOLUBICA	0,273 ± 0,067	0,092 ± 0,019	0,365 ± 0,086
GORBI	0,361 ± 0,024	0,109 ± 0,009	0,470 ± 0,032
HERZOG	0,372 ± 0,014	0,112 ± 0,007	0,485 ± 0,021
IKARUS	0,246 ± 0,136	0,152 ± 0,091	0,398 ± 0,116
ILIRIJA	0,574 ± 0,256	0,186 ± 0,089	0,759 ± 0,345
ISNEGRIAN	0,326 ± 0,104	0,103 ± 0,030	0,429 ± 0,134
JANICA	0,326 ± 0,056	0,105 ± 0,021	0,430 ± 0,077
KATARINA	0,309 ± 0,021	0,102 ± 0,005	0,410 ± 0,025
KAVKAZ	0,285 ± 0,048	0,089 ± 0,017	0,374 ± 0,065
KOMAROM	0,314 ± 0,018	0,114 ± 0,013	0,429 ± 0,017
LAMBRIEGO INIA	0,246 ± 0,099	0,080 ± 0,028	0,326 ± 0,127
LELA	0,282 ± 0,079	0,089 ± 0,025	0,370 ± 0,105
LIBELLULA	0,233 ± 0,056	0,079 ± 0,017	0,312 ± 0,073
LUCIJA	0,375 ± 0,205	0,129 ± 0,073	0,504 ± 0,278
LUDWIG	0,283 ± 0,044	0,091 ± 0,015	0,374 ± 0,058
LUTESCENS 8	0,262 ± 0,018	0,084 ± 0,007	0,345 ± 0,025
MIRONOVSKAYA 65	0,268 ± 0,023	0,081 ± 0,007	0,349 ± 0,030
MISTRALIS	0,298 ± 0,053	0,106 ± 0,011	0,403 ± 0,064
MV CSARDAS	0,404 ± 0,173	0,132 ± 0,063	0,535 ± 0,236
MV EMESE	0,337 ± 0,022	0,107 ± 0,013	0,444 ± 0,034
MV MAGDALENA	0,278 ± 0,050	0,091 ± 0,013	0,368 ± 0,063
MV MAGVAS	0,305 ± 0,059	0,097 ± 0,020	0,402 ± 0,078
MV MAMBO	0,302 ± 0,051	0,097 ± 0,018	0,398 ± 0,067
MV MAZURKA	0,412 ± 0,207	0,131 ± 0,068	0,543 ± 0,275
MV MENUETT	0,418 ± 0,178	0,132 ± 0,061	0,550 ± 0,239
MV PALMA	0,263 ± 0,076	0,083 ± 0,019	0,346 ± 0,095
MV TOLDI	0,342 ± 0,052	0,108 ± 0,013	0,450 ± 0,065
MV VERBUNKOS	0,255 ± 0,030	0,082 ± 0,012	0,337 ± 0,042
NIRVANA	0,477 ± 0,116	0,148 ± 0,041	0,625 ± 0,157
NIZIJA	0,191 ± 0,062	0,064 ± 0,017	0,255 ± 0,079
NS RANA 5	0,202 ± 0,051	0,066 ± 0,014	0,268 ± 0,066
OSJEČKA 20	0,263 ± 0,060	0,087 ± 0,018	0,350 ± 0,078
OSJEČKA CRVENKA	0,283 ± 0,085	0,098 ± 0,022	0,381 ± 0,107
PANONIA NS	0,278 ± 0,046	0,090 ± 0,018	0,368 ± 0,063
PANONIJA	0,291 ± 0,075	0,092 ± 0,024	0,383 ± 0,099
PESMA	0,367 ± 0,153	0,115 ± 0,048	0,482 ± 0,200

	Rezultati istraživanja		
PIPI	0,394 ± 0,058	0,128 ± 0,012	0,522 ± 0,069
PRIMA ODESKAYA	0,386 ± 0,112	0,114 ± 0,030	0,500 ± 0,142
RAVENNA	0,287 ± 0,074	0,215 ± 0,182	0,503 ± 0,133
REDIMER	0,299 ± 0,205	0,099 ± 0,070	0,397 ± 0,275
RENAN	0,455 ± 0,040	0,136 ± 0,011	0,592 ± 0,050
RENATA	0,383 ± 0,153	0,126 ± 0,052	0,510 ± 0,205
RENEZANSNA	0,179 ± 0,094	0,057 ± 0,026	0,236 ± 0,121
RUŽICA	0,329 ± 0,014	0,105 ± 0,004	0,434 ± 0,017
SAN PASTORE	0,213 ± 0,064	0,072 ± 0,016	0,285 ± 0,081
SANA	0,235 ± 0,041	0,078 ± 0,012	0,312 ± 0,053
SIDERAL	0,317 ± 0,016	0,098 ± 0,003	0,415 ± 0,019
SIMONIDA	0,146 ± 0,044	0,048 ± 0,011	0,193 ± 0,055
SLAVONIJA	0,282 ± 0,021	0,094 ± 0,008	0,376 ± 0,029
SOISSONS	0,382 ± 0,108	0,115 ± 0,031	0,498 ± 0,139
SREMICA	0,286 ± 0,056	0,093 ± 0,022	0,378 ± 0,078
SRPANJKA	0,343 ± 0,036	0,117 ± 0,014	0,460 ± 0,049
SUPER ŽITARKA	0,294 ± 0,049	0,098 ± 0,014	0,393 ± 0,062
SW MAXI	0,283 ± 0,059	0,092 ± 0,018	0,375 ± 0,077
<i>TRITICUM COMPACTUM</i>	0,229 ± 0,024	0,080 ± 0,014	0,309 ± 0,038
<i>TRITICUM DICOCOIDES</i>	0,293 ± 0,057	0,091 ± 0,017	0,384 ± 0,073
<i>TRITICUM MONOCOCCUM</i>	0,311 ± 0,055	0,101 ± 0,018	0,412 ± 0,073
<i>TRITICUM SPELTA</i>	0,330 ± 0,068	0,112 ± 0,020	0,442 ± 0,086
<i>TRITICUM SPHAEROCOCCUM</i>	0,296 ± 0,011	0,095 ± 0,004	0,391 ± 0,015
U1	0,250 ± 0,050	0,086 ± 0,019	0,336 ± 0,068
UKRAINKA	0,388 ± 0,071	0,116 ± 0,020	0,503 ± 0,091
VIKTORIYA ODESKA	0,378 ± 0,016	0,112 ± 0,007	0,489 ± 0,022
ŽITARKA	0,467 ± 0,232	0,151 ± 0,073	0,618 ± 0,305
ZLATA	0,502 ± 0,188	0,168 ± 0,069	0,670 ± 0,256
ZLATNA DOLINA	0,310 ± 0,070	0,101 ± 0,020	0,410 ± 0,090
MSD	0,358	0,233	0,4642
Tukey HSD test	2	1,3	2,12
<i>p</i>	0,0001	0,0544	0,0001

Tablica 6. Utjecaj genotipa pšenične trave na sadržaj karotenoida (mg/g sv.t.), omjera klorofila i karotenoida (kl/kar) i omjera klorofila a i klorofila b (kl a/kl b) u soku pšenične trave

SORTA	Karotenoidi	Kl a/Kl b	Kl/Kar
ALBATROSS ODESKYI	0,081 ± 0,063	2,286 ± 1,561	14,783 ± 18,308
ADRIANA	0,086 ± 0,003	3,131 ± 0,084	4,388 ± 0,116
AIDA	0,075 ± 0,034	2,950 ± 0,152	4,510 ± 0,081
ALIDOS	0,105 ± 0,005	3,407 ± 0,171	4,814 ± 0,338
ALKA	0,126 ± 0,023	2,916 ± 0,070	4,664 ± 0,219
ALTOS	0,055 ± 0,034	2,098 ± 1,411	10,189 ± 10,199
ANA	0,109 ± 0,043	3,137 ± 0,044	4,385 ± 0,129
ANDROS	0,081 ± 0,062	2,178 ± 1,471	20,027 ± 27,261
ANTONIUS	0,083 ± 0,004	2,869 ± 0,291	4,464 ± 0,117

ANĐELKA	0,108 ± 0,068	3,015 ± 0,219	4,558 ± 0,127
APACHE	0,064 ± 0,011	3,101 ± 0,093	4,513 ± 0,051
APOLLO	0,075 ± 0,010	3,107 ± 0,178	4,808 ± 0,405
AREZZO	0,081 ± 0,033	2,984 ± 0,200	4,466 ± 0,159
ASTRON	0,073 ± 0,053	2,128 ± 1,432	18,626 ± 24,825
AVORIO	0,110 ± 0,025	3,067 ± 0,180	4,417 ± 0,460
AVRORA	0,084 ± 0,014	3,381 ± 0,030	4,512 ± 0,152
BAMBI	0,053 ± 0,009	3,068 ± 0,163	4,538 ± 0,150
BARBARA	0,085 ± 0,005	2,750 ± 0,799	5,053 ± 0,867
BASTIDE	0,085 ± 0,020	3,239 ± 0,144	4,327 ± 0,098
BC ELVIRA	0,085 ± 0,007	3,174 ± 0,022	4,485 ± 0,318
BERMUDE	0,098 ± 0,017	3,133 ± 0,023	4,437 ± 0,153
BEZOSTAJA	0,069 ± 0,008	3,237 ± 0,058	4,417 ± 0,108
BLASCO	0,113 ± 0,026	2,953 ± 0,229	4,483 ± 0,125
CAPELLE DE SPERZ	0,066 ± 0,002	3,143 ± 0,070	4,635 ± 0,110
CAPO	0,074 ± 0,025	2,662 ± 0,385	4,485 ± 0,163
CONTRA	0,071 ± 0,047	2,062 ± 1,381	14,832 ± 18,178
DARWIN	0,071 ± 0,055	2,098 ± 1,414	17,387 ± 22,746
DEKAN	0,077 ± 0,052	2,250 ± 1,534	18,262 ± 24,060
DEMETRA	0,141 ± 0,032	3,013 ± 0,040	4,417 ± 0,186
DIVANA	0,093 ± 0,016	3,196 ± 0,055	4,445 ± 0,112
EDISON	0,075 ± 0,021	2,923 ± 0,298	4,388 ± 0,269
ERYTHOSPERMUM	0,093 ± 0,070	2,248 ± 1,527	15,167 ± 18,901
ESEVAN	0,056 ± 0,038	1,954 ± 1,330	14,197 ± 16,764
ETOILE DE CHOISI	0,080 ± 0,008	3,194 ± 0,076	4,486 ± 0,114
EUROFIT	0,081 ± 0,006	3,139 ± 0,010	4,652 ± 0,092
EUROJET	0,055 ± 0,045	1,931 ± 1,303	11,960 ± 13,174
FELIX	0,085 ± 0,012	3,275 ± 0,163	4,563 ± 0,369
FESTIVAL	0,069 ± 0,010	3,202 ± 0,065	4,476 ± 0,225
FIORELLO	0,063 ± 0,018	2,806 ± 0,184	4,331 ± 0,234
GEMINI	0,100 ± 0,028	2,908 ± 0,133	4,326 ± 0,124
GOLUBICA	0,087 ± 0,021	2,952 ± 0,200	4,191 ± 0,067
GORBI	0,099 ± 0,011	3,316 ± 0,162	4,745 ± 0,303
HERZOG	0,100 ± 0,010	3,324 ± 0,101	4,876 ± 0,337
IKARUS	0,064 ± 0,056	2,185 ± 1,476	16,938 ± 21,413
ILIRIJA	0,174 ± 0,074	3,123 ± 0,127	4,328 ± 0,109
ISNEGRAN	0,098 ± 0,028	3,145 ± 0,114	4,353 ± 0,174
JANICA	0,094 ± 0,022	3,118 ± 0,111	4,616 ± 0,317
KATARINA	0,097 ± 0,005	3,038 ± 0,073	4,238 ± 0,133
KAVKAZ	0,081 ± 0,015	3,209 ± 0,070	4,611 ± 0,149
KOMAROM	0,100 ± 0,005	2,780 ± 0,410	4,307 ± 0,097
LAMBRIEGO INIA	0,073 ± 0,031	3,020 ± 0,169	4,488 ± 0,179
LELA	0,077 ± 0,024	3,172 ± 0,030	4,855 ± 0,271
LIBELLULA	0,071 ± 0,019	2,932 ± 0,110	4,402 ± 0,167

LUCIJA	0,114 ± 0,059	2,932 ± 0,062	4,395 ± 0,170
LUDWIG	0,082 ± 0,014	3,115 ± 0,067	4,581 ± 0,241
LUTESCENS 8	0,075 ± 0,009	3,129 ± 0,067	4,640 ± 0,368
MIRONOVSKAYA 65	0,075 ± 0,003	3,298 ± 0,030	4,630 ± 0,230
MISTRALIS	0,094 ± 0,011	2,803 ± 0,252	4,281 ± 0,185
MV CSARDAS	0,117 ± 0,056	3,117 ± 0,188	4,645 ± 0,206
MV EMESE	0,096 ± 0,008	3,180 ± 0,211	4,646 ± 0,200
MV MAGDALENA	0,079 ± 0,015	3,060 ± 0,119	4,665 ± 0,093
MV MAGVAS	0,089 ± 0,015	3,135 ± 0,211	4,499 ± 0,144
MV MAMBO	0,090 ± 0,020	3,131 ± 0,235	4,474 ± 0,299
MV MAZURKA	0,117 ± 0,062	3,142 ± 0,112	4,691 ± 0,220
MV MENUETT	0,118 ± 0,046	3,193 ± 0,097	4,597 ± 0,219
MV PALMA	0,075 ± 0,024	3,140 ± 0,190	4,687 ± 0,282
MV TOLDI	0,102 ± 0,017	3,174 ± 0,129	4,436 ± 0,196
MV VERBUNKOS	0,076 ± 0,007	3,123 ± 0,145	4,426 ± 0,167
NIRVANA	0,131 ± 0,040	3,250 ± 0,147	4,824 ± 0,330
NIZIJA	0,059 ± 0,018	2,960 ± 0,178	4,305 ± 0,122
NS RANA 5	0,058 ± 0,014	3,061 ± 0,139	4,635 ± 0,418
OSJEČKA 20	0,079 ± 0,017	3,028 ± 0,070	4,404 ± 0,054
OSJEČKA CRVENKA	0,088 ± 0,024	2,857 ± 0,238	4,311 ± 0,084
PANONIA NS	0,080 ± 0,015	3,096 ± 0,098	4,608 ± 0,103
PANONIJA	0,086 ± 0,019	3,152 ± 0,054	4,457 ± 0,222
PESMA	0,110 ± 0,047	3,184 ± 0,181	4,408 ± 0,121
PIPI	0,119 ± 0,014	3,075 ± 0,187	4,388 ± 0,132
PRIMA ODESKAYA	0,103 ± 0,020	3,364 ± 0,115	4,794 ± 0,464
RAVENNA	0,074 ± 0,050	2,158 ± 1,460	15,819 ± 19,990
REDIMER	0,085 ± 0,060	3,033 ± 0,110	4,753 ± 0,164
RENAN	0,131 ± 0,008	3,342 ± 0,094	4,500 ± 0,117
RENATA	0,115 ± 0,047	3,048 ± 0,156	4,421 ± 0,090
RENSANSA	0,053 ± 0,028	3,078 ± 0,200	4,479 ± 0,195
RUŽICA	0,094 ± 0,006	3,129 ± 0,125	4,650 ± 0,324
SAN PASTORE	0,064 ± 0,019	2,927 ± 0,222	4,491 ± 0,210
SANA	0,067 ± 0,014	3,018 ± 0,056	4,661 ± 0,209
SIDERAL	0,094 ± 0,006	3,252 ± 0,058	4,406 ± 0,179
SIMONIDA	0,044 ± 0,011	3,027 ± 0,246	4,416 ± 0,234
SLAVONIJA	0,083 ± 0,010	2,990 ± 0,100	4,543 ± 0,293
SOISSONS	0,113 ± 0,033	3,305 ± 0,051	4,405 ± 0,116
SREMICA	0,085 ± 0,017	3,112 ± 0,144	4,458 ± 0,132
SRPANJKA	0,106 ± 0,012	2,947 ± 0,086	4,351 ± 0,077
SUPER ŽITARKA	0,086 ± 0,014	2,992 ± 0,099	4,545 ± 0,143
SW MAXI	0,086 ± 0,021	3,080 ± 0,033	4,402 ± 0,199
<i>TRITICUM COMPACTUM</i>	0,072 ± 0,010	2,887 ± 0,254	4,276 ± 0,068
<i>TRITICUM DICOCCOIDES</i>	0,085 ± 0,018	3,240 ± 0,056	4,504 ± 0,112
<i>TRITICUM MONOCOCCUM</i>	0,093 ± 0,020	3,079 ± 0,027	4,462 ± 0,202

	Rezultati istraživanja		
<i>TRITICUM SPELTA</i>	0,097 ± 0,018	2,942 ± 0,293	4,562 ± 0,143
<i>TRITICUM SPHAEROCOCCUM</i>	0,083 ± 0,003	3,102 ± 0,019	4,731 ± 0,015
U1	0,071 ± 0,016	2,924 ± 0,132	4,733 ± 0,139
UKRAINKA	0,111 ± 0,021	3,354 ± 0,136	4,545 ± 0,402
VIKTORIYA ODESKA	0,107 ± 0,012	3,394 ± 0,134	4,588 ± 0,431
ŽITARKA	0,137 ± 0,065	3,074 ± 0,061	4,502 ± 0,153
ZLATA	0,156 ± 0,056	3,016 ± 0,134	4,262 ± 0,131
ZLATNA DOLINA	0,096 ± 0,023	3,066 ± 0,210	4,274 ± 0,143
MSD	0,121	2,0306	26,924
Tukey HSD test	1,56	1,3	0,87
<i>p</i>	0,0037	0,0579	0,7776

Sadržaj fenola ispitivanih genotipova pšenice se kretao u rasponu od 895,4 µg GAE/mL uzorka (Nizija) do 1464,83 µg GAE/mL uzorka (Renata), a sadržaj flavonoida u rasponu od 330,26 µg QCE/mL uzorka (Panonia NS) do 685,36 µg QCE/mL uzorka (Renan). Najviša vrijednost mase tkiva (g) koja je potrebna za 50% inhibicije (DPPH) je zabilježena kod sorte Nizija (0,0567 g), a najniža vrijednost je utvrđena kod sorte Erythospermum (0,0186).

Tablica 7. Utjecaj genotipa pšenične trave na sadržaj fenola (µg GAE/mL uzorka), flavonoida (µg QCE/mL uzorka) i antioksidativne aktivnosti utvrđene metodom DPPH (potrebna masa tkiva (g) koja je potrebna za 50 % inhibicije) u soku pšenične trave

SORTA	Fenoli	Flavonoidi	DPPH
ALBATROSS ODESKYI	1312,35 ± 51,60	492,82 ± 15,81	0,0239 ± 0,0038
ADRIANA	1259,44 ± 100,70	545,95 ± 150,69	0,0380 ± 0,0064
AIDA	1099,22 ± 159,78	376,03 ± 110,14	0,0418 ± 0,0014
ALIDOS	1078,8 ± 71,71	559,63 ± 47,42	0,0281 ± 0,0092
ALKA	1198,44 ± 49,50	467,57 ± 72,57	0,0326 ± 0,0089
ALTOS	1103,17 ± 7,13	433,9 ± 6,38	0,0265 ± 0,0017
ANA	1190,44 ± 69,39	454,41 ± 69,41	0,0391 ± 0,0074
ANDROS	1166,92 ± 51,82	591,19 ± 24,50	0,0285 ± 0,0068
ANTONIUS	988,63 ± 42,82	437,58 ± 10,74	0,0417 ± 0,0135
ANDELKA	1202,14 ± 113,03	453,89 ± 86,28	0,0341 ± 0,0014
APACHE	1139,74 ± 68,74	410,22 ± 29,71	0,0308 ± 0,0064
APOLLO	939,52 ± 65,34	488,61 ± 37,21	0,0351 ± 0,0056
AREZZO	1200,87 ± 37,48	441,26 ± 71,35	0,0257 ± 0,0024
ASTRON	1135,91 ± 72,09	566,99 ± 53,11	0,0252 ± 0,0028
AVORIO	1265,49 ± 97,24	469,67 ± 62,35	0,0279 ± 0,0066
AVRORA	954,16 ± 154,16	447,05 ± 68,83	0,0327 ± 0,0086
BAMBI	905,73 ± 32,75	378,13 ± 150,03	0,0540 ± 0,0074
BARBARA	1095,50 ± 158,23	445,47 ± 41,16	0,0390 ± 0,0074
BASTIDE	1181,74 ± 101,26	488,61 ± 41,28	0,0225 ± 0,0031

	Rezultati istraživanja		
BC ELVIRA	1291,24 ± 185,20	542,27 ± 64,07	0,0284 ± 0,0019
BERMUDE	1124,93 ± 71,09	507,02 ± 13,14	0,0239 ± 0,0031
BEZOSTAJA	982,89 ± 54,73	434,95 ± 44,44	0,0344 ± 0,0035
BLASCO	1411,91 ± 59,72	669,57 ± 72,22	0,0205 ± 0,0043
CAPELLE DE SPERZ	1053,66 ± 88,75	409,70 ± 26,97	0,0356 ± 0,0042
CAPO	988,89 ± 110,45	409,17 ± 74,98	0,0445 ± 0,0108
CONTRA	997,85 ± 39,03	468,62 ± 42,36	0,0316 ± 0,0048
DARWIN	1117,44 ± 71,82	439,68 ± 4,73	0,0269 ± 0,0027
DEKAN	1330,3 ± 61,36	646,95 ± 53,57	0,0187 ± 0,0011
DEMETRA	1258 ± 131,93	480,72 ± 36,16	0,0349 ± 0,0019
DIVANA	1291,39 ± 218,04	410,22 ± 56,82	0,0230 ± 0,0037
EDISON	970,7 ± 117,66	377,61 ± 26,98	0,0394 ± 0,0042
ERYTHOSPERMUM	1443,34 ± 31,92	521,75 ± 36,40	0,0186 ± 0,0034
ESEVAN	1067,37 ± 12,66	455,47 ± 34,18	0,0414 ± 0,0115
ETOILE DE CHOISI	920,78 ± 54,19	444,95 ± 4,82	0,0357 ± 0,0075
EUROFIT	951,51 ± 90,04	402,33 ± 57,28	0,0355 ± 0,0015
EUROJET	1199,34 ± 84,47	430,22 ± 91,98	0,0276 ± 0,0055
FELIX	1139,70 ± 119,75	509,65 ± 40,31	0,0266 ± 0,0076
FESTIVAL	1108,44 ± 110,92	477,03 ± 19,09	0,0255 ± 0,0034
FIGURELLO	966,78 ± 27,04	393,39 ± 171,76	0,0485 ± 0,0036
GEMINI	1416,09 ± 131,72	606,45 ± 80,62	0,0206 ± 0,0034
GOLUBICA	1378,52 ± 110,56	637,48 ± 169,76	0,0293 ± 0,0019
GORBI	1062,24 ± 10,97	540,69 ± 30,44	0,0241 ± 0,0048
HERZOG	1066,68 ± 132,79	566,47 ± 34,44	0,0301 ± 0,0095
IKARUS	1102,75 ± 83,23	480,72 ± 97,04	0,0278 ± 0,0036
ILIRIJA	1377,94 ± 139,93	536,48 ± 61,17	0,0282 ± 0,0003
ISNEGRIAN	1285,54 ± 38,03	483,87 ± 28,80	0,0264 ± 0,0092
JANICA	1459,94 ± 133,17	615,39 ± 97,55	0,0214 ± 0,0092
KATARINA	1098,56 ± 57,38	408,12 ± 29,99	0,0312 ± 0,0010
KAVKAZ	1121,54 ± 75,99	475,46 ± 62,54	0,0295 ± 0,0093
KOMAROM	1358,97 ± 64,16	471,77 ± 75,84	0,0248 ± 0,0087
LAMBRIEGO INIA	1238,28 ± 30,22	508,60 ± 98,13	0,0272 ± 0,0024
LELA	1053,8 ± 131,05	473,88 ± 74,26	0,0364 ± 0,0096
LIBELLULA	991,14 ± 38,51	369,72 ± 37,89	0,0470 ± 0,0065
LUCIJA	1347,61 ± 121,82	570,67 ± 154,46	0,0354 ± 0,0043
LUDWIG	939,46 ± 84,91	488,08 ± 28,47	0,0344 ± 0,0017
LUTESCENS 8	999,38 ± 106,29	475,98 ± 46,50	0,0284 ± 0,0082
MIRONOVSKAYA 65	961,15 ± 65,73	491,24 ± 33,15	0,0353 ± 0,0069
MISTRALIS	1384,93 ± 47,81	498,08 ± 56,31	0,0217 ± 0,0062
MV CSARDAS	1140,26 ± 96,64	355,51 ± 226,37	0,0341 ± 0,0009
MV EMESE	1236,76 ± 12,58	599,08 ± 75,57	0,0269 ± 0,0020
MV MAGDALENA	1023,84 ± 50,58	458,10 ± 127,13	0,0474 ± 0,0105
MV MAGVAS	1180,05 ± 114,45	464,94 ± 136,90	0,0278 ± 0,0063
MV MAMBO	1322,53 ± 111,58	519,12 ± 51,78	0,0231 ± 0,0024

	Rezultati istraživanja		
MV MAZURKA	1279,61 ± 21,88	440,74 ± 42,18	0,0272 ± 0,0026
MV MENUETT	1175,72 ± 17,25	420,22 ± 203,08	0,0333 ± 0,0022
MV PALMA	1081,19 ± 29,89	495,45 ± 134,38	0,0348 ± 0,0038
MV TOLDI	1086,64 ± 27,00	432,32 ± 89,22	0,0342 ± 0,0005
MV VERBUNKOS	1226,37 ± 79,99	550,68 ± 208,35	0,0275 ± 0,0010
NIRVANA	1247,78 ± 13,01	601,71 ± 67,89	0,0267 ± 0,0078
NIZIJA	895,40 ± 104,27	359,20 ± 92,79	0,0567 ± 0,0010
NS RANA 5	958,93 ± 100,72	413,91 ± 25,32	0,0518 ± 0,0056
OSJEČKA 20	1216,56 ± 98,31	500,18 ± 67,41	0,0377 ± 0,0050
OSJEČKA CRVENKA	1299,12 ± 71,32	426,53 ± 66,31	0,0276 ± 0,0060
PANONIA NS	1033,71 ± 44,26	330,26 ± 44,20	0,0350 ± 0,0046
PANONIJA	1356,64 ± 112,21	519,65 ± 129,47	0,0282 ± 0,0061
PESMA	1107,54 ± 44,48	389,71 ± 32,85	0,0414 ± 0,0069
PIPI	1329,09 ± 101,81	672,20 ± 23,43	0,0226 ± 0,0051
PRIMA ODESKAYA	1213,92 ± 82,70	621,18 ± 68,74	0,0220 ± 0,0077
RAVENNA	1278,88 ± 68,02	555,94 ± 49,14	0,0189 ± 0,0016
REDIMER	929,69 ± 135,98	336,58 ± 91,70	0,0437 ± 0,0025
RENAN	1378,25 ± 81,32	685,36 ± 60,31	0,0200 ± 0,0023
RENATA	1464,83 ± 205,51	566,47 ± 90,66	0,0313 ± 0,0022
RENEŠANSA	1053,16 ± 42,22	340,26 ± 58,65	0,0389 ± 0,0043
RUŽICA	1263,93 ± 175,82	541,21 ± 44,76	0,0251 ± 0,0023
SAN PASTORE	1109,03 ± 38,94	346,57 ± 89,85	0,0341 ± 0,0016
SANA	1038,72 ± 56,45	449,15 ± 49,23	0,0406 ± 0,0056
SIDERAL	1302,74 ± 83,73	586,98 ± 49,72	0,0263 ± 0,0054
SIMONIDA	1085,55 ± 36,39	417,06 ± 106,58	0,0327 ± 0,0044
SLAVONIJA	1130,73 ± 106,32	601,19 ± 165,04	0,0338 ± 0,0018
SOISSONS	1240,62 ± 30,70	532,27 ± 16,12	0,0202 ± 0,0051
SREMICA	1069,47 ± 32,40	355,51 ± 62,42	0,0413 ± 0,0064
SRPANJKA	1372,99 ± 122,14	403,91 ± 20,05	0,0310 ± 0,0015
SUPER ŽITARKA	1184,56 ± 91,85	421,27 ± 42,71	0,0387 ± 0,0035
SW MAXI	1115,87 ± 199,14	471,77 ± 102,68	0,0263 ± 0,0026
<i>TRITICUM COMPACTUM</i>	919,33 ± 97,76	429,16 ± 46,93	0,0356 ± 0,0023
<i>TRITICUM DICOCCOIDES</i>	1271,75 ± 104,03	384,97 ± 42,39	0,0216 ± 0,0017
<i>TRITICUM MONOCOCCUM</i>	1168,21 ± 107,37	336,05 ± 24,47	0,0340 ± 0,0011
<i>TRITICUM SPELTA</i>	1167,89 ± 74,37	517,54 ± 50,63	0,0287 ± 0,0056
<i>TRITICUM SPHAEROCOCCUM</i>	1179,37 ± 36,04	521,75 ± 15,06	0,0431 ± 0,0008
U1	1202,49 ± 97,07	361,83 ± 22,45	0,0373 ± 0,0043
UKRAINKA	1189,56 ± 25,29	521,22 ± 25,71	0,0253 ± 0,0029
VIKTORIYA ODESKA	1103,11 ± 127,02	534,90 ± 9,11	0,0244 ± 0,0056
ŽITARKA	1386,34 ± 91,96	489,13 ± 24,67	0,0335 ± 0,0011
ZLATA	1364,01 ± 71,87	492,82 ± 15,16	0,0309 ± 0,0013
ZLATNA DOLINA	1342,48 ± 132,06	603,29 ± 157,20	0,0292 ± 0,0022
MSD	370,31	316,86	0,0212

	Rezultati istraživanja		
Tukey HSD test	7,14	3,13	6,52
<i>p</i>	≤0,0001	≤0,0001	≤0,0001

5.2. Pregled rezultata ispitivanja utjecaja dana otkosa na sadržaj biološki aktivnih komponenti u sokovima 9 sorata pšenične trave uzgojene iz zrna biljaka biofortificiranih Se i Zn u poljskom pokusu

5.2.1. Sadržaj kloroplastnih pigmenata u soku pšenične trave

Statistički značajne razlike u sadržaju kloroplastnih pigmenata u soku pšenične trave kod devet ispitivanih sorti utvrđene su Tukeyevim HSD testom. Za omjer klorofila a i b te omjer ukupnih klorofila i karotenoida nije utvrđen statistički značajan utjecaj sorte. S najvišom vrijednošću sadržaja klorofila a (0,653 mg/g sv.t.) te ukupnih klorofila (0,873 mg/g sv.t.) se isticala sorta Ilirija, a sorta Srpanjka je imala najveći sadržaj klorofila b (0,214 mg/g sv.t.) i karotenoida

SORTA	Klorofil a	Klorofil b	Klorofil a+b	Karotenoidi	Kl a/Kl b	Kl/Kar
Antonius	0,472 ± 0,057	0,164 ± 0,024	0,644 ± 0,088	0,144 ± 0,021	3,035 ± 0,231	4,509 ± 0,154
Dekan	0,556 ± 0,061	0,174 ± 0,022	0,723 ± 0,085	0,159 ± 0,018	3,178 ± 0,198	4,505 ± 0,156
Divana	0,488 ± 0,045	0,168 ± 0,048	0,658 ± 0,075	0,148 ± 0,013	2,976 ± 0,589	4,223 ± 1,089
Felix	0,597 ± 0,054	0,190 ± 0,020	0,781 ± 0,069	0,184 ± 0,016	3,035 ± 0,421	4,470 ± 0,411
Ilirija	0,653 ± 0,072	0,203 ± 0,029	0,873 ± 0,096	0,193 ± 0,021	3,197 ± 0,498	4,476 ± 0,379
Katarina	0,519 ± 0,062	0,173 ± 0,021	0,707 ± 0,089	0,154 ± 0,015	2,960 ± 0,341	4,397 ± 0,307
Soissons	0,634 ± 0,070	0,205 ± 0,029	0,845 ± 0,102	0,188 ± 0,021	3,144 ± 0,145	4,402 ± 0,148
Srpanjka	0,637 ± 0,062	0,214 ± 0,018	0,851 ± 0,078	0,194 ± 0,015	2,973 ± 0,161	4,446 ± 0,151
U1	0,468 ± 0,062	0,153 ± 0,025	0,633 ± 0,090	0,141 ± 0,019	3,065 ± 0,441	4,428 ± 0,348
MSD	0,0604	0,0274	0,0855	0,0177	0,3649	0,4438
F	53,38	25,2	49,75	72,36	1,81	1,39
<i>p</i>	≤0,0001	≤0,0001	≤0,0001	≤0,0001	0,0789	0,2066

(0,194 mg/g sv.t.). Najniže vrijednosti klorofila a (0,468 mg/g sv.t.), klorofila b (0,153 mg/g sv.t.), ukupnih klorofila (0,633 mg/g sv.t.) te karotenoida (0,141 mg/g sv.t.) je imala sorta U1.

Tablica 8. Utjecaj sorte na sadržaj kloroplastnih pigmenata (mg/g sv.t.), omjer klorofila a i b (kl a/kl b) i omjer ukupnih klorofila i karotenoida (kl/kar) u soku pšenične trave

Tablica 9. Utjecaj dana otkosa na sadržaj kloroplastnih pigmenata (mg/g sv.t.), omjer klorofila a i b (kl a/kl b) i omjer ukupnih klorofila i karotenoida (kl/kar) u soku pšenične trave

Dan otkosa	Klorofil a	Klorofil b	Klorofil a+b	Karotenoidi	Kl a/Kl b	Kl/Kar
6. dan	0,567 ± 0,093	0,180 ± 0,036	0,745 ± 0,130	0,169 ± 0,029	3,180 ± 0,327	4,401 ± 0,151
8. dan	0,555 ± 0,096	0,188 ± 0,034	0,760 ± 0,122	0,166 ± 0,028	2,921 ± 0,472	4,576 ± 0,456

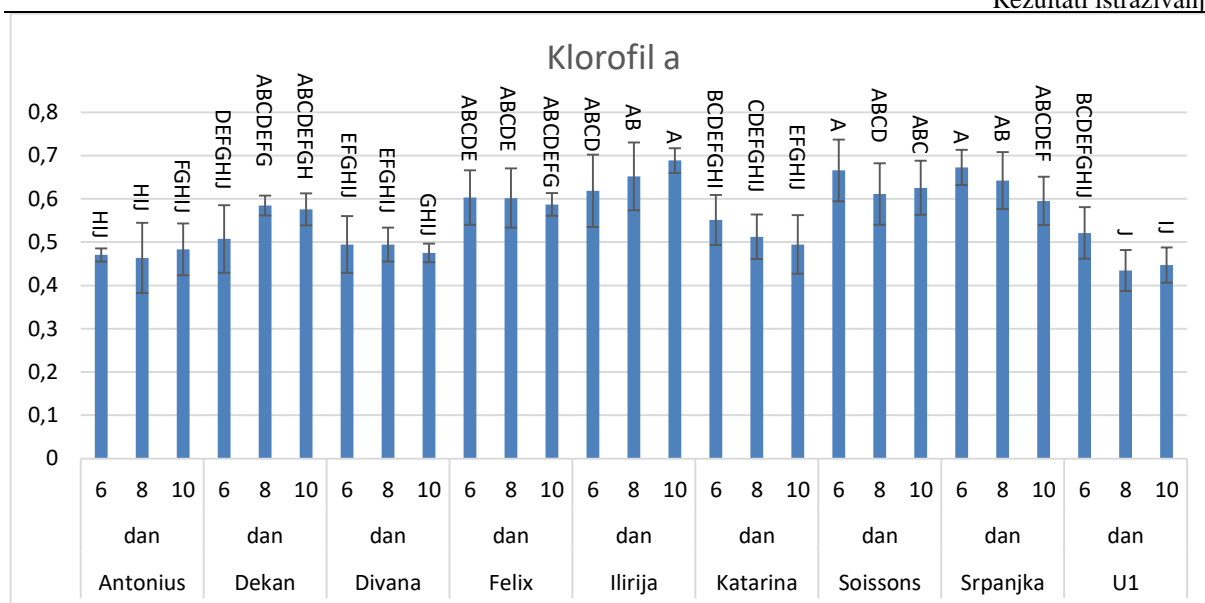
10. dan	0,552 ± 0,089	0,180 ± 0,030	0,733 ± 0,117	0,167 ± 0,026	3,087 ± 0,233	4,308 ± 0,583
MSD	0,0428	0,0156	0,0569	0,0127	0,1654	0,2015
F	1,77	3,82	3,1	1,18	11,34	10,21
p	0,1734	0,0238	0,0479	0,3101	≤0,0001	≤0,0001

Značajan učinak dana otkosa nije utvrđen za klorofil a, klorofil b, ukupne klorofile te karotenoide. Za omjer klorofila a i b te omjer klorofila i karotenoida je utvrđen značajan učinak dana otkosa. Najniža vrijednost za omjer klorofila a i b je utvrđena za 8. dan, a najviša za 6. dan, dok je za omjer ukupnih klorofila i karotenoida utvrđena najniža vrijednost u 10. danu, a najviša vrijednost u 8. danu.

Tablica 10. Utjecaj biofortifikacije Se i Zn na sadržaj kloroplastnih pigmenata (mg/g sv.t.), omjer klorofila a i b (kl a/kl b) i omjer ukupnih klorofila i karotenoida (kl/kar) u soku pšenične trave

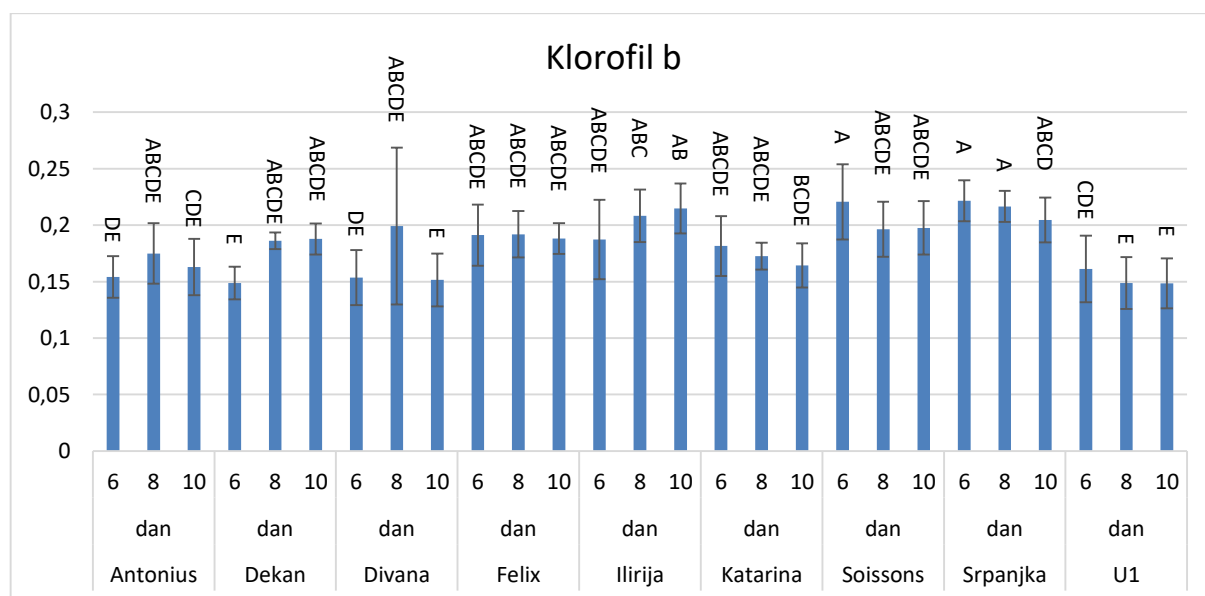
Tretman	Klorofil a	Klorofil b	Klorofil a+b	Karotenoidi	Kl a/Kl b	Kl/Kar
Bio 0	0,555 ± 0,083	0,184 ± 0,036	0,742 ± 0,109	0,168 ± 0,025	3,026 ± 0,435	4,385 ± 0,690
Bio 1	0,565 ± 0,106	0,187 ± 0,034	0,756 ± 0,141	0,169 ± 0,032	3,053 ± 0,269	4,451 ± 0,214
Bio 2	0,555 ± 0,088	0,178 ± 0,032	0,740 ± 0,118	0,166 ± 0,026	3,109 ± 0,392	4,449 ± 0,287
MSD	0,0429	0,0156	0,057	0,0127	0,172	0,2075
F	0,92	3,19	1,28	1,31	1,18	0,76
p	0,4013	0,0438	0,2806	0,2715	0,3085	0,4673

Na sadržaj svih mjerenih parametara vezanih za kloroplastne pigmente, Tukeyevim HSD testom nije utvrđen značajan utjecaj biofortifikacije Se i Zn. Najviše vrijednosti sadržaja klorofila a, klorofila b, ukupnih klorofila i karotenoida su utvrđene u soku pšenične trave koja je uzgojena iz sjemena biofortificiranog u fazi cvatnje.



Grafikon 2. Utjecaj sorte i dan otkosa na sadržaj klorofila a (mg/g sv.t.) u soku pšenične trave

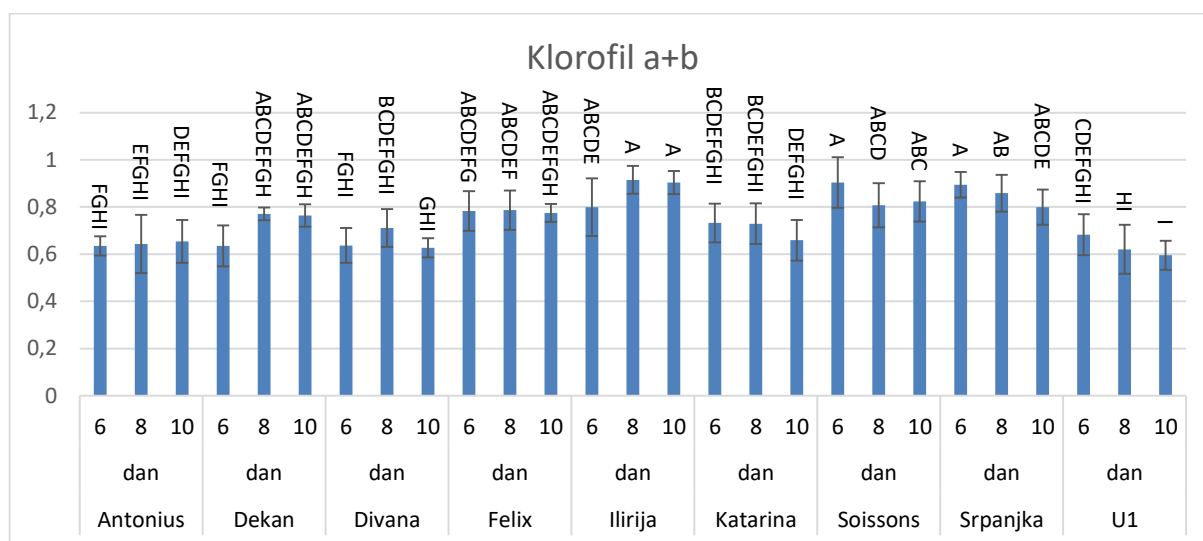
Utvrđena je značajna interakcija sorte i dana otkosa pšenične trave na sadržaj klorofila a ($F=3,24$; $p < 0,0001$). HSD testom na razini značajnosti od 99 % utvrđeno je da sok, iscijeđen iz pšenične trave sorte Ilirija rezane 10. dan od sjetve je sadržavao najviše klorofila a (0,689 mg/g sv.t.), a najniža vrijednost klorofila a, utvrđena je kod sorte U1 na 8. dan otkosa (0,435 mg/g sv.t.). (Grafikon 2.)



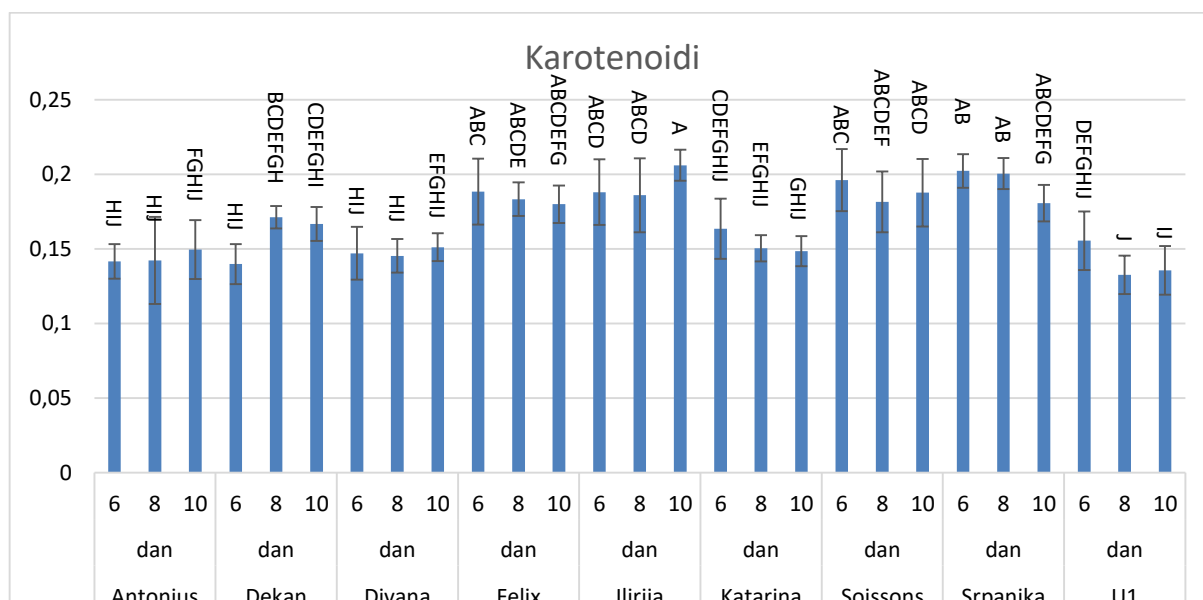
Grafikon 3. Utjecaj sorte i dan otkosa na sadržaj klorofila b (mg/g sv.t.) u soku pšenične trave

Statistički značajne razlike u sadržaju klorofila b u soku pšenične trave iscijeđenog iz 9 ispitivanih sorata na tri različita dana otkosa, utvrđene su Tukeyevim HSD testom ($F=4,01$;

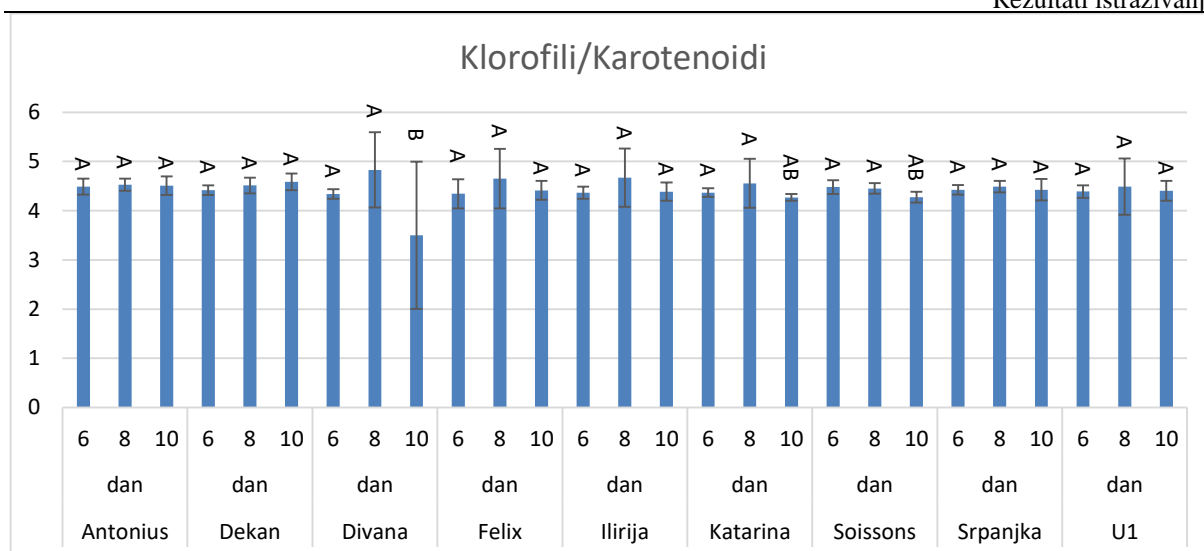
$p \leq 0,0001$). Sok iscijeđen iz pšenične trave sorte Srpanjka na 6. dan otkosa je imao najviši sadržaj klorofila b (0,222 mg/g sv.t.), a sorta U1 na 10. dan otkosa je imala najniži sadržaj klorofila b (0,148 mg/g sv.t.). (Grafikon 3.)



Grafikon 4. Utjecaj sorte i dan otkosa na sadržaj ukupnih klorofila (mg/g sv.t.) u soku pšenične trave
Interakcija sorte i dana otkosa značajno je utjecala na sadržaj ukupnih klorofila ($F=4,47$; $p \leq 0,0001$). Sok pripremljen na 8. dan otkosa kod sorte Ilirija sadržavao je najviše ukupnih klorofila (0,915 mg/g sv.t.), a sok pripremljen na 10. dan otkosa sorte U1 sadržavao je najmanje ukupnih klorofila (0,595 mg/g sv.t.) (Grafikon 4.).

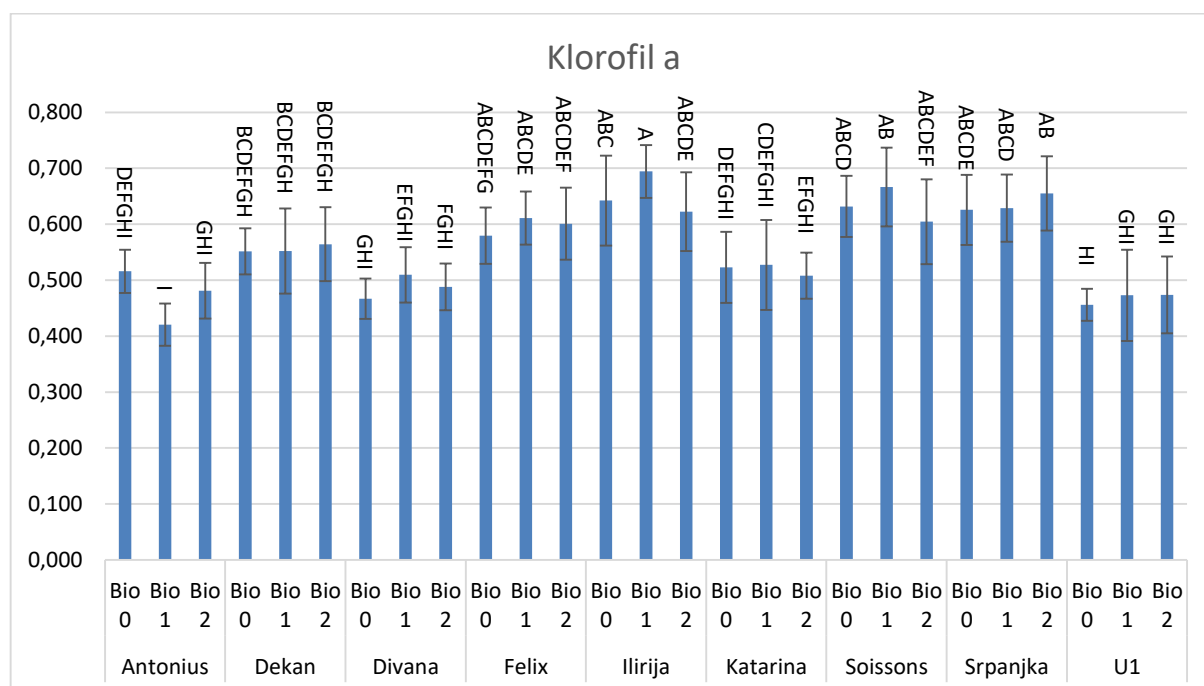


Grafikon 5. Utjecaj sorte i dan otkosa na sadržaj karotenoida (mg/g sv.t.) u soku pšenične trave



Grafikon 6. Utjecaj sorte i dana otkosa na omjer ukupnih klorofila i karotenoida u soku pšenične trave

Utvrđena je značajna interakcija sorte i dana otkosa na sadržaj karotenoida ($F=5,2$; $p \leq 0,0001$) i omjer klorofila i karotenoida ($F=2,94$; $p=0,0003$). Najviše vrijednosti sadržaja karotenoida su utvrđene kod sorte Ilirija na 10. dan otkosa (0,206 mg/g sv.t.), a najniže kod sorte U1 na 8. dan otkosa (0,133 mg/g sv.t.) (Grafikon 5.). Najveća vrijednost za omjer klorofila i karotenoida je utvrđena kod sorte Divana na 8. dan otkosa (4,829 mg/g sv.t.), a najniža vrijednost kod sorte Divana na 10. dan otkosa (3,500 mg/g sv.t.) (Grafikon 6.).

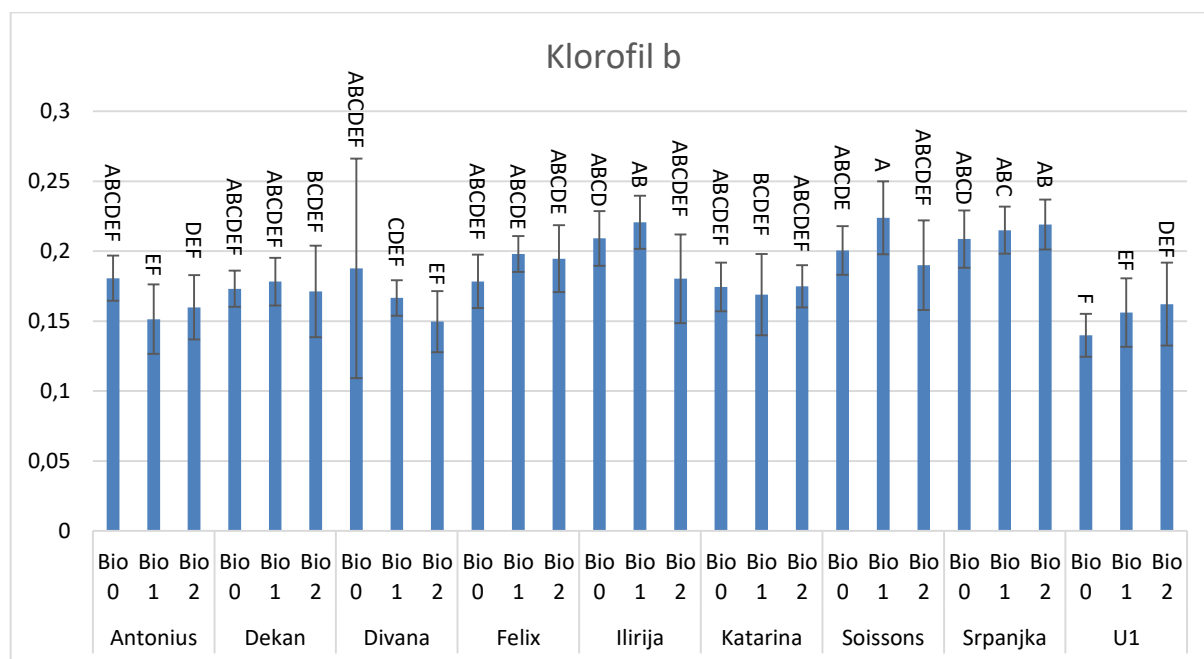


Grafikon 7. Utjecaj sorte i biofortifikacije Se i Zn na sadržaj klorofila a (mg/g sv.t.) u soku pšenične

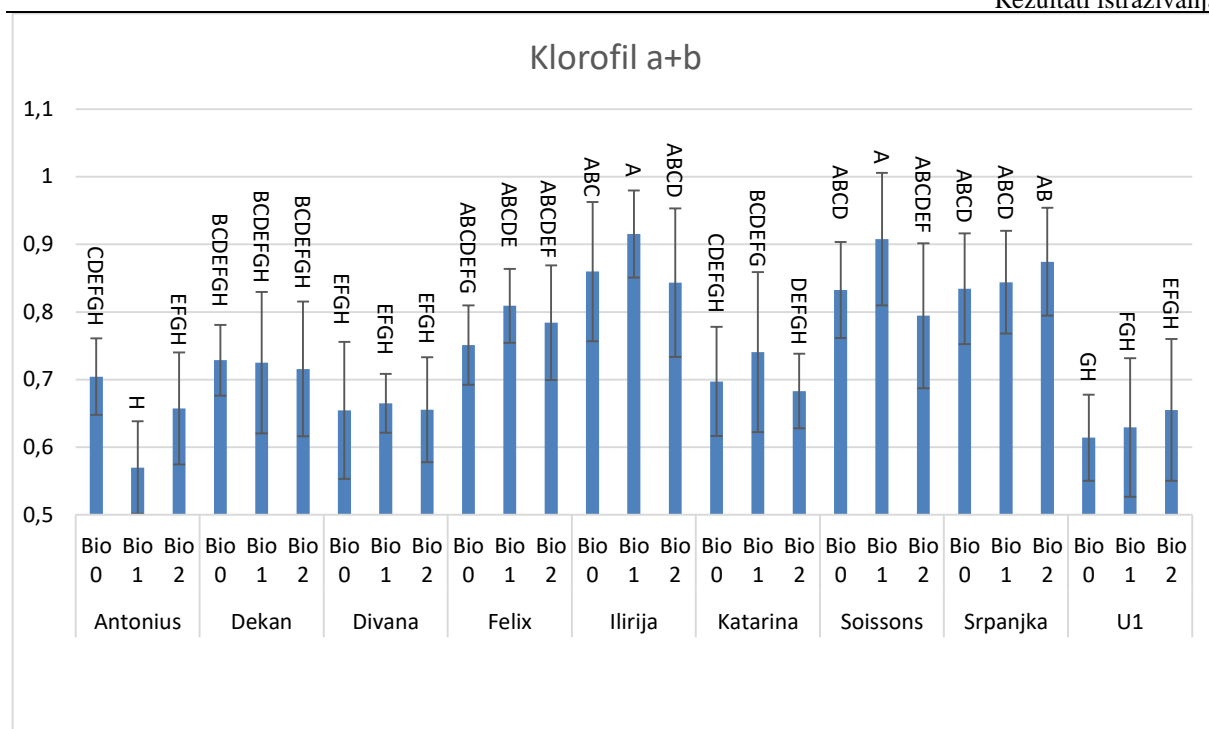
trave (Bio 0, bez biofortifikacije; Bio 1, biofortificirano Se i Zn u fazi cvatnje; Bio 2, biofortificirano Se i Zn u fazi cvatnje i mliječne zriobe)

Dvosmjernom analizom varijance utvrđen je značajan učinak interakcije sorte i biofortifikacije Se i Zn na sadržaj klorofila a ($F=2,25$; $p=0,0057$) (Grafikon 7.), klorofila b ($F=3,37$; $p\leq 0,0001$) (Grafikon 8.), sadržaj ukupnih klorofila ($F=2,66$; $p=0,001$) (Grafikon 9.) i sadržaj karotenoida ($F=6$; $p\leq 0,0001$) (Grafikon 10.) u soku pšenične trave. Najviša vrijednost sadržaja klorofila a utvrđena je za sok pšenične trave sorte Ilirija biofortificirane u fazi cvatnje Se i Zn (0,694 mg/g sv.t.), a najniža kod sorte Antonius biofortificirane Se i Zn u fazi cvatnje (0,420 mg/g sv.t.) (Grafikon 7.)

Sorta Soissons biofortificirana Se i Zn u fazi cvatnje se isticala najvišom vrijednošću sadržaja klorofila b (0,224 mg/g sv.t.), a najniža vrijednost sadržaja klorofila b je utvrđena kod sorte U1 koja nije biofortificirana (0,140 mg/g sv.t.) (Grafikon 8.).

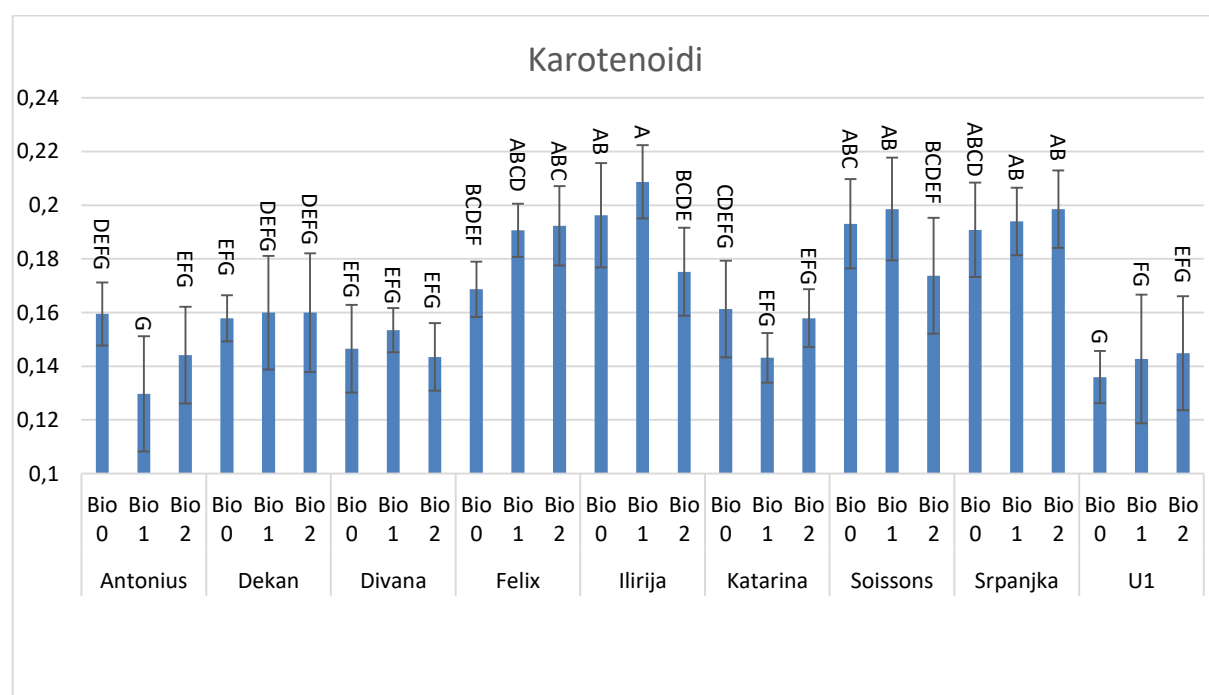


Grafikon 8. Utjecaj sorte i biofortifikacije Se i Zn na sadržaj klorofila b (mg/g sv.t.) u soku pšenične trave



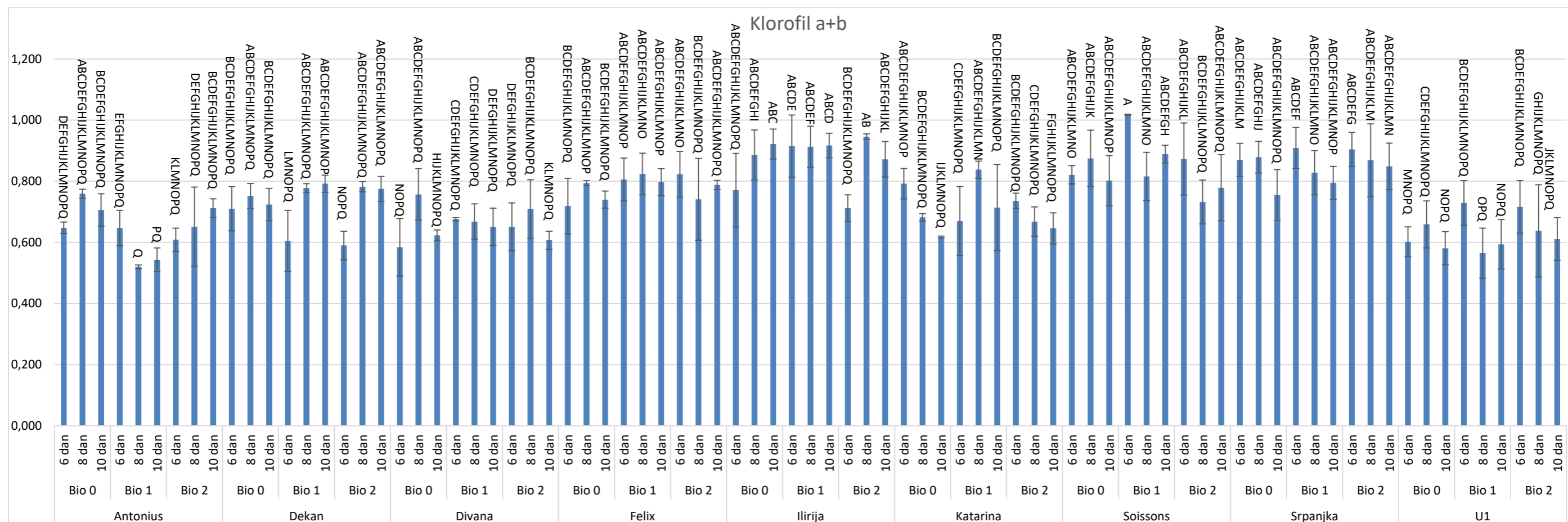
Grafikon 9. Utjecaj sorte i biofortifikacije Se i Zn na sadržaj ukupnih klorofila (mg/g sv.t.) u soku pšenične trave

Sok iscijeđen iz pšenične trave sorte Ilirija koja je biofortificirana Se i Zn u fazi cvatnje imala je najveći sadržaj ukupnih klorofila (0,915 mg/g sv.t.), a sorta Antonius biofortificirana Se i Zn u fazi cvatnje je imala najmanji sadržaj ukupnih klorofila (0,570 mg/g sv.t.) (Grafikon 9.).



Grafikon 10. Utjecaj sorte i biofortifikacije Se i Zn na sadržaj karotenoida (mg/g sv.t.) u soku pšenične trave

Vrijednosti sadržaja karotenoida su se kretale od 0,130 mg/g sv.t. (Antonius, biofortificiran Se i Zn u fazi cvatnje) do 0,209 mg/g sv.t. (Ilirija, biofortificirana Se i Zn u fazi cvatnje) (Grafikon 10.).



Grafikon 11. Utjecaj sorte, biofortifikacije Se i Zn i dana otkosa na sadržaj ukupnih klorofila (mg/g sv.t.) u soku pšenične trave

Utvrđena je značajna interakcija sorte, dana otkosa i biofortifikacije Se i Zn za sadržaj ukupnih klorofila ($F=2,04$; $p=0,0021$) (Grafikon 11.). Najniža vrijednost je utvrđena kod sorte Antonius, biofortificirane Se i Zn u fazi cvatnje, na 8. dan otkosa (0,520 mg/g sv.t.), a najviša vrijednost sadržaja ukupnih klorofila utvrđena je kod sorte Soissons na 6. dan otkosa pri biofortifikaciji u fazi cvatnje (1,018 mg/g sv.t.).

5.2.2. Sadržaj antioksidanata i antioksidativna aktivnost (DPPH i FRAP) u soku 9 sorti pšenične trave biofortificirane Se i Zn

Tablica 11. Utjecaj sorte na sadržaj vitamina C (mg vit C/100 g sv.t.), fenola (μg GAE/100 mg sv.t.), flavonoida (μg QCE/100 mg sv.t.) i antioksidativnu aktivnost (DPPH (IC 50% u mg) i FRAP (mmol FeSO_4/g sv.t.))

Sorta	Vitamin C	DPPH	FRAP	Fenoli	Flavonoidi
Antonius	71,05 \pm 19,67	0,022 \pm 0,003	0,745 \pm 0,039	99,5 \pm 7,07	46,52 \pm 20,37
Dekan	68,77 \pm 17,49	0,020 \pm 0,004	0,836 \pm 0,079	114,67 \pm 13,22	77,74 \pm 23,45
Divana	80,56 \pm 21,69	0,016 \pm 0,002	0,817 \pm 0,121	124,23 \pm 7,19	75,34 \pm 21,65
Felix	70,14 \pm 19,03	0,015 \pm 0,003	0,894 \pm 0,110	124,32 \pm 17,95	67,77 \pm 24,23
Ilirija	69,47 \pm 15,81	0,010 \pm 0,003	0,996 \pm 0,161	140,36 \pm 13,08	95,15 \pm 19,60
Katarina	80,87 \pm 15,11	0,018 \pm 0,003	0,797 \pm 0,079	112,28 \pm 13,72	58,94 \pm 17,30
Soissons	78,07 \pm 15,12	0,011 \pm 0,002	1,039 \pm 0,129	146,98 \pm 9,06	76,93 \pm 26,72
Srpanjka	81,34 \pm 21,52	0,013 \pm 0,002	0,949 \pm 0,092	131,84 \pm 8,11	55,72 \pm 23,18
U1	73,81 \pm 16,75	0,017 \pm 0,004	0,791 \pm 0,091	126,14 \pm 9,97	58,58 \pm 24,44
MSD	18,012	0,0031	0,1043	11,462	22,279
F	2,3	98,69	35,16	112,69	24,93
p	0,022	$\leq 0,0001$	$\leq 0,0001$	$\leq 0,0001$	$\leq 0,0001$

Utvrđen je značajan učinak sorte na antioksidativnu aktivnost (DPPH i FRAP) i sadržaj fenola i flavonoida (Tablica 11.). Vrijednosti sadržaja vitamina C u soku pšenične trave su se kretali od 68,77 mg vit C/100 g sv.t. (Dekan) do 81,34 mg vit C/100 g sv.t. (Srpanjka), no statističke značajne razlike između sorti nisu utvrđene. U ovom dijelu pokusa, najviša vrijednost za DPPH označava zapravo najveću potrebnu količinu uzorka (u mg) za 50 % inhibicije. Najveća količina uzorka za 50 % inhibicije je potrebna za sortu Antonius (0,022 mg), a najmanja za sortu Ilirija (0,010 mg). Najviša vrijednost antioksidativne aktivnosti dobivena FRAP metodom utvrđena je kod sorte Soissons (1,039 mmol FeSO_4/g sv.t.), a najmanja kod Antonius (0,745 mmol FeSO_4/g sv.t.). Također kod sorte Antonius utvrđene su najniže vrijednosti za sadržaj fenola (99,5 μg GAE/100 mg sv.t.) i flavonoida (46,52 μg QCE/100 g sv.t.), dok je najviša vrijednost sadržaja fenola utvrđena kod sorte Soissons (146,98 μg GAE/100 mg sv.t.), a flavonoida kod sorte Ilirija (95,15 μg QCE/100 g sv.t.) (Tablica 11.).

Tablica 12. Utjecaj dana otkosa na sadržaj vitamina C (mg vit C/100 g sv.t.), fenola (μg GAE/100 mg sv.t.), flavonoida (μg QCE/100 g sv.t.) i antioksidativnu aktivnost (DPPH (IC 50 % u mg) i FRAP (mM FeSO_4/g sv.t.))

Dan otkosa	Vitamin C	DPPH	FRAP	Fenoli	Flavonoidi
6.dan	81,29 \pm 20,79	0,013 \pm 0,004	0,892 \pm 0,149	134,57 \pm 16,80	69,95 \pm 26,87
8.dan	75,97 \pm 15,80	0,017 \pm 0,004	0,866 \pm 0,131	119,10 \pm 15,23	66,09 \pm 27,49
10.dan	67,43 \pm 16,20	0,017 \pm 0,005	0,863 \pm 0,142	119,78 \pm 17,06	68,19 \pm 24,19

MSD	8,1992	0,002	0,0652	7,5729	12,118
F	22,14	95,76	2,66	122,71	1,27
<i>p</i>	≤0,0001	≤0,0001	0,0733	≤0,0001	0,2825

Dan otkosa značajno je utjecao na sadržaj vitamina C, antioksidativnu aktivnost (DPPH) te na sadržaj fenola. Između 6. dana (81,29 mg vit C/100 g sv.t.) i 8. dana (75,97 mg vit C/100 g sv.t.) u prosijeku za sve sorte i tretmane, sadržaj vitamina C u soku pšenične trave se nije značajno razlikovao, a značajno niže vrijednosti sadržaja vitamina C utvrđene su na 10. dan otkosa (67,43 mg vit C/100 g sv.t.). Najmanja količina uzorka potrebna za 50 % inhibicije (DPPH) utvrđena je na 6. dan otkosa (0,013 mg), a za 8. i 10. dan otkosa između vrijednosti potrebne količine uzorka za 50 % inhibicije, nije bilo statistički značajnih razlika (0,017 mg). Značajno najviša vrijednosti sadržaja fenola utvrđena je na 6. dan otkosa (134,57 µg GAE/100 mg sv.t.), a između 8. (119,10 µg GAE/100 mg sv.t.) i 10. dana (119,78 µg GAE/100 mg sv.t.) nema statističke značajne razlike (Tablica 12.).

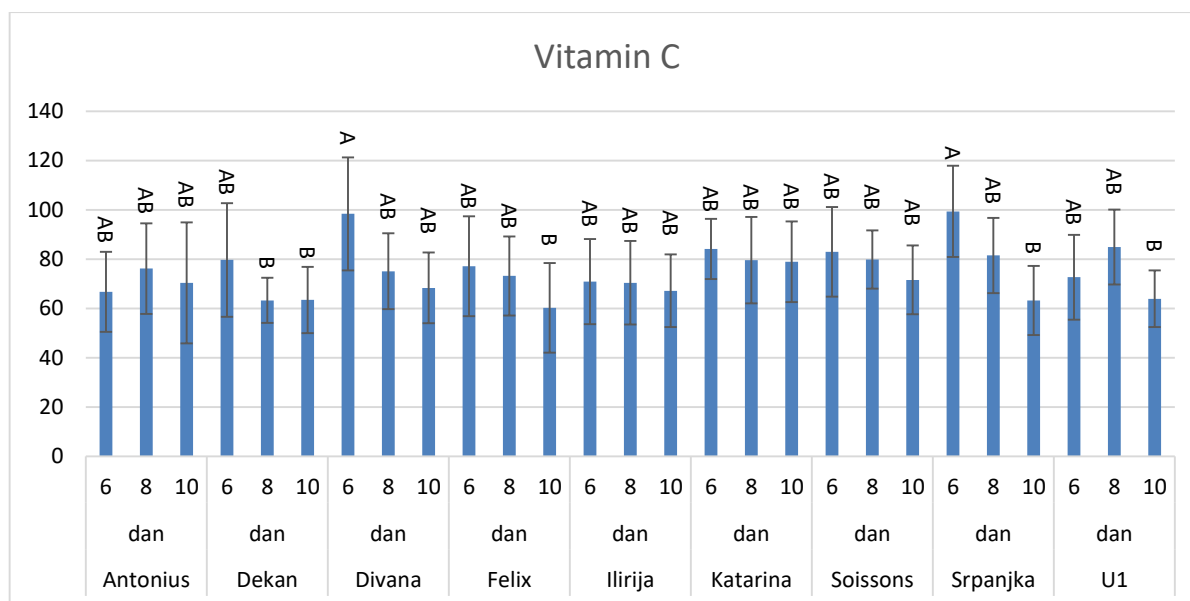
Tablica 13. Utjecaj biofortifikacije Se i Zn na sadržaj vitamina C (mg vit C/100 g sv.t.), fenola (µg GAE/100 mg sv.t.), flavonoida (µg QCE/100 mg sv.t.) i antioksidativnu aktivnost (DPPH (IC 50 % u mg) i FRAP (mmol FeSO₄/g sv.t.))

Tretman	Vitamin C	DPPH	FRAP	Fenoli	Flavonoidi
Bio 0	79,17 ± 20,39	0,016 ± 0,004	0,870 ± 0,158	124,63 ± 19,78	77,77 ± 26,87
Bio 1	76,58 ± 17,07	0,016 ± 0,005	0,890 ± 0,138	125,16 ± 17,36	64,77 ± 25,14
Bio 2	68,94 ± 16,70	0,015 ± 0,005	0,861 ± 0,125	123,66 ± 16,33	61,69 ± 23,85
MSD	8,3782	0,0022	0,0652	8,2634	11,7
F	12,82	1,08	2,25	0,93	24,92
<i>p</i>	≤0,0001	0,3415	0,1088	0,3968	≤0,0001

Utvrđen je značajan učinak biofortifikacije Se i Zn na sadržaj vitamina C i sadržaj flavonoida (Tablica 13.). Značajno najviša vrijednosti vitamina C je utvrđena u kontroli (79,17 mg vit C/100 g sv.t.), odnosno bez biofortifikacije, a najniža vrijednost kod drugog tretmana (68,94 mg vit C/100 g sv.t.), odnosno biljaka koje su biofortificirane Se i Zn u fazi cvatnje i fazi mliječne zriobe. Najviši sadržaj flavonoida je utvrđen u kontroli (77,77 µg QCE/100 mg sv.t.), a između prvog i drugog tretmana, odnosno između biofortifikacije u fazi cvatnje i između biofortifikacije u fazi cvatnje i mliječne zriobe, nema statistički značajnih razlika.

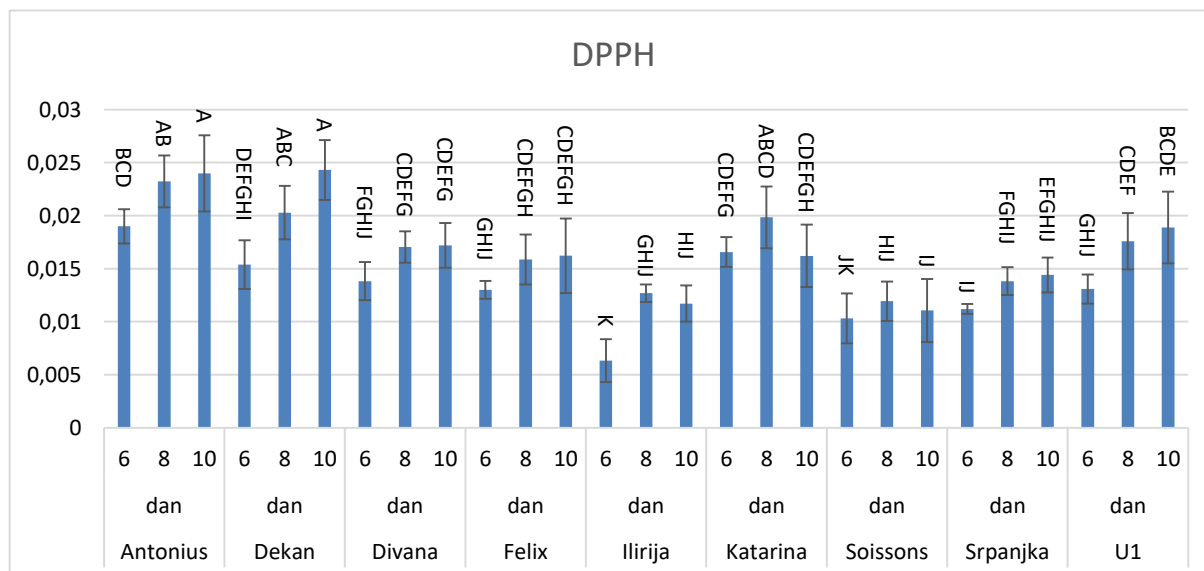
Dvosmjernom analizom varijance utvrđen je značajan učinak interakcije sorte i dana otkosa na sadržaj vitamina C u soku pšenične trave (F=3,05; *p*=0,0002). Najviša vrijednost sadržaja vitamina C je utvrđena kod sorte Srpanjka na 6. dan otkosa (99,33 mg vit C/100 g sv.t.), a

najniža vrijednost kod sorte Felix na 10. dan otkosa (60,21 mg vit C/100 g sv.t.) (Grafikon 12.).



Grafikon 12. Utjecaj sorte i dan otkosa na sadržaj vitamina C (mg vit C/100 g sv.t.) u soku pšenične trave

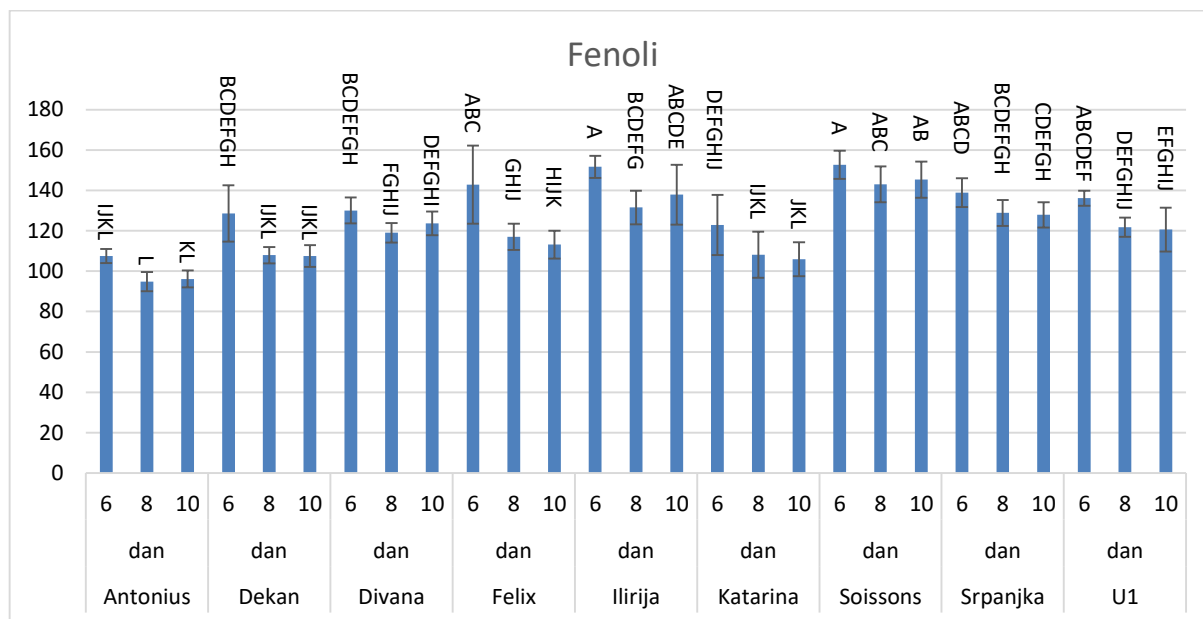
Utvrđena je značajna interakcija sorte i dana otkosa na antioksidativnu aktivnost (DPPH) u soku pšenične trave ($F=5,02$; $p \leq 0,0001$) (Grafikon 13.). Najveća vrijednost potrebne količine uzorka za 50 % inhibicije je utvrđena kod sorte Divana 10. dan otkosa (0,024 mg), a najmanja vrijednost potrebne količine uzorka za 50 % inhibicije je utvrđena kod sorte Ilirija 6. dan otkosa (0,006 mg) (Grafikon 13.). Statistički značajne razlike u sadržaju fenola u soku pšenične



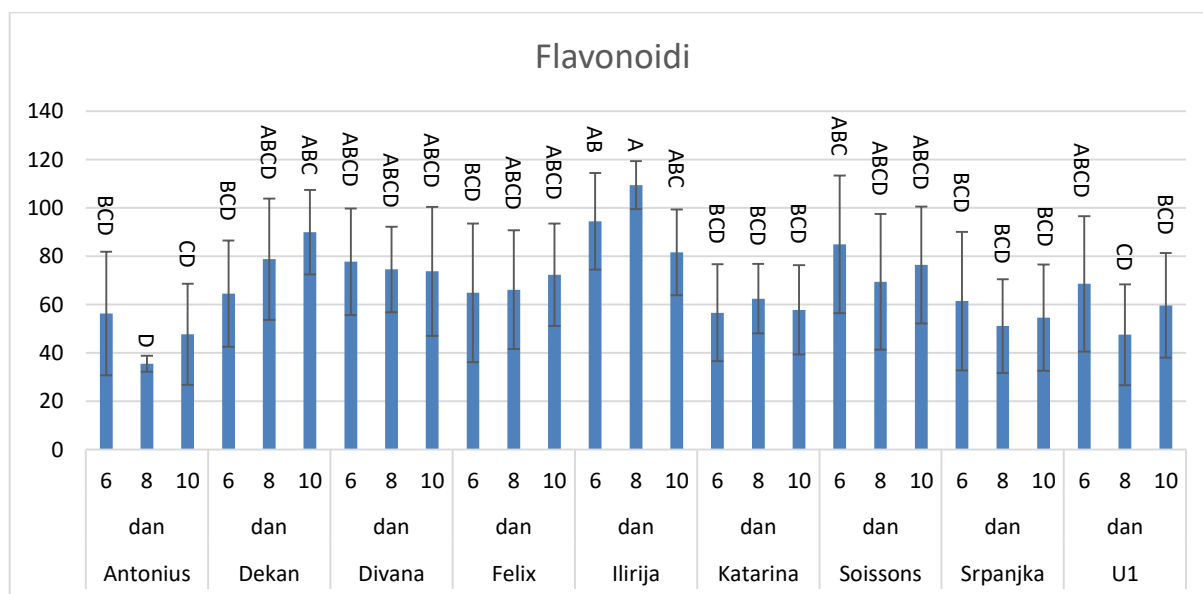
Grafikon 13. Utjecaj sorte i dan otkosa na antioksidativnu aktivnost (DPPH (IC 50 % u mg)) u soku pšenične trave

trave kod ispitivanih sorti i u različite dane otkosa (Grafikon 14.) utvrđene su Tukeyevim HSD testom ($F=2,8$; $p=0,0005$). Na 6. dan otkosa kod sorte Soissons (152,68 $\mu\text{g GA}/100 \text{ mg sv.t.}$)

utvrđena je najviša vrijednost sadržaja fenola u soku pšenične trave, a najniža vrijednost sadržaja fenola je utvrđena kod sorte Antonius na 8. dan otkosa (94,82 $\mu\text{g GA}/100 \text{ mg sv.t.}$) (Grafikon 14.).



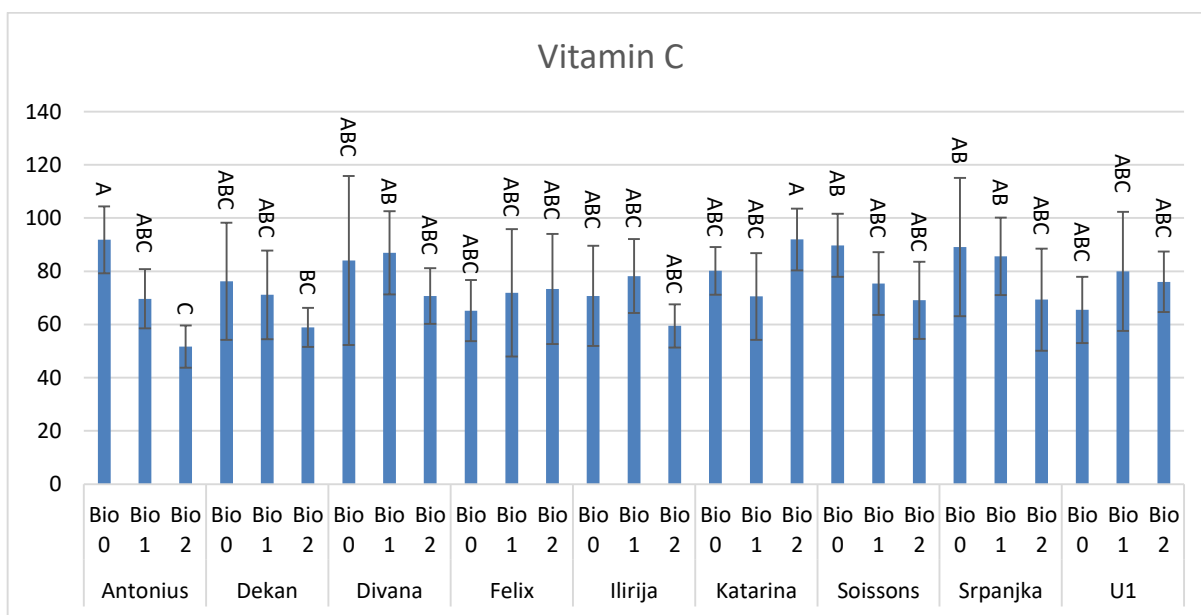
Grafikon 14. Utjecaj sorte i dan otkosa na sadržaj fenola ($\mu\text{g GA}/100 \text{ mg sv.t.}$) u soku pšenične trave



Grafikon 15. Utjecaj sorte i dan otkosa na sadržaj flavonoida ($\mu\text{g QCE}/100 \text{ mg sv.t.}$) u soku pšenične trave

Utvrđena je značajna interakcija sorte i dana otkosa na sadržaj flavonoida u soku pšenične trave ($F=3,14; p=0,0001$) (Grafikon 15.). Sok pšenične trave sorte Ilirija na 8. dan otkosa sadržavao je najviše flavonoida (109,4 $\mu\text{g QCE}/100 \text{ g sv.t.}$), a u soku pripremljenom na 8. dan otkosa, sorte Antonius bilo je najmanje flavonoida (35,5 $\mu\text{g QCE}/100 \text{ g sv.t.}$) (Grafikon 15.).

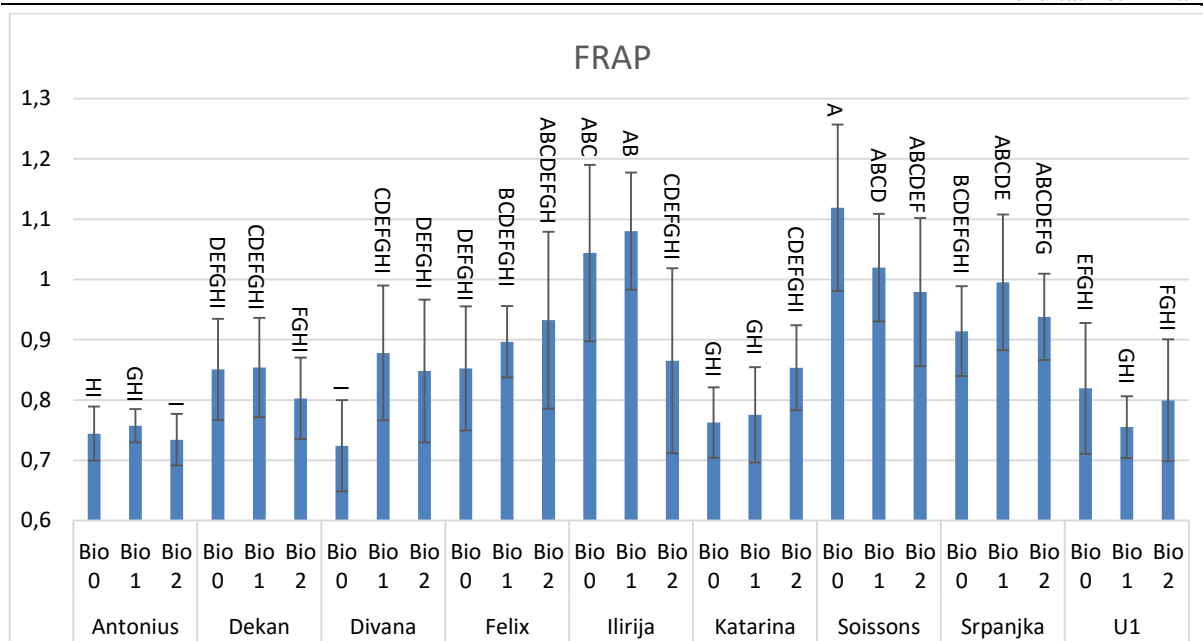
Biofortifikacija Se i Zn i sorta su značajno utjecale na promjenu sadržaja vitamina C (mg vit C/100 g sv.t.) ($F=5,08$; $p\leq 0,0001$), antioksidativnu aktivnost (mmol $\text{FeSO}_4/\text{g sv.t.}$) ($F=4,41$; $p\leq 0,0001$), sadržaj fenola ($\mu\text{g GAE}/100 \text{ mg sv.t.}$) ($F=5,09$; $p\leq 0,0001$) i flavonoida ($\mu\text{g QCE}/100 \text{ mg sv.t.}$) ($F=11,08$; $p\leq 0,0001$) u soku pšenične trave. HSD testom na razini značajnosti od 99 % utvrđeno je da pri biofortifikaciji Se i Zn u fazi cvatnje i fazi mliječne zriobe kod sorte Katarina bio značajno najveći sadržaj vitamina C (91,93 mg vit C/100 g sv.t.), a najmanji (51,64 mg vit C/100 g sv.t.) kod sorte Antonius pri biofortifikaciji Se i Zn u fazi cvatnje i mliječne zriobe (Grafikon 16.).



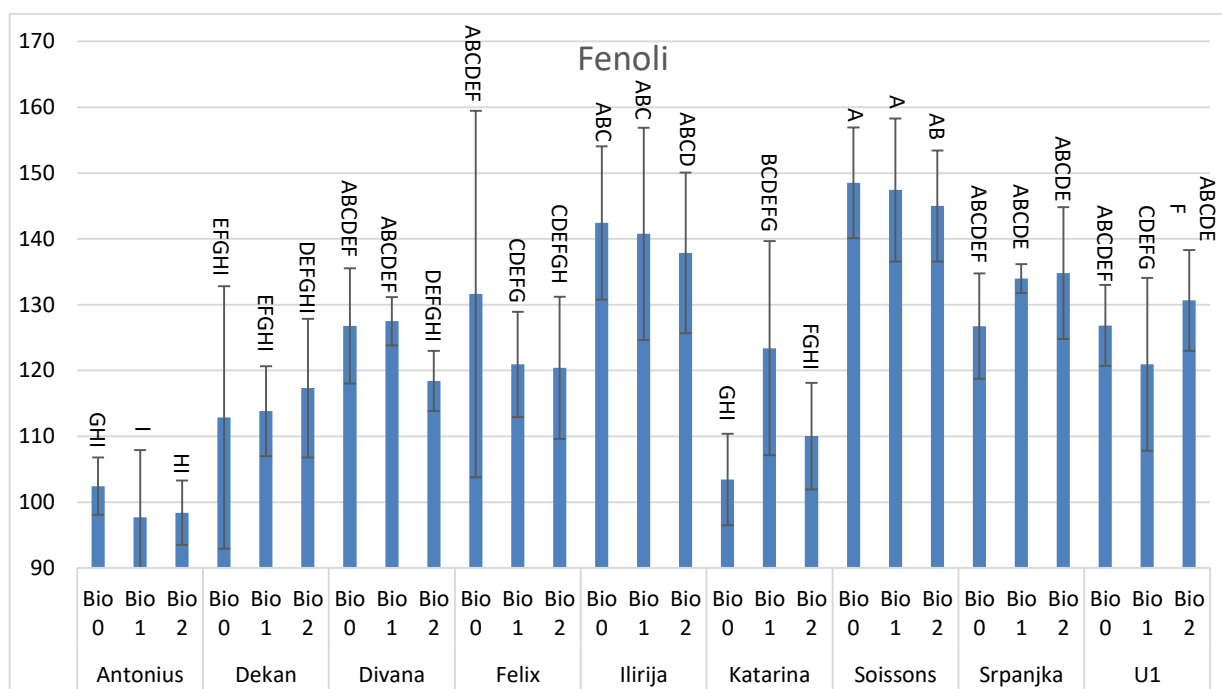
Grafikon 16. Utjecaj sorte i biofortifikacije Se i Zn na sadržaj vitamina C (mg vit C/100 g sv.t.) u soku pšenične trave

Najviša vrijednost antioksidativne aktivnosti FRAP metodom (mmol $\text{FeSO}_4/\text{g sv.t.}$) je utvrđena kod sorte Soissons u kontrolnim biljkama, odnosno bez biofortifikacije (1,119 mmol $\text{FeSO}_4/\text{g sv.t.}$), a kod sorte Divana, također kod kontrolnih biljaka utvrđena je najniža vrijednost antioksidativne aktivnosti (0,724 mmol $\text{FeSO}_4/\text{g sv.t.}$) (Grafikon 17.).

U soku pšenične trave sorte Soissons kod biljaka koje nisu biofortificirane Se i Zn, utvrđena je najviša vrijednost sadržaja fenola (148,50 $\mu\text{g GAE}/100 \text{ mg sv.t.}$), a najniža vrijednost sadržaja fenola je utvrđena u soku pšenične trave sorte Antonius biofortificirane Se i Zn u fazi cvatnje (97,67 $\mu\text{g GAE}/100 \text{ mg sv.t.}$) (Grafikon 18.).

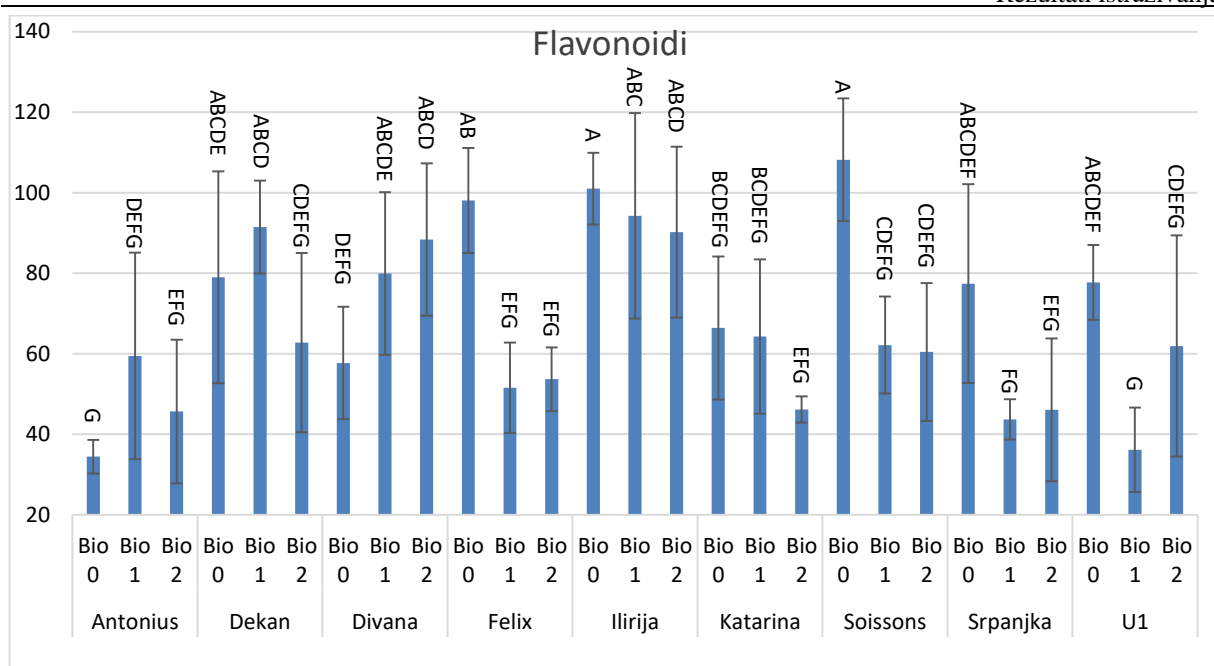


Grafikon 17. Utjecaj sorte i biofortifikacije Se i Zn na antioksidativnu aktivnost utvrđenu FRAP metodom (mmol FeSO₄/g sv.t.) u soku pšenične trave

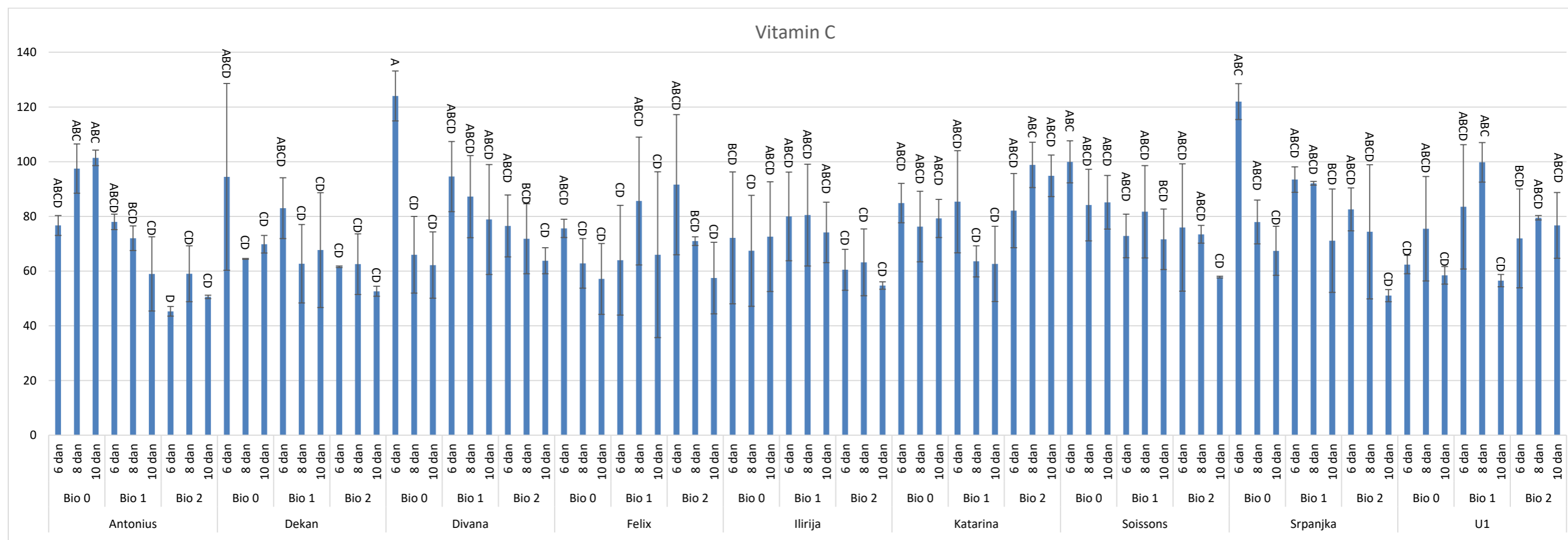


Grafikon 18. Utjecaj sorte i biofortifikacije Se i Zn na sadržaj fenola (µg GAE/100 mg sv.t.) u soku pšenične trave

Najniža vrijednost flavonoida je utvrđena u soku pšenične trave sorte Antonius bez biofortifikacije (34,44 µg QCE/100 mg sv.t.), a najviša je iznosila 108,19 µg QCE/100 mg sv.t. i utvrđena je u soku pšenične trave sorte Soissons bez biofortifikacije (Grafikon 19.).

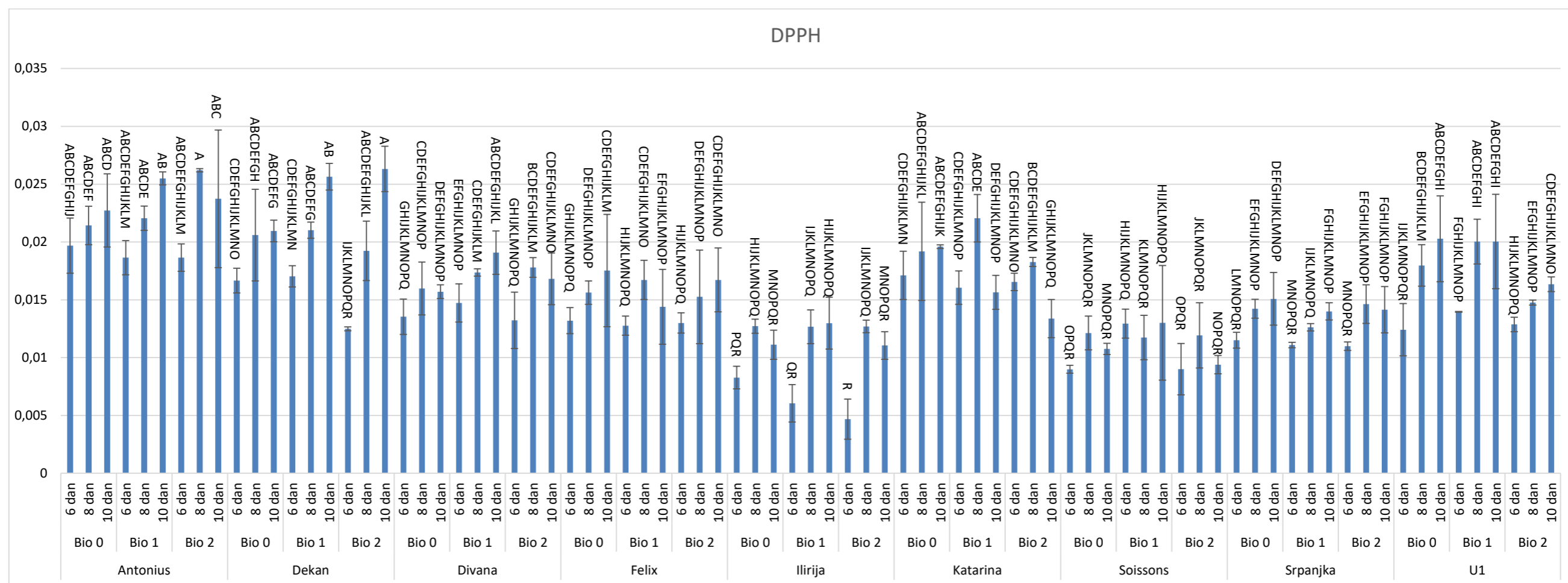


Grafikon 19. Utjecaj sorte i biofortifikacije Se i Zn na sadržaj flavonoida ($\mu\text{g QCE}/100 \text{ mg sv.t.}$) u soku pšenične trave



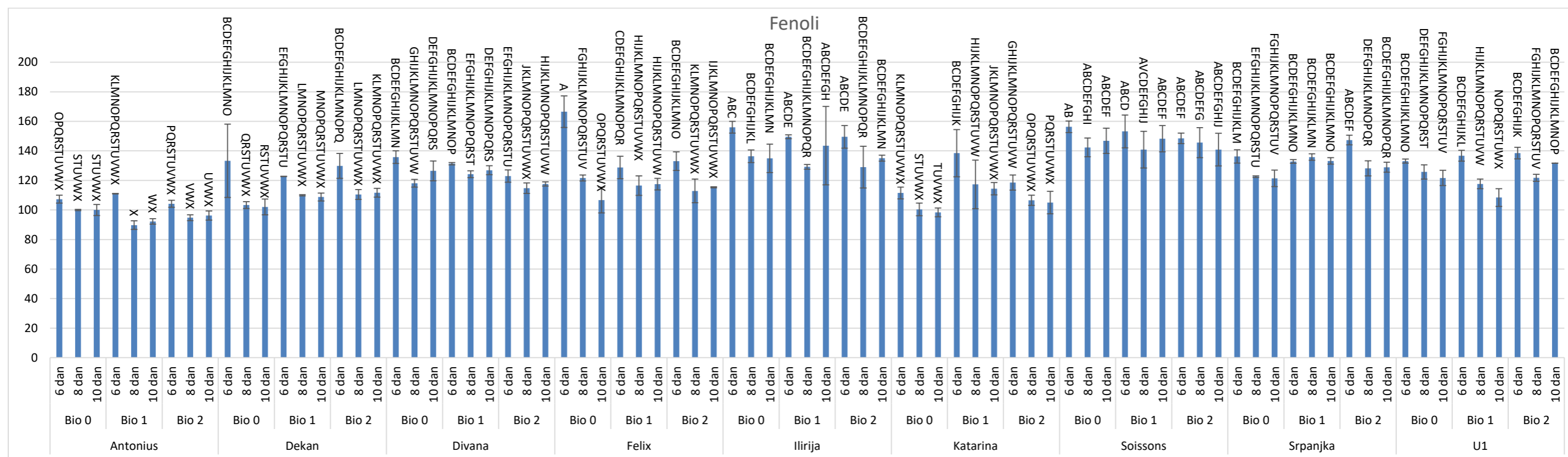
Grafikon 20. Utjecaj sorte, biofortifikacije Se i Zn i dan otkosa na sadržaj vitamina C (mg vit C/100 g sv.t.) u soku pšenične trave

Trosmjernom analizom varijance utvrđen je značajan učinak interakcije sorte, biofortifikacije Se i Zn i dana otkosa na sadržaj vitamina C u soku pšenične trave ($F=1,82$; $p=0,0087$). U soku pšenične trave sorte Divana na 6. dan otkosa kod biljaka koje nisu biofortificirane Se i Zn utvrđena je najveća vrijednost vitamina C (124,02 mg vit C/100 g sv.t.), a najniža vrijednost vitamina C je utvrđena u soku pšenične trave sorte Antonius na 6. dan otkosa kod biljaka koje su biofortificirane Se i Zn u fazi cvatnje i mliječne zriobe (45,28 mg vit C/100 g sv.t.) (Grafikon 20.).



Grafikon 21. Utjecaj sorte, biofortifikacije Se i Zn i dan otkosa na antioksidativnu aktivnost određenu DPPH metodom (IC 50 % u mg) u soku pšenične trave

Utvrđena je značajna interakcija sorte, dana otkosa i biofortifikacije Se i Zn na antioksidativnu aktivnost. Najviša vrijednost potrebne količine uzorka da bi se postigla 50 % inhibicija je utvrđena kod sorte Dekan, na 10. dan otkosa biofortificirane Se i Zn u fazi cvatnje i mliječne zriobe (0,026), najniža vrijednost potrebne količine uzorka za 50 % inhibicije je utvrđena kod sorte Ilirija, na 6. dan otkosa koja je biofortificirana Se i Zn u fazi cvatnje i mliječne zriobe (0,005) (Grafikon 21.).



Grafikon 22. Utjecaj sorte, biofortifikacije Se i Zn i dan otkosa na sadržaj fenola ($\mu\text{g GAE}/100 \text{ mg sv.t.}$) u soku pšenične trave

Trosmjernom analizom varijance utvrđen je značajan učinak interakcije sorte, biofortifikacije Se i Zn i dana otkosa na sadržaj fenola u soku pšenične trave ($F=2,36; p=0,0002$). Kod sorte Felix na 6. dan otkosa kod biljaka koje nisu biofortificirane Se i Zn utvrđena je najviša vrijednost sadržaja fenola u soku pšenične trave ($166,55 \mu\text{g GAE}/100 \text{ mg sv.t.}$), a najniža vrijednost fenola je utvrđena u soku pšenične trave sorte Antonius na 8. dan otkosa kod biljaka koje su biofortificirane Se i Zn u fazi cvatnje ($89,73 \mu\text{g GAE}/100 \text{ mg sv.t.}$) (Grafikon 22.).

5.3. Pregled rezultata 9 sorti pšenične trave uzgajane u različitim okolišnim uvjetima**5.3.1. Utjecaj promijenjenih vodnih uvjeta na sadržaj bioloških komponenti u soku pšenične trave)**

Utvrđen je značajan učinak sorte na sadržaj klorofila a, klorofila b, ukupnih klorofila i karotenoida. Sorta Ilirija je imala najviši sadržaj klorofila a, ukupnih klorofila i karotenoida, a kod Srpanjke je utvrđen najviši sadržaj klorofila b. Najmanje klorofila a imala je sorta Katarina, a najniže vrijednosti sadržaja klorofila b, ukupnih klorofila i karotenoida su utvrđene kod sorte U1 (Tablica 17.).

Tablica 17. Utjecaj sorte na sadržaj kloroplastnih pigmenata (mg/mL), omjer klorofila a i b (kl a/kl b) i omjer ukupnih klorofila i karotenoida (kl/kar) u soku pšenične trave

SORTA	Klorofil a	Klorofil b	Klorofil a+b	Karotenoidi	Kla/Klb	Kl/Kar
Antonius	0,558 ± 0,101	0,178 ± 0,030	0,721 ± 0,119	0,164 ± 0,025	3,331 ± 0,265	4,356 ± 0,333
Dekan	0,587 ± 0,043	0,177 ± 0,015	0,768 ± 0,055	0,174 ± 0,013	3,185 ± 0,231	4,640 ± 0,750
Divana	0,546 ± 0,095	0,174 ± 0,034	0,728 ± 0,139	0,166 ± 0,026	3,280 ± 0,055	4,264 ± 0,194
Felix	0,627 ± 0,072	0,196 ± 0,017	0,820 ± 0,095	0,193 ± 0,019	3,005 ± 0,638	4,643 ± 0,906
Ilirija	0,712 ± 0,138	0,217 ± 0,040	0,928 ± 0,182	0,220 ± 0,036	3,264 ± 0,146	4,403 ± 0,516
Katarina	0,509 ± 0,076	0,161 ± 0,022	0,670 ± 0,098	0,159 ± 0,019	3,085 ± 0,273	4,529 ± 0,519
Soissons	0,675 ± 0,050	0,198 ± 0,016	0,865 ± 0,059	0,198 ± 0,018	3,219 ± 0,351	4,638 ± 1,020
Srpanjka	0,693 ± 0,076	0,219 ± 0,025	0,912 ± 0,103	0,208 ± 0,020	3,097 ± 0,288	4,716 ± 0,948
U1	0,513 ± 0,105	0,154 ± 0,027	0,667 ± 0,136	0,155 ± 0,033	3,238 ± 0,276	4,560 ± 0,651
MSD	0,134	0,0399	0,1752	0,0367	0,482	1,0623
F	123,84	41,2	104,42	71,69	1,31	0,57
p	≤0,0001	≤0,0001	≤0,0001	≤0,0001	0,2536	0,7971

Biofortifikacije Se i Zn značajno je utjecala na promjenu sadržaja karotenoida u soku pšenične trave. HSD testom na razini značajnosti od 99 % utvrđeno je da u soku pšenične trave koja je uzgojena iz biofortificiranog zrna Se i Zn u fazi cvatnje i zriobe bio značajno viši sadržaj karotenoida od sadržaja u soku pšenične trave čije zrno nije biofortificirano (Tablica 18.).

Tablica 18. Utjecaj biofortifikacije Se i Zn na sadržaj kloroplastnih pigmenata (mg/mL) omjer klorofila a i b (kl a/kl b) i omjer ukupnih klorofila i karotenoida (kl/kar) u soku pšenične trave

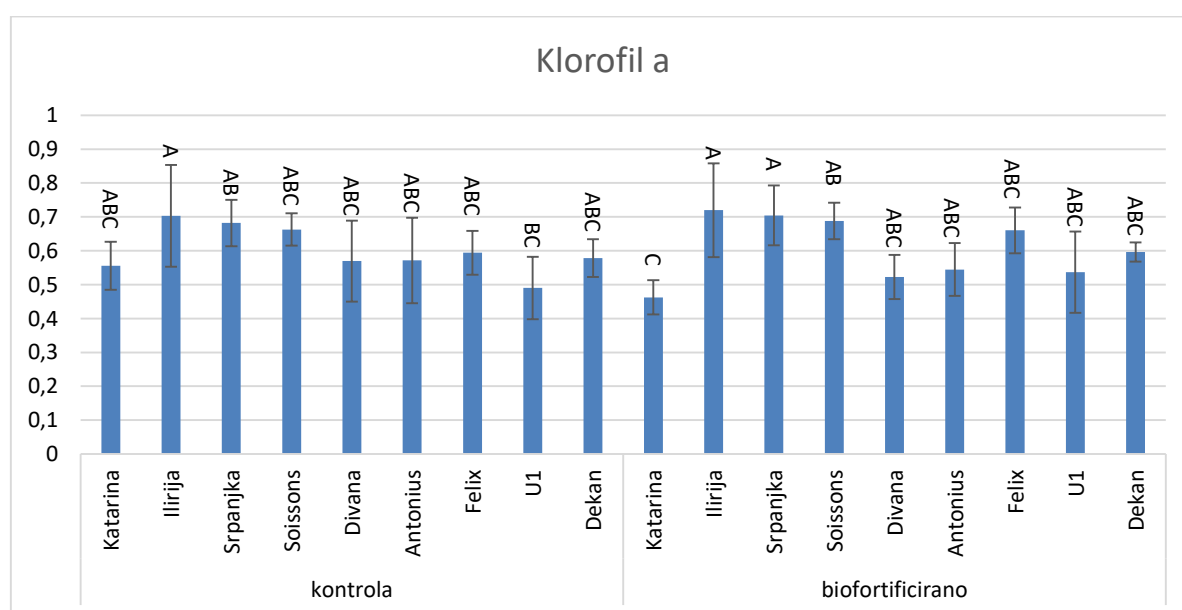
TRETMAN	Klorofil a	Klorofil b	Klorofil a+b	Karotenoidi	Kla/Klb	Kl/Kar
biofortificirano	0,604 ± 0,117	0,188 ± 0,032	0,793 ± 0,152	0,185 ± 0,035	3,173 ± 0,319	4,573 ± 0,844
kontrola	0,601 ± 0,109	0,184 ± 0,035	0,780 ± 0,140	0,179 ± 0,029	3,205 ± 0,328	4,482 ± 0,496
MSD	0,057	0,0169	0,0738	0,0163	0,1633	0,3494
F	0,41	2,01	3,83	8,36	0,27	0,46
p	0,5236	0,1611	0,0543	0,0051	0,6051	0,5016

Sadržaj kloroplastnih pigmenata (klorofil a, klorofil b, ukupni klorofili, karotenoidi) bio je značajno veći u soku pšenične trave koji se iscijedio iz pšenične trave koja je zalijevana svaki drugi dan dH₂O, nego u soku koji je iscijeđen iz mladih izdanaka pšenice koje su zalijevane svaki dan. Također, omjer ukupnih klorofila i karotenoida bio je veći kod soka koji je pripremljen iz pšenične trave zalijevane svaki drugi dan, dok na omjer klorofila a i klorofila b u soku, zalijevanje vodom različitom učestalošću nije imalo učinak (Tablica 19.).

Tablica 19. Utjecaj različitih vodnih uvjeta (V1, zalijevano sa 150 mL vode svaka 24 h; V2, zalijevano sa 150 mL vode svakih 48 h) na sadržaj kloroplastnih pigmenata (mg/mL), omjer klorofila a i b (kl a/kl b) i omjer ukupnih klorofila i karotenoida (kl/kar) u soku pšenične trave

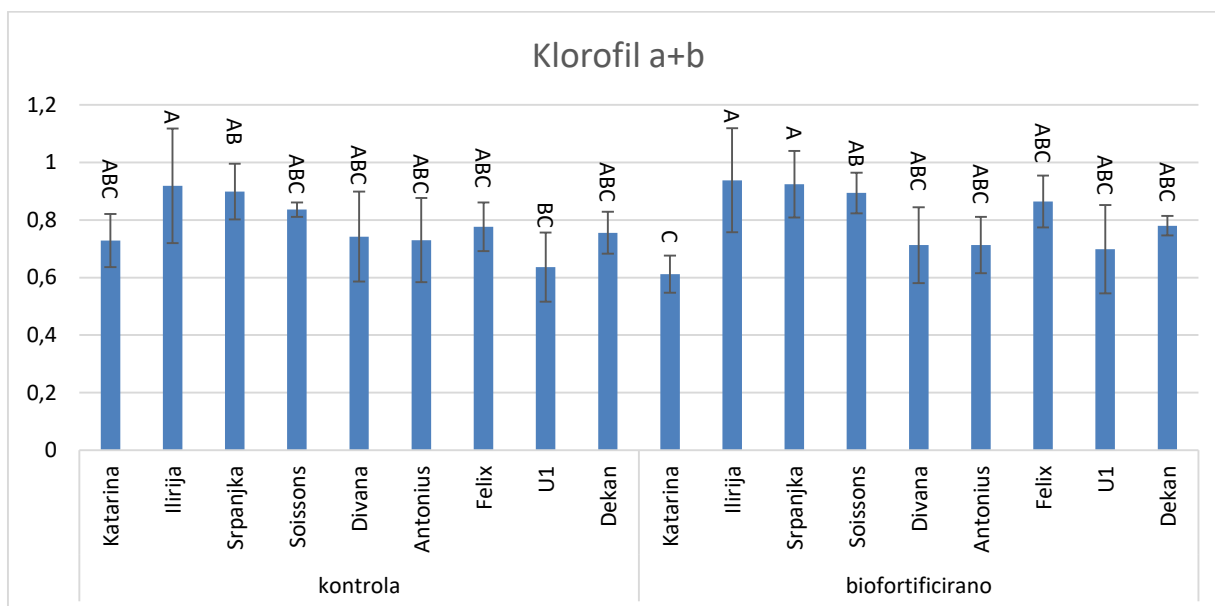
TRETMAN	Klorofil a	Klorofil b	Klorofil a+b	Karotenoidi	Kla/Klb	Kl/Kar
V1	0,531 ± 0,080	0,167 ± 0,026	0,695 ± 0,105	0,165 ± 0,027	3,261 ± 0,158	4,290 ± 0,184
V2	0,673 ± 0,094	0,205 ± 0,029	0,878 ± 0,122	0,199 ± 0,028	3,117 ± 0,417	4,765 ± 0,902
MSD	0,0169	0,014	0,0575	0,0138	0,1594	0,3287
F	929,95	245,43	793,22	342,74	5,37	12,3
p	≤0,0001	≤0,0001	≤0,0001	≤0,0001	0,0234	0,0008

Dvosmjernom analizom varijance utvrđen je značajan učinak interakcije sorte i biofortifikacije Se i Zn na sadržaj klorofila a u soku pšenične trave (F=12,74; p≤0,0001). Vrijednosti sadržaja klorofila a su se kretale od 0,462 mg/mL soka (sorta Katarina, biofortificirana Se i Zn) do 0,720 mg/mL soka (sorta Ilirija, biofortificirana Se i Zn) (Grafikon 23.).

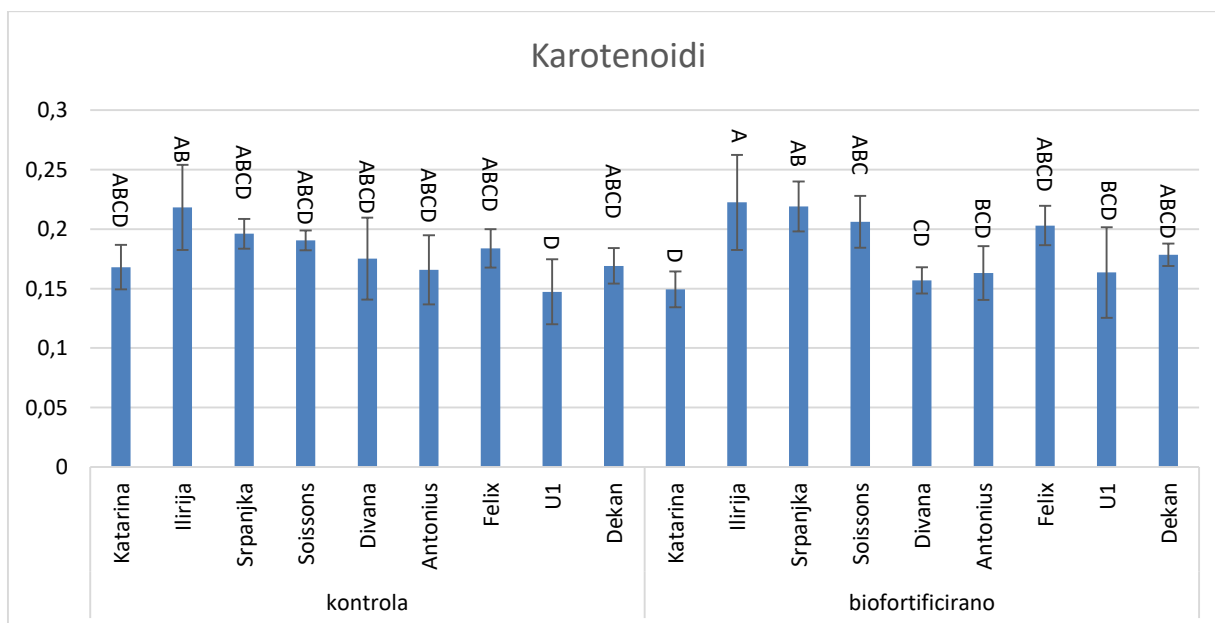


Grafikon 23. Utjecaj sorte i biofortifikacije Se i Zn na sadržaj klorofila a (mg/mL) u soku pšenične trave

Dvosmjernom analizom varijance ispitan je učinak interakcije sorte i biofortifikacije Se i Zn na sadržaj ukupnih klorofila ($F=9,92$; $p \leq 0,0001$) (Grafikon 24.) i karotenoida ($F=7,9$; $p \leq 0,0001$) (Grafikon 25.) u soku pšenične trave. Sorta Ilirija, biofortificirana Se i Zn imala je najviši sadržaj ukupnih klorofila (0,938 mg/mL soka) i karotenoida (0,223 mg/mL soka). Najniža vrijednost ukupnih klorofila je utvrđena kod sorte Katarina, biofortificirane Se i Zn (0,612 mg/mL soka) (Grafikon 24.), a najniža vrijednost karotenoida utvrđena je kod sorte U1, koja nije biofortificirana Se i Zn (0,147 mg/mL soka) (Grafikon 25.).

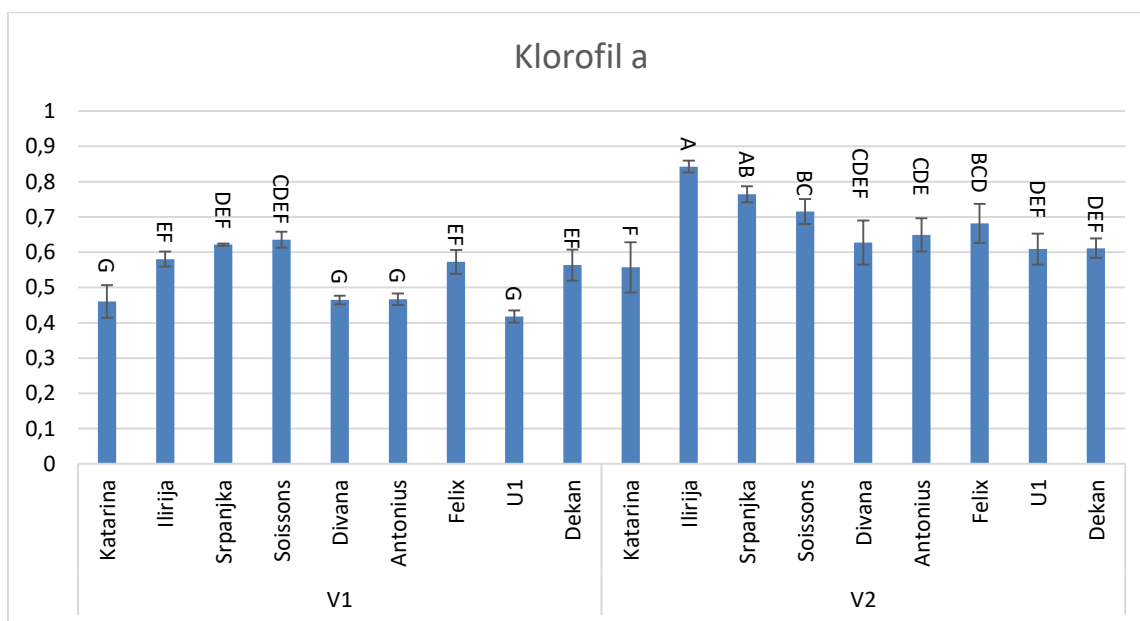


Grafikon 24. Utjecaj sorte i biofortifikacije Se i Zn na sadržaj ukupnih klorofila (mg/mL) u soku pšenične trave

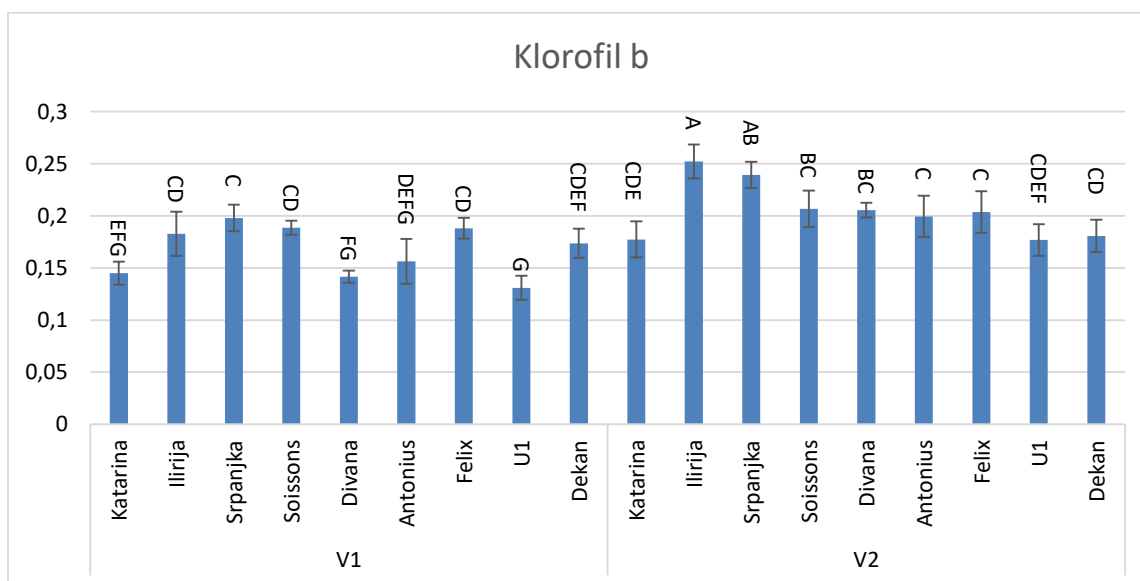


Grafikon 25. Utjecaj sorte i biofortifikacije Se i Zn na sadržaj karotenoida (mg/mL) u soku pšenične trave

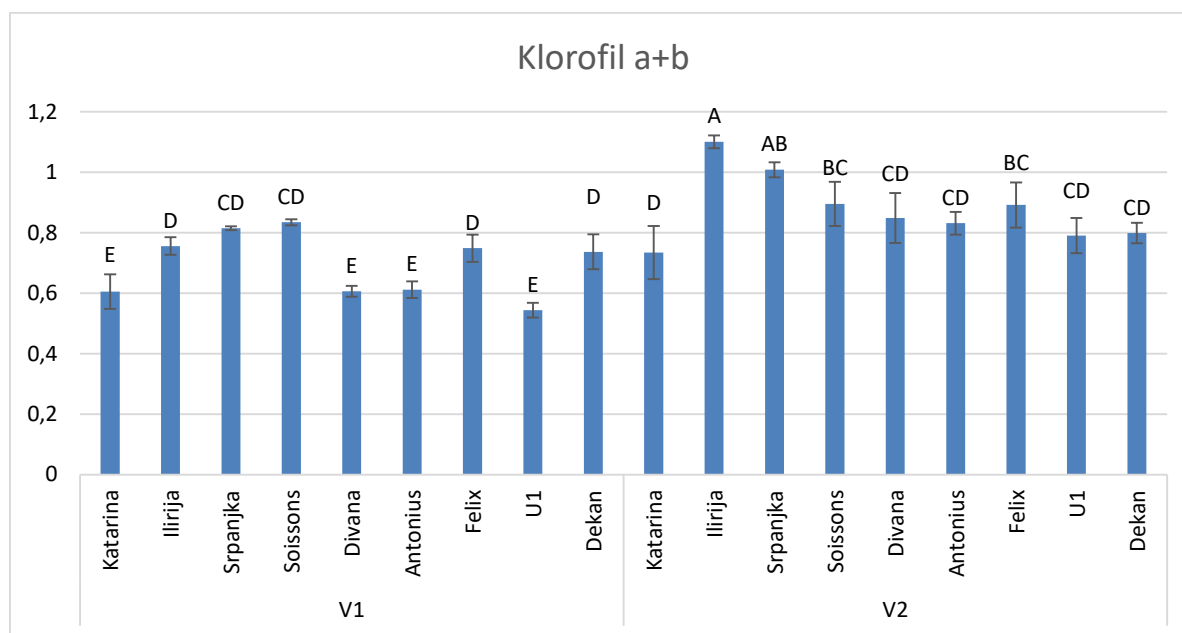
Utvrđena je značajna interakcija sorte i zalijevanja vodom na sadržaj klorofila a ($F=22,39$; $p\leq 0,0001$) (Grafikon 26.), klorofila b ($F=8,86$; $p\leq 0,0001$) (Grafikon 27.), ukupnih klorofila ($F=22,99$; $p\leq 0,0001$) (Grafikon 28.) i karotenoida ($F=12,89$; $p\leq 0,0001$) (Grafikon 29.) u soku pšenične trave. U soku pšenične trave sorte Ilirija koja je zalijevana svaki drugi dan destiliranom vodom utvrđene su najviše vrijednosti za sadržaj klorofila a (0,843 mg/mL soka), klorofila b (0,252 mg/mL soka), ukupnih klorofila (1,101 mg/mL soka) i karotenoida (0,254 mg/mL soka). Najmanje klorofila a (0,418 mg/mL soka), klorofila b (0,131 mg/mL soka), ukupnih klorofila (0,544 mg/mL soka) i karotenoida (0,126 mg/mL soka) imala je sorta U1 zalijevana svaki dan.



Grafikon 26. Utjecaj sorte i količine pristupačne vode (V1, zalijevano sa 150 mL vode svaka 24 h; V2, zalijevano sa 150 mL vode svakih 48 h) na sadržaj klorofila a (mg/mL) u soku pšenične trave

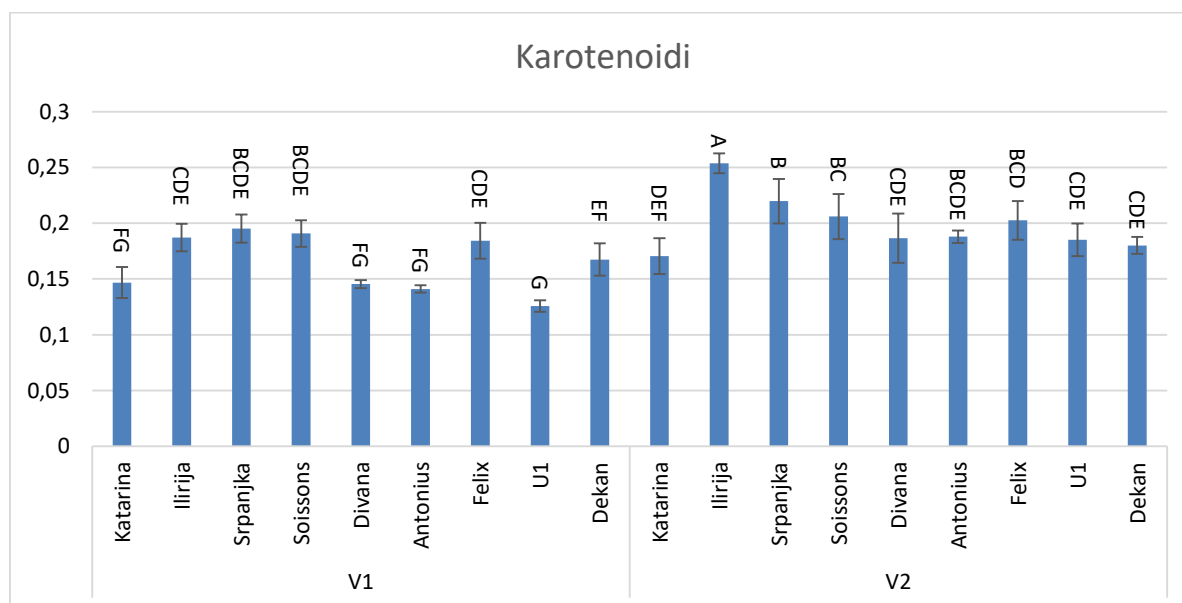


Grafikon 27. Utjecaj sorte i količine pristupačne vode (V1, zalijevano sa 150 mL vode svaka 24 h; V2, zalijevano sa 150 mL vode svakih 48 h) na sadržaj klorofila b (mg/mL) u soku pšenične trave



Grafikon 28. Utjecaj sorte i količine pristupačne vode (V1, zalijevano sa 150 mL vode svaka 24 h; V2, zalijevano sa 150 mL vode svakih 48 h) na sadržaj ukupnih klorofila (mg/mL) u soku pšenične trave

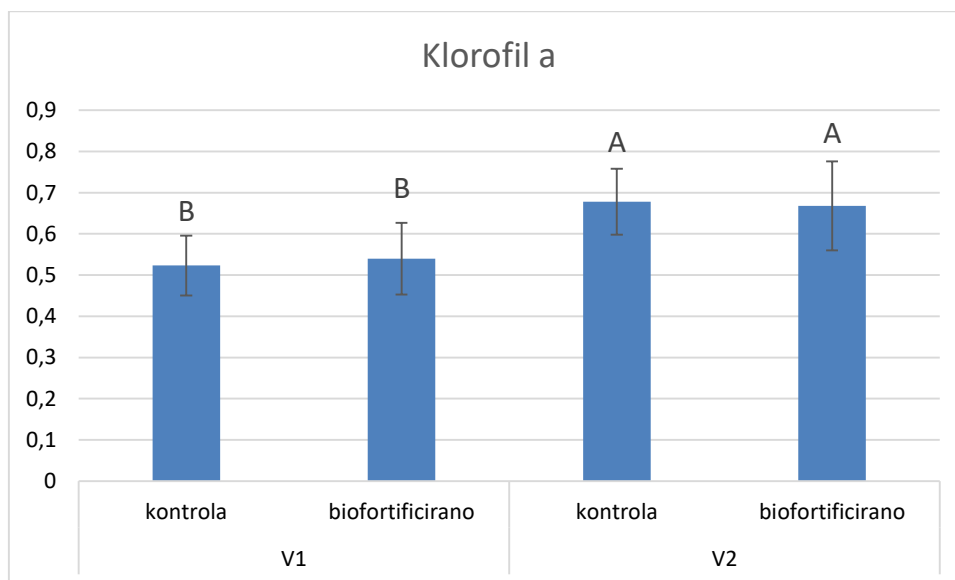
Dvosmjernom analizom varijance utvrđen je značajan učinak interakcije biofortifikacije Se i Zn i količine pristupačne vode tijekom uzgoja na sadržaj klorofila a u soku pšenične trave ($F=8,18$; $p=0,0055$) (Grafikon 30.).



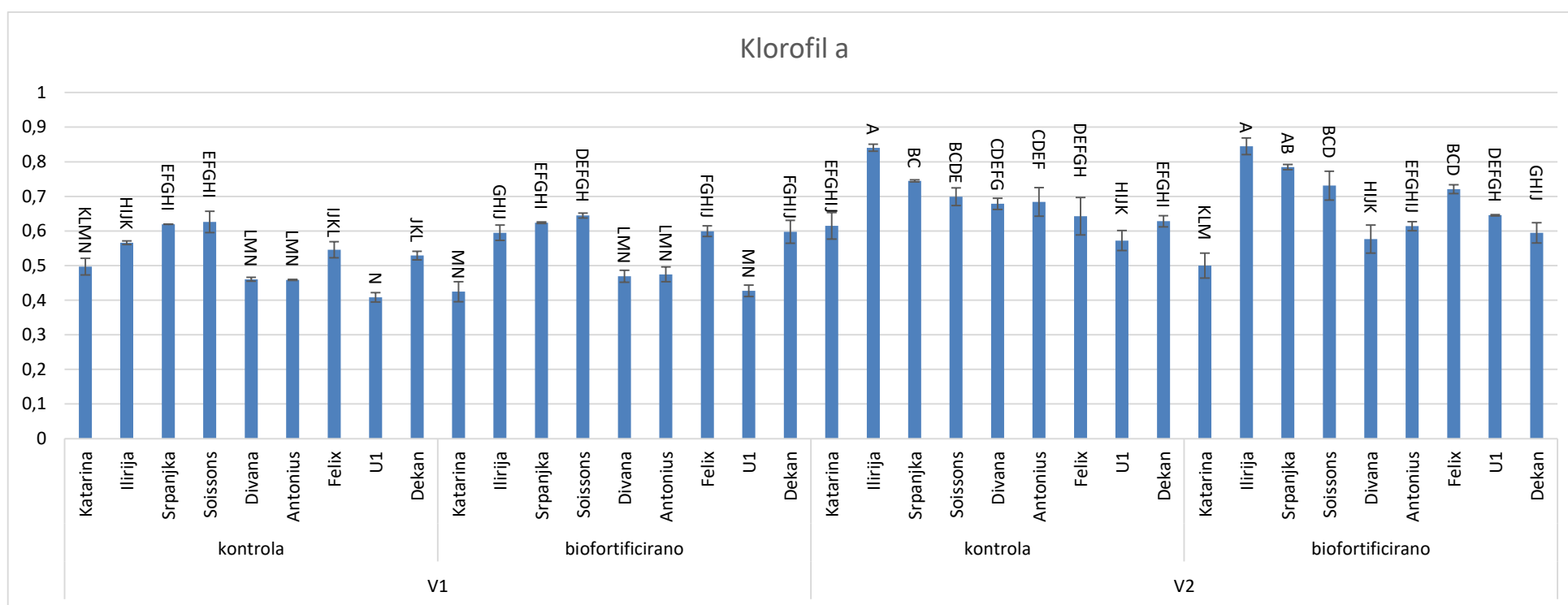
Grafikon 29. Utjecaj sorte i količine pristupačne vode (V1, zalijevano sa 150 mL vode svaka 24 h; V2, zalijevano sa 150 mL vode svakih 48 h) na sadržaj karotenoida (mg/mL) u soku pšenične trave

Najviša vrijednost klorofila a je iznosila 0,678 mg/mL soka kod biljaka koje nisu biofortificirane Se i Zn, a pri uzgoju su zalijevane svakih 48 sati, no nije se značajno razlikovala

od vrijednosti klorofila a u soku pšenične trave koji je iscijeđen iz biljaka koje su pri uzgoju zalijevane svakih 48 sati i biofortificirane Se i Zn (0,668 mg/mL). Najniža vrijednost klorofila a (0,523 mg/mL) utvrđena je kod biljaka koje su uzgajane u kontrolnim uvjetima bez biofortifikacije Se i Zn, ali se nije značajno razlikovala od onih koje su biofortificirane Se i Zn (0,540 mg/mL) (Grafikon 30.).

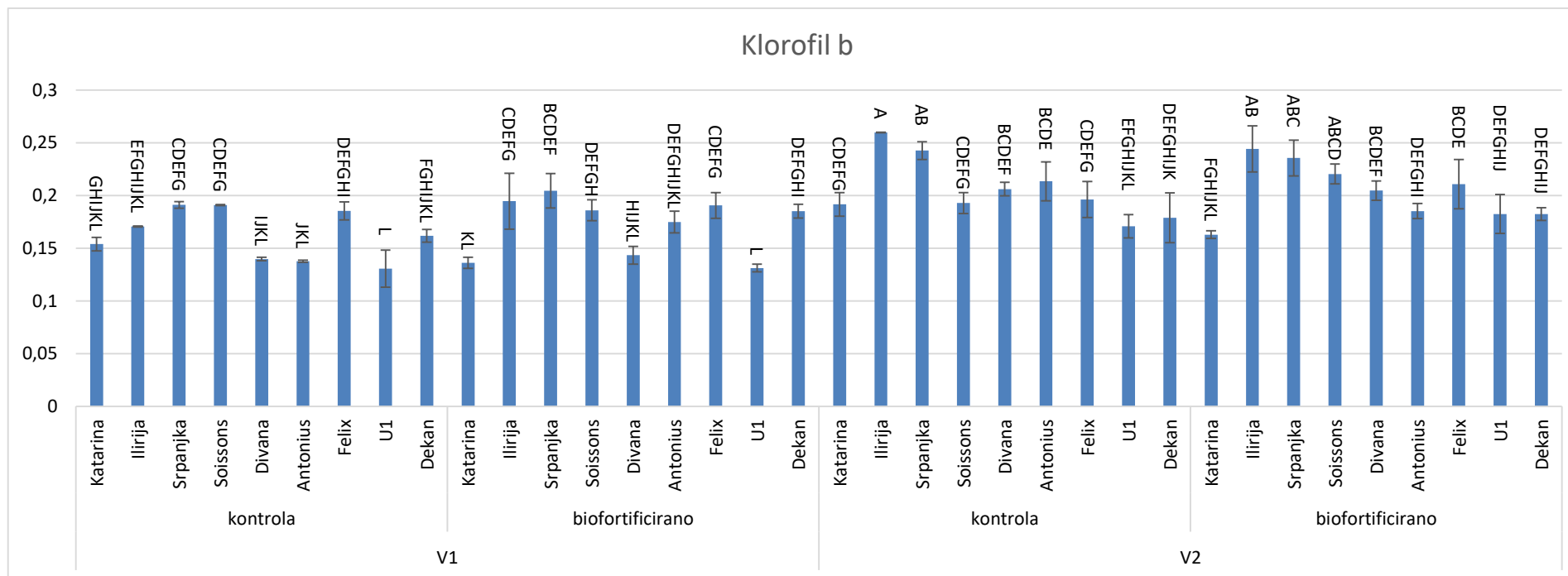


Grafikon 30. Utjecaj biofortifikacije Se i Zn i količine pristupačne vode (V1, zalijevano sa 150 mL vode svaka 24 h; V2, zalijevano sa 150 mL vode svakih 48 h) na sadržaj klorofila a (mg/mL) u soku pšenične trave



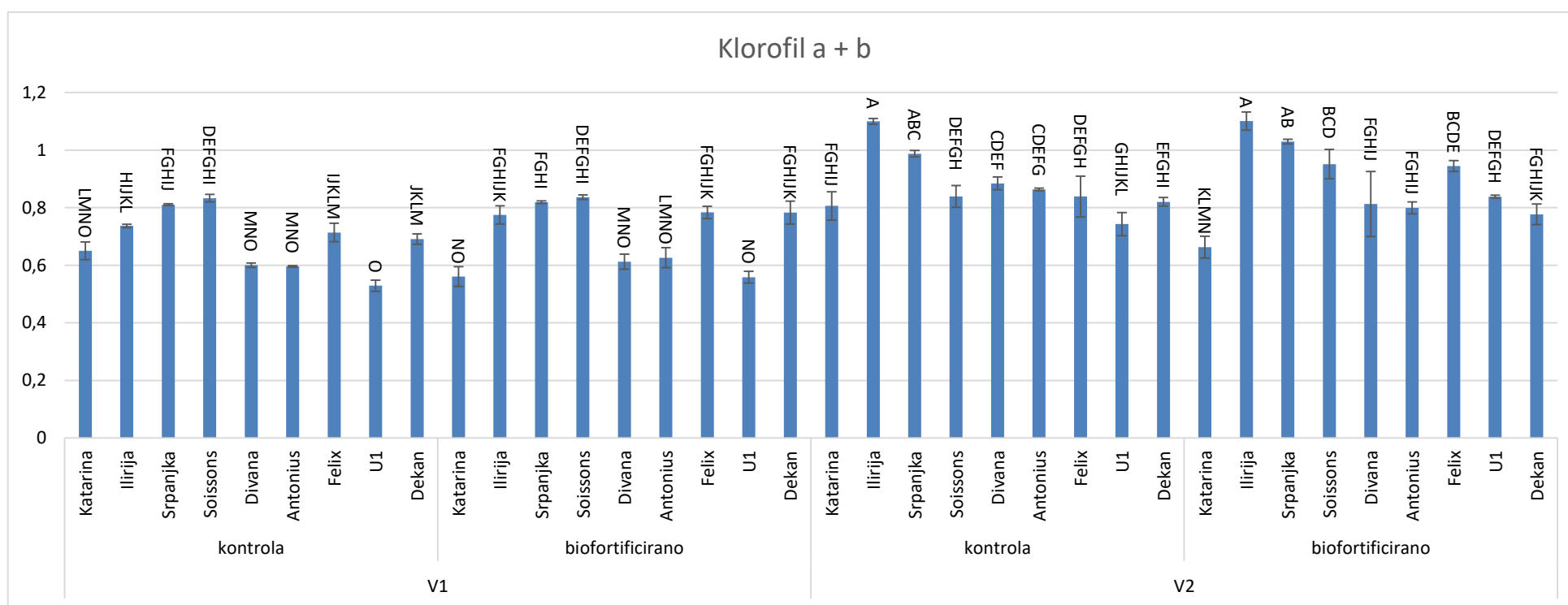
Grafikon 31. Utjecaj sorte, biofortifikacije Se i Zn i količine pristupačne vode (V1, zalijeivano sa 150 mL vode svaka 24 h; V2, zalijeivano sa 150 mL vode svakih 48 h) uzgoja na sadržaj klorofila a u soku pšenične trave

Trosmjernom analizom varijance utvrđen je značajan učinak interakcije sorte, biofortifikacije Se i Zn te količina pristupačne vode na sadržaj klorofila a ($F=4,99$; $p \leq 0,0001$) (Grafikon 31.), klorofila b ($F=4,12$; $p=0,0004$) (Grafikon 32.), ukupnih klorofila ($F=4,5$; $p=0,0002$) (Grafikon 33.) i karotenoida ($F=5,11$; $p \leq 0,0001$) (Grafikon 34.) u soku pšenične trave. Najviša vrijednost sadržaja klorofila utvrđena je u soku sorte Ilirija, biofortificirane Se i Zn uzgajane pod tretmanom V2 i iznosila je 0,845 mg/mL soka. Najniža vrijednost sadržaja klorofila a (0,408 mg/mL soka) utvrđena je kod sorte U1 koja nije biofortificirana Se i Zn i koja je uzgajana u kontrolnim uvjetima, odnosno pri tretmanu V1 (Grafikon 31.).



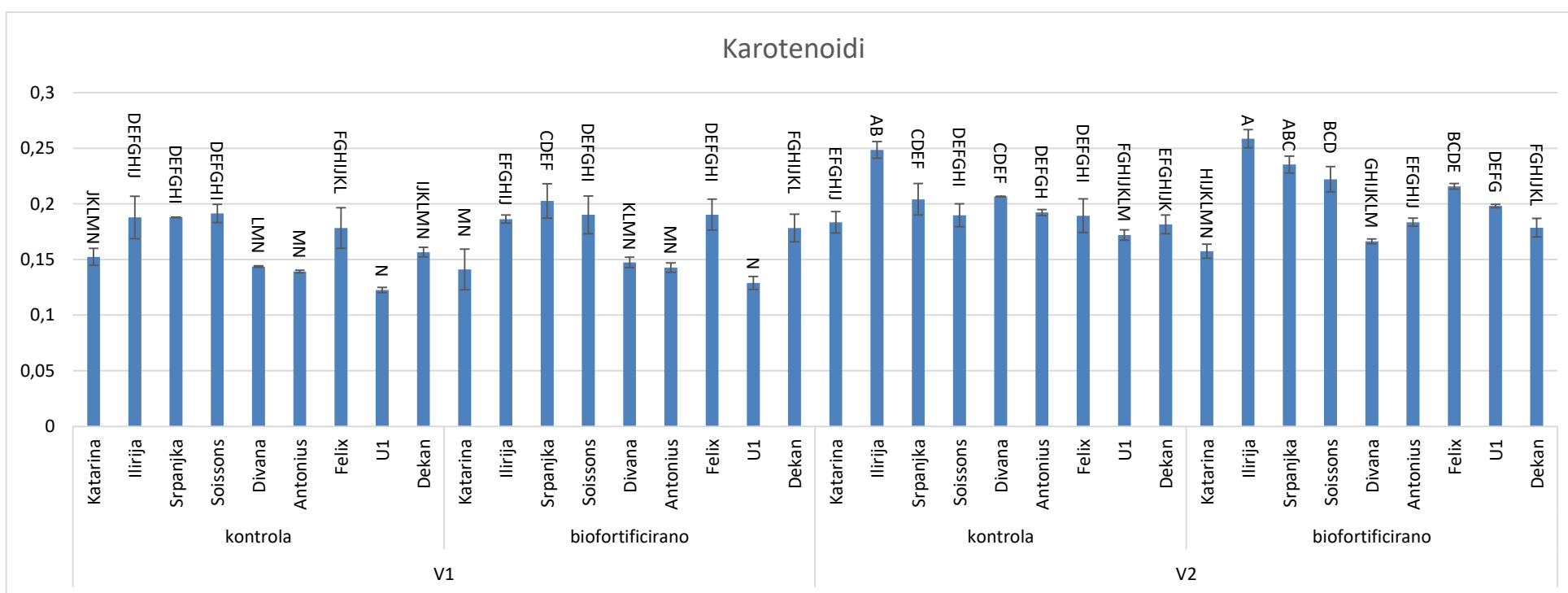
Grafikon 32. Utjecaj sorte, biofortifikacije Se i Zn i količine pristupačne vode (V1, zalijevano sa 150 mL vode svaka 24 h; V2, zalijevano sa 150 mL vode svakih 48 h) uzgoja na sadržaj klorofila b (mg/mL) u soku pšenične trave

Najveći sadržaj klorofila b utvrđen je u soku pšenične trave sorte Ilirija, koja je pri uzgoju zalijevana svakih 48 sati i nije biofortificirana Se i Zn (0,260 mg/mL soka). Najmanji sadržaj klorofila b (0,131 mg/mL soka) je utvrđen kod sorte U1, koja nije biofortificirana i koja je pri uzgoju zalijevana svaka 24 sata (Grafikon 32.).



Grafikon 33. Utjecaj sorte, biofortifikacije Se i Zn i količine pristupačne vode (V1, zalijevano sa 150 mL vode svaka 24 h; V2, zalijevano sa 150 mL vode svakih 48 h) uzgoja na sadržaj ukupnih klorofila (mg/mL) u soku pšenične trave

Sok pšenične trave sorte U1 koja je pri uzgoju zalijevana svaka 24 sata i bez biofortifikacije imao je najmanji sadržaj ukupnih klorofila (0,529 mg/mL) i karotenoida (0,123 mg/mL). Najviše ukupnih klorofila (1,101 mg/mL) i karotenoida (0,259 mg/mL) sadržavao je sok pšenične trave, sorte Ilirija uzgajane u uvjetima tretmana V2 i koja je biofortificirana Se i Zn.



Grafikon 34. Utjecaj sorte, biofortifikacije Se i Zn i količine pristupačne vode (V1, zalijevano sa 150 mL vode svaka 24 h; V2, zalijevano sa 150 mL vode svakih 48 h) uzgoja na sadržaj karotenoida (mg/mL) u soku pšenične trave

Aritmetičke sredine antioksidanata i antioksidativnih aktivnosti odnosno antioksidativnih svojstava ispitivanih sorata pšenične trave uspoređene su Tukeyevim HSD testom na razini značajnosti od 99 %. Utvrđeno je postojanje statistički značajnih razlika između sorata pšenice na antioksidativnu aktivnost (DPPH, FRAP, ORAC) i sadržaj vitamina C (Tablica 20.). Volumen čistog soka pšenične trave koji je potreban za 50 % inhibicije (μL soka pšenične trave pri 50 % IC) koji je utvrđen metodom DPPH, kretao se od 14,96 (Ilirija) do 31,69 (Antonius). Metodom FRAP dobivene vrijednosti su se kretale od 0,049 mmol FeSO_4/mL soka pšenične trave (Antonius) do 0,077 mmol FeSO_4/mL soka pšenične trave (Ilirija). Kapacitet kelatiranja Fe iona se kretao od 6,169 mmol EDTA Na/L soka pšenične trave (Dekan) do 6,484 mmol EDTA Na/L soka pšenične trave (Katarina), ali između ovih vrijednosti nisu utvrđene statistički značajne razlike. U soku pšenične trave sorte Katarina utvrđena je najviša vrijednost od 208,53 mmol Trolox/1 mL soka, najniža vrijednost je utvrđena kod sorte Antonius. Vrijednosti sadržaja vitamina C su se kretale od 422,15 $\mu\text{g}/\text{mL}$ soka pšenične trave (Felix) do 523,27 $\mu\text{g}/\text{mL}$ soka pšenične trave (U1) (Tablica 20.).

Tablica 20. Utjecaj sorte na antioksidativnu aktivnost utvrđenu metodom DPPH (μL soka pri IC 50), FRAP (mmol FeSO_4/mL soka) i ORAC (mmol Trolox/mL soka), sposobnost kelatiranja Fe iona (mmol EDTA Na/L) i sadržaj vitamina C ($\mu\text{g}/\text{mL}$) u soku pšenične trave

SORTA	DPPH	FRAP	Kelatiranje	ORAC	Vitamin C
Antonius	31,69 \pm 3,64	0,049 \pm 0,011	6,405 \pm 0,316	124,75 \pm 26,39	455,84 \pm 55,26
Dekan	27,49 \pm 1,15	0,055 \pm 0,015	6,169 \pm 0,569	201,98 \pm 52,49	434,00 \pm 66,31
Divana	20,72 \pm 1,67	0,059 \pm 0,015	6,427 \pm 0,219	157,37 \pm 27,55	518,53 \pm 44,55
Felix	22,07 \pm 1,22	0,057 \pm 0,010	6,278 \pm 0,373	172,12 \pm 26,81	422,15 \pm 23,72
Ilirija	14,96 \pm 3,48	0,077 \pm 0,017	6,379 \pm 0,239	207,72 \pm 71,76	483,89 \pm 38,54
Katarina	24,88 \pm 1,38	0,050 \pm 0,011	6,484 \pm 0,283	208,53 \pm 26,13	455,66 \pm 26,61
Soissons	17,57 \pm 3,56	0,072 \pm 0,005	6,469 \pm 0,295	144,38 \pm 34,24	485,90 \pm 30,48
Srpanjka	20,68 \pm 5,01	0,064 \pm 0,013	6,425 \pm 0,262	148,44 \pm 42,61	481,03 \pm 25,47
U1	24,79 \pm 2,73	0,053 \pm 0,015	6,333 \pm 0,357	196,97 \pm 36,78	523,27 \pm 49,84
MSD	4,4618	0,0192	0,5126	62,011	64,328
F	45,96	44,05	1,06	38,54	31,82
p	$\leq 0,0001$	$\leq 0,0001$	0,4006	$\leq 0,0001$	$\leq 0,0001$

Jednosmjernom analizom varijance utvrđen je značajan učinak biofortifikacije Se i Zn na promjenu ORAC vrijednosti u soku pšenične trave. Na DPPH i FRAP vrijednosti, kelatiranje Fe iona i na sadržaj vitamina C, biofortifikacija Se i Zn nije imala značajan učinak (Tablica 21.). Promjena učestalosti zalijevanja značajno je utjecala na promjenu antioksidativne aktivnosti (FRAP, ORAC), kapacitet kelatiranja Fe iona i sadržaj vitamina C (Tablica 22.). HSD testom na razini značajnosti od 99 % utvrđeno je da kod pšenične trave koja je pri uzgoju

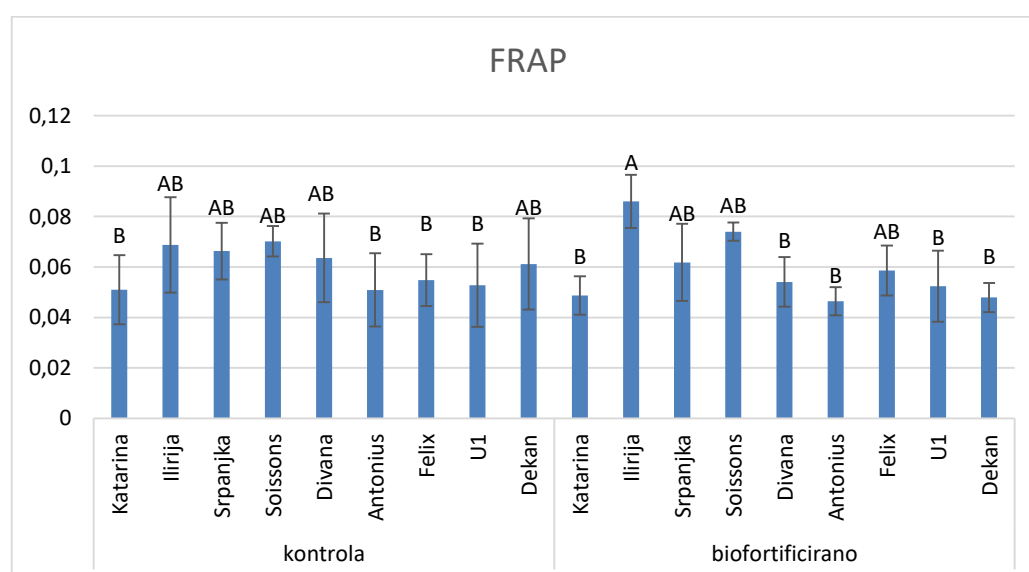
zalijevana svakih 48 sati, spomenuta mjerena svojstva u soku pšenične trave su bila značajno viša u odnosu na sok koji je iscijeđen iz biljaka koje su zalijevane svaka 24 sata s 150 mL dH₂O.

Tablica 21. Utjecaj biofortifikacije Se i Zn na antioksidativnu aktivnost utvrđenu metodom DPPH (μ L soka pri IC 50), FRAP (mmol FeSO₄/mL soka) i ORAC (mmol Trolox/mL soka) i sposobnost kelatiranja Fe iona (mmol EDTA Na/L) i sadržaj vitamina C (μ g/mL) u soku pšenične trave

TRETMAN	DPPH	FRAP	Kelatiranje	ORAC	Vitamin C
biofortificirano	22,65 \pm 5,69	0,059 \pm 0,016	6,367 \pm 0,334	156,23 \pm 43,97	464,65 \pm 57,92
kontrola	22,87 \pm 5,54	0,060 \pm 0,015	6,381 \pm 0,348	190,94 \pm 48,68	482,07 \pm 45,26
MSD	2,8364	0,0078	0,172	23,416	26,238
F	0,21	1,12	1,17	106,12	3,03
p	0,6497	0,2932	0,2835	\leq 0,0001	0,0845

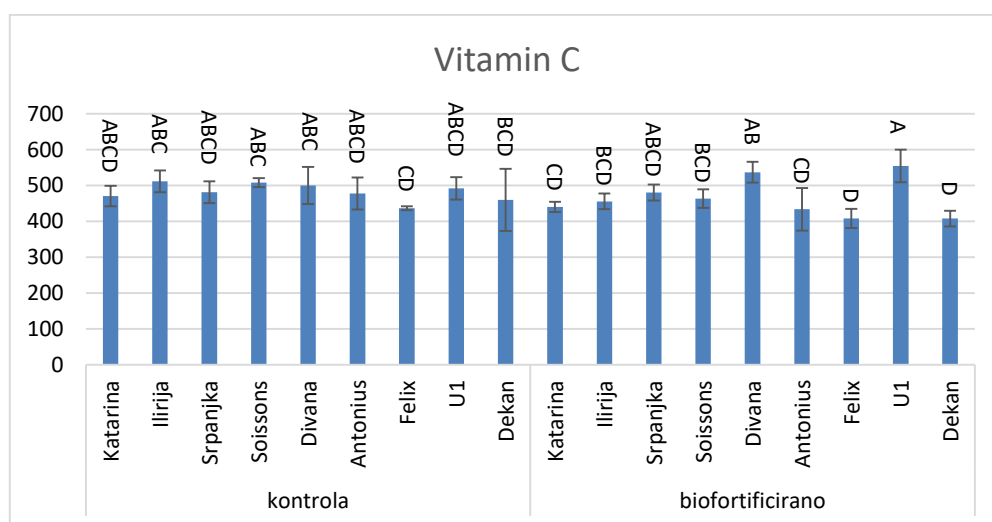
Tablica 22. Utjecaj različitih vodnih uvjeta uzgoja na antioksidativnu aktivnost utvrđenu metodom DPPH (μ L soka pri IC 50), FRAP (mmol FeSO₄/mL soka) i ORAC (mmol Trolox/mL soka), sposobnost kelatiranja Fe iona (mmol EDTA Na/L) i sadržaj vitamina C (μ g/mL) u soku pšenične trave

TRETMAN	DPPH	FRAP	Kelatiranje	ORAC	Vitamin C
V1	22,72 \pm 5,14	0,050 \pm 0,012	6,083 \pm 0,216	148,17 \pm 39,37	453,84 \pm 48,62
V2	22,80 \pm 6,06	0,069 \pm 0,012	6,665 \pm 0,114	199,00 \pm 45,29	492,88 \pm 49,17
MSD	2,8369	0,0061	0,0873	21,419	24,682
F	0,02	365,33	2010,25	227,6	90,46
p	0,8816	\leq 0,0001	\leq 0,0001	\leq 0,0001	\leq 0,0001

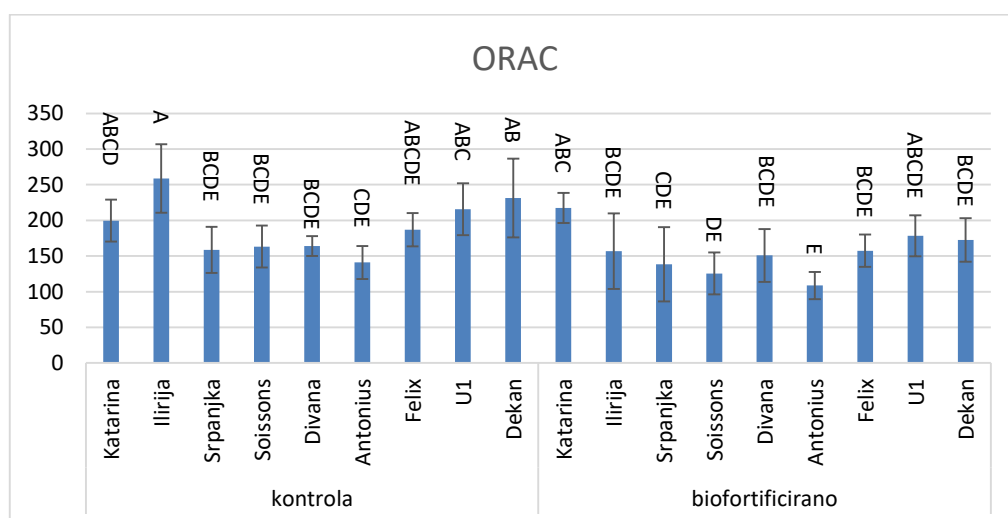


Grafikon 35. Utjecaj sorte i biofortifikacije Se i Zn na antioksidativnu aktivnost određenu metodom FRAP (mmol FeSO₄/mL) u soku pšenične trave

Utvrđena je značajna interakcija sorte i biofortifikacije na antioksidativnu aktivnost (FRAP) ($F=8,82$; $p\leq 0,0001$) (Grafikon 35.), (ORAC) ($F=10,49$; $p\leq 0,0001$) (Grafikon 37.) i sadržaj vitamina C ($F=11,65$; $p\leq 0,0001$) (Grafikon 36.). Za FRAP vrijednosti su se kretale od 0,046 mmol FeSO₄/mL soka pšenične trave (Antonius, biofortificiran Se i Zn) do 0,086 mmol FeSO₄/mL soka pšenične trave (Ilirija, biofortificirana Se i Zn) (Grafikon 35.). Najviša vrijednost sadržaja vitamina C utvrđena je u soku pšenične trave sorte U1 koja je biofortificirana Se i Zn (554,7 µg/mL soka), a najmanje vitamina C je imao sok pšenične trave sorte Felix, biofortificirane Se i Zn (407,84 µg/mL soka) (Grafikon 36.). ORAC vrijednosti su se kretale od 108,6 mmol Trolox/mL soka (Antonius, biofortificiran Se i Zn) do 258,69 mmol Trolox/mL soka (Ilirija, bez biofortifikacije) (Grafikon 37.).

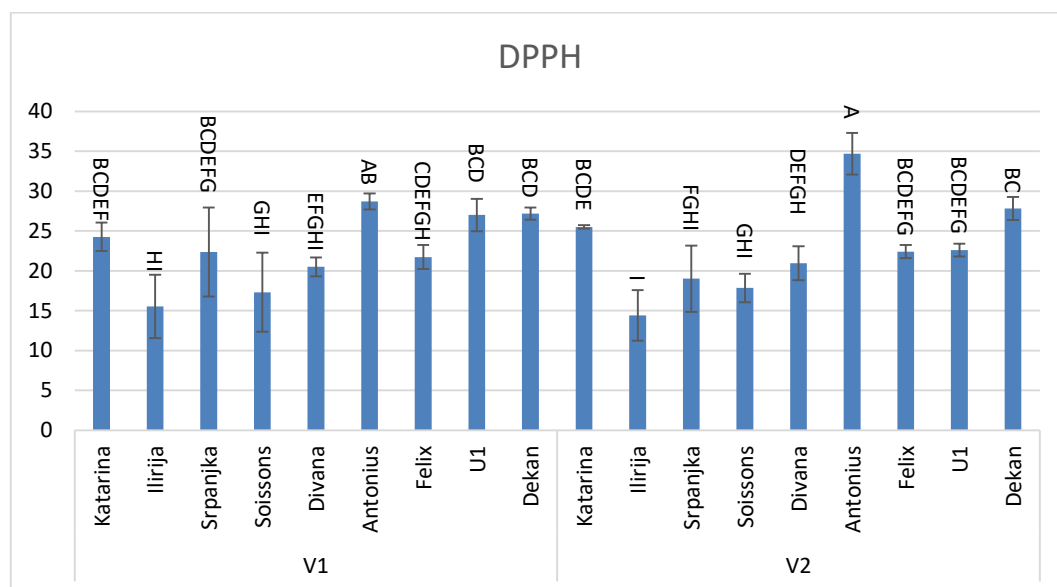


Grafikon 36. Utjecaj sorte i biofortifikacije Se i Zn na sadržaj vitamina C (µg/mL) u soku pšenične trave

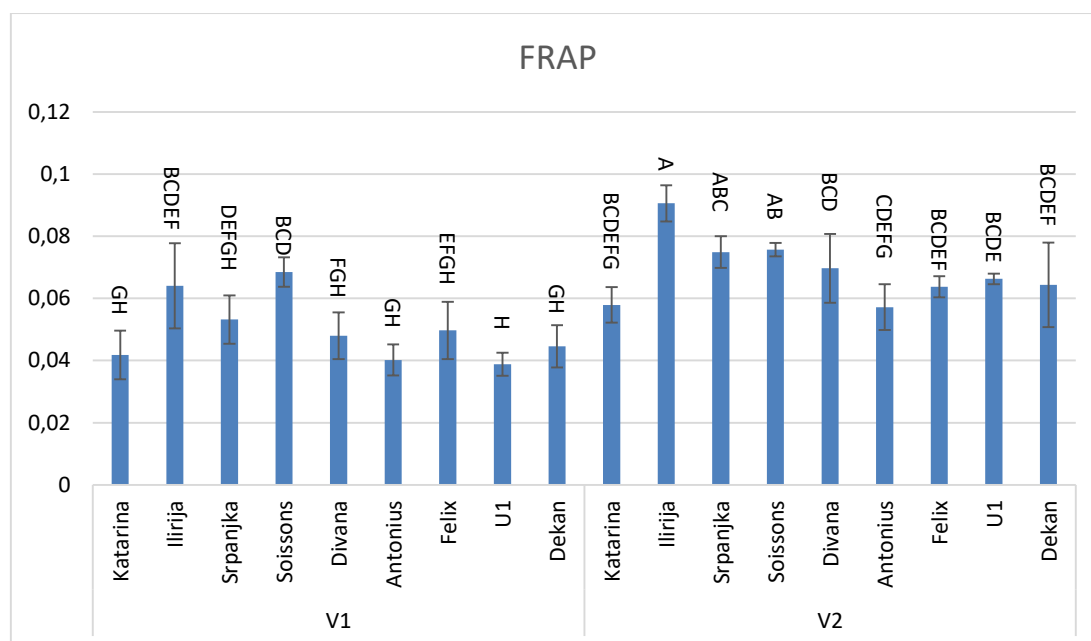


Grafikon 37. Utjecaj sorte i biofortifikacije Se i Zn na antioksidativnu aktivnost određenu ORAC metodom (mmol Trolox/mL) u soku pšenične trave

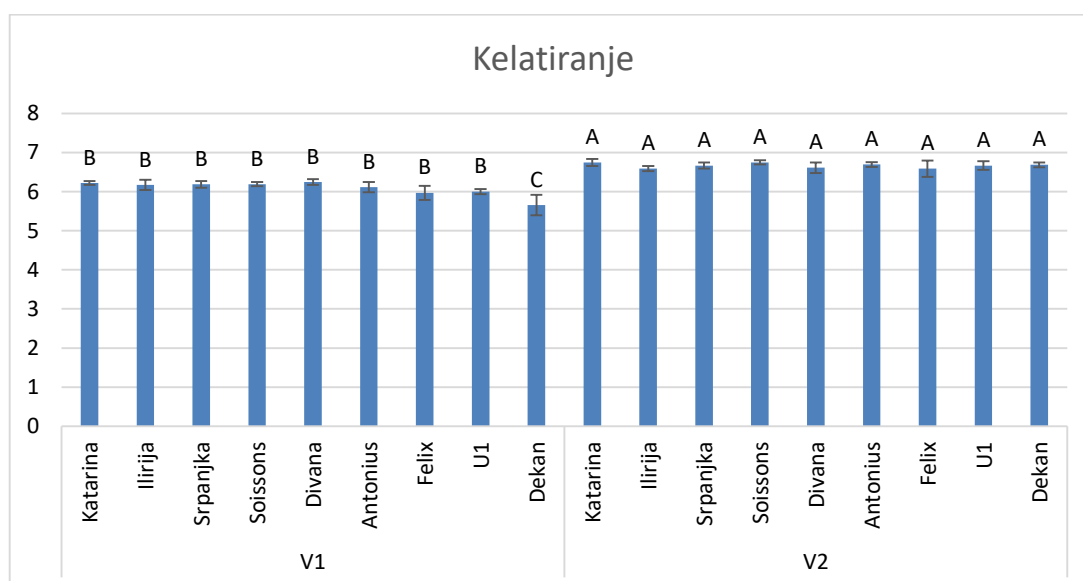
Dvosmjernom analizom varijance utvrđen je značajan utjecaj interakcije sorta i količina pristupačne vode na vrijednost DPPH ($F=3,19$; $p=0,0007$) (Grafikon 38.), FRAP ($F=4,51$; $p=0,0002$) (Grafikon 39.), kapacitet kelatiranja Fe iona ($F=24,64$; $p\leq 0,0001$) (Grafikon 40.) i sadržaj vitamina C ($F=7,86$; $p\leq 0,0001$) (Grafikon 41.) u soku pšenične trave. Vrijednosti utvrđene DPPH metodom su se kretale od 14,393 μL soka pšenične trave pri IC50 (Ilirija, V2) do 34,679 μL soka pšenične trave pri IC50 (Antonius, V2) (Grafikon 38.). HSD testom pri razini značajnosti od 99% utvrđeno je da pri tretmanu V2, u soku pšenične trave sorte Ilirija bila značajno najviša antioksidativna aktivnost utvrđena FRAP metodom (0,091 mmol FeSO_4/mL soka pšenične trave), dok je u soku sorte Ilirija koja je uzgajana pri tretmanu V2 utvrđena najniža vrijednost antioksidativne aktivnosti (0,039 mmol FeSO_4/mL soka pšenične trave) (Grafikon 39.). Najviša vrijednost kapaciteta kelatiranja Fe iona utvrđena je u soku pšenične trave, sorte Katarina pri tretmanu V2 (6,747 mmol EDTA Na/L soka pšenične trave), a u soku pšenične trave sorte Dekan, pri tretmanu V1, utvrđena je najniža vrijednost kapaciteta kelatiranja Fe iona (5,652 mmol EDTA Na/L soka pšenične trave) (Grafikon 40.). Najviša vrijednost sadržaja vitamina C utvrđena je u soku pšenične trave sorte U1 uzgajane pri tretmanu V2 (549,85 $\mu\text{g}/\text{mL}$ soka), a najniža vrijednost sadržaja vitamina C u soku pšenične trave je utvrđena kod sorte Dekan pri tretmanu V1 (389,3 $\mu\text{g}/\text{mL}$ soka) (Grafikon 41.).



Grafikon 38. Utjecaj sorte i količine pristupačne vode (V1, zalijevano sa 150 mL vode svaka 24 h; V2, zalijevano sa 150 mL vode svakih 48 h) tijekom uzgoja na antioksidativnu aktivnost određenu metodom DPPH (μL soka pšenične trave pri IC50) u soku pšenične trave

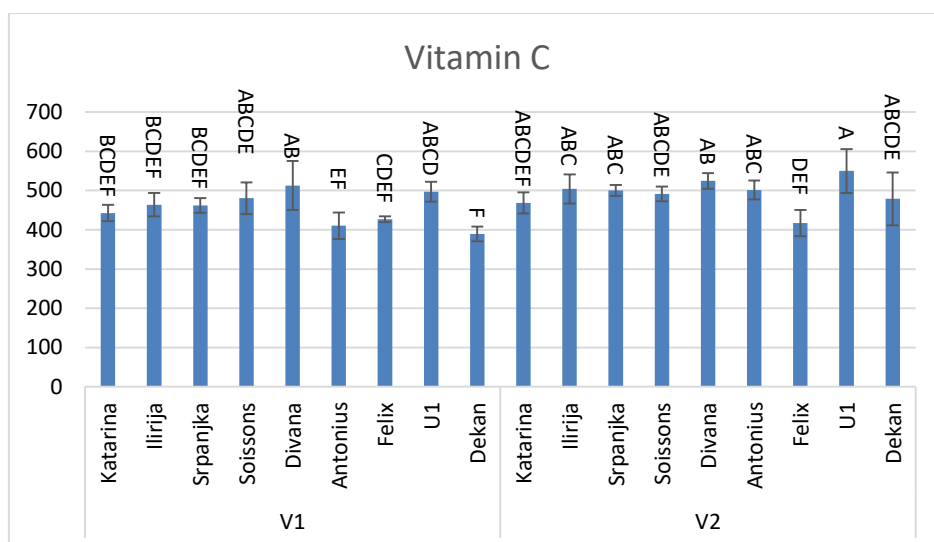


Grafikon 39. Utjecaj sorte i količine pristupačne vode (V1, zalijevano sa 150 mL vode svaka 24 h; V2, zalijevano sa 150 mL vode svakih 48 h) tijekom uzgoja na antioksidativnu aktivnost određenu metodom FRAP (mmol FeSO₄/mL) u soku pšenične trave



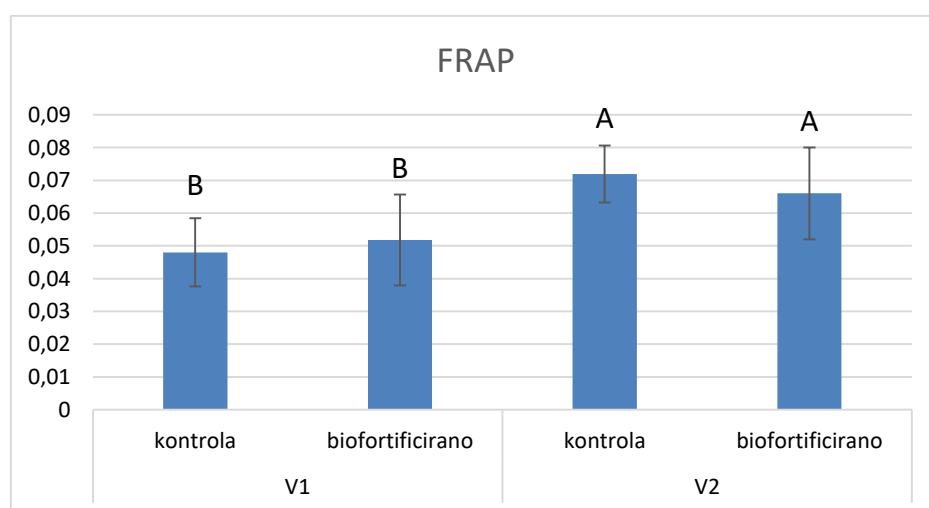
Grafikon 40. Utjecaj sorte i količine pristupačne vode (V1, zalijevano sa 150 mL vode svaka 24 h; V2, zalijevano sa 150 mL vode svakih 48 h) tijekom uzgoja na sposobnost kelatiranja Fe iona (mmol EDTA Na/L) u soku pšenične trave

Dvosmjernom analizom varijance utvrđen je značajan učinak interakcije biofortifikacije Se i Zn i promijenjenih vodnih uvjeta na antioksidativnu aktivnost utvrđenu FRAP metodom ($F=23,99$; $p \leq 0,0001$) (Grafikon 42.).

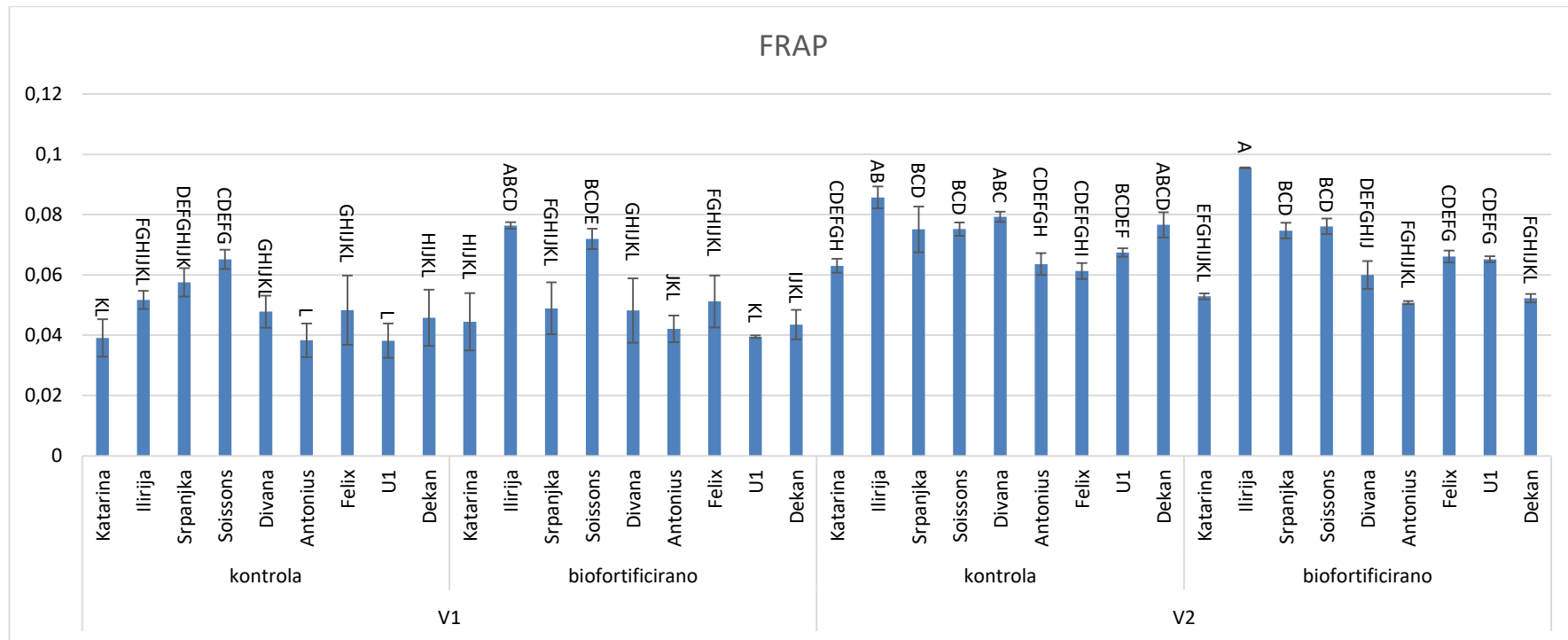


Grafikon 41. Utjecaj sorte i količine pristupačne vode (V1, zalijevano sa 150 mL vode svaka 24 h; V2, zalijevano sa 150 mL vode svakih 48 h) tijekom uzgoja na sadržaj vitamina C ($\mu\text{g/mL}$) u soku pšenične trave

Sokovi koji su dobiveni iz pšenične trave koja je pri uzgoju zalijevana svakih 48 sati (V2) i nije bila biofortificirana Se i Zn imali su najveću antioksidativnu aktivnost ($0,072 \text{ mmol FeSO}_4/\text{mL}$) koja se nije značajno razlikovala od onih sokova koji su iscijeđeni iz pšenične trave biofortificirane Se i Zn ($0,066 \text{ mmol FeSO}_4/\text{mL}$). Najnižu vrijednost antioksidativne aktivnosti su imali sokovi pšenične trave uzgojene iz nebiofortificiranoga sjemena i koja je pri uzgoju zalijevana svaka 24 sata (V1) ($0,048$), ali nisu utvrđene statistički značajne razlike u usporedbi sa sokovima iscijeđenim iz pšenične trave pri tretmanu V1 i biofortificiranih Se i Zn. (Grafikon 42.).



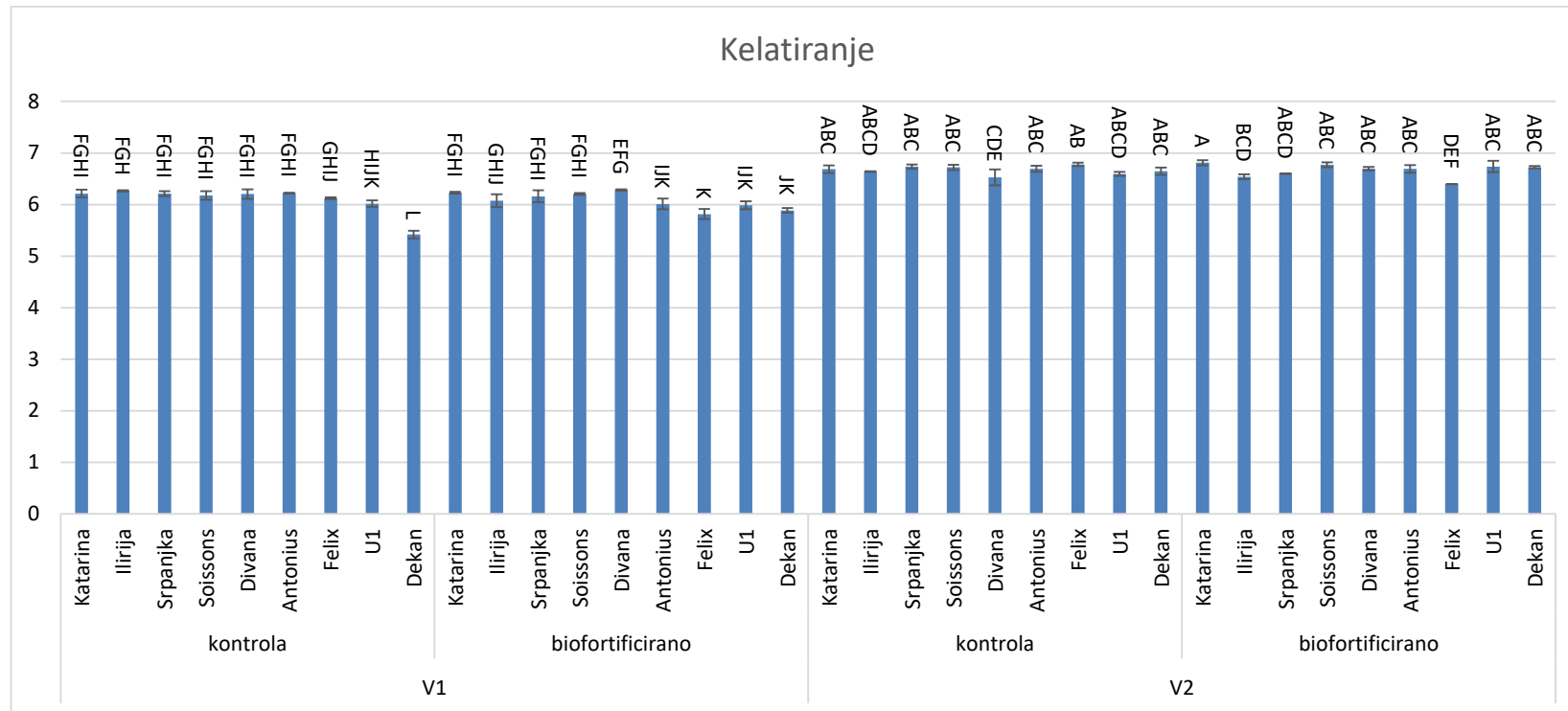
Grafikon 42. Utjecaj biofortifikacije Se i Zn i količine pristupačne vode (V1, zalijevano sa 150 mL vode svaka 24 h; V2, zalijevano sa 150 mL vode svakih 48 h) tijekom uzgoja na antioksidativnu aktivnost utvrđenu metodom FRAP ($\text{mmol FeSO}_4/\text{mL}$) u soku pšenične trave



Grafikon 43. Utjecaj sorte, biofortifikacije Se i Zn i količine pristupačne vode (V1, zalijevano sa 150 mL vode svaka 24 h; V2, zalijevano sa 150 mL vode svakih 48 h) tijekom uzgoja na antioksidativnu aktivnost određenu metodom FRAP (mmol FeSO₄/mL) u soku pšenične trave

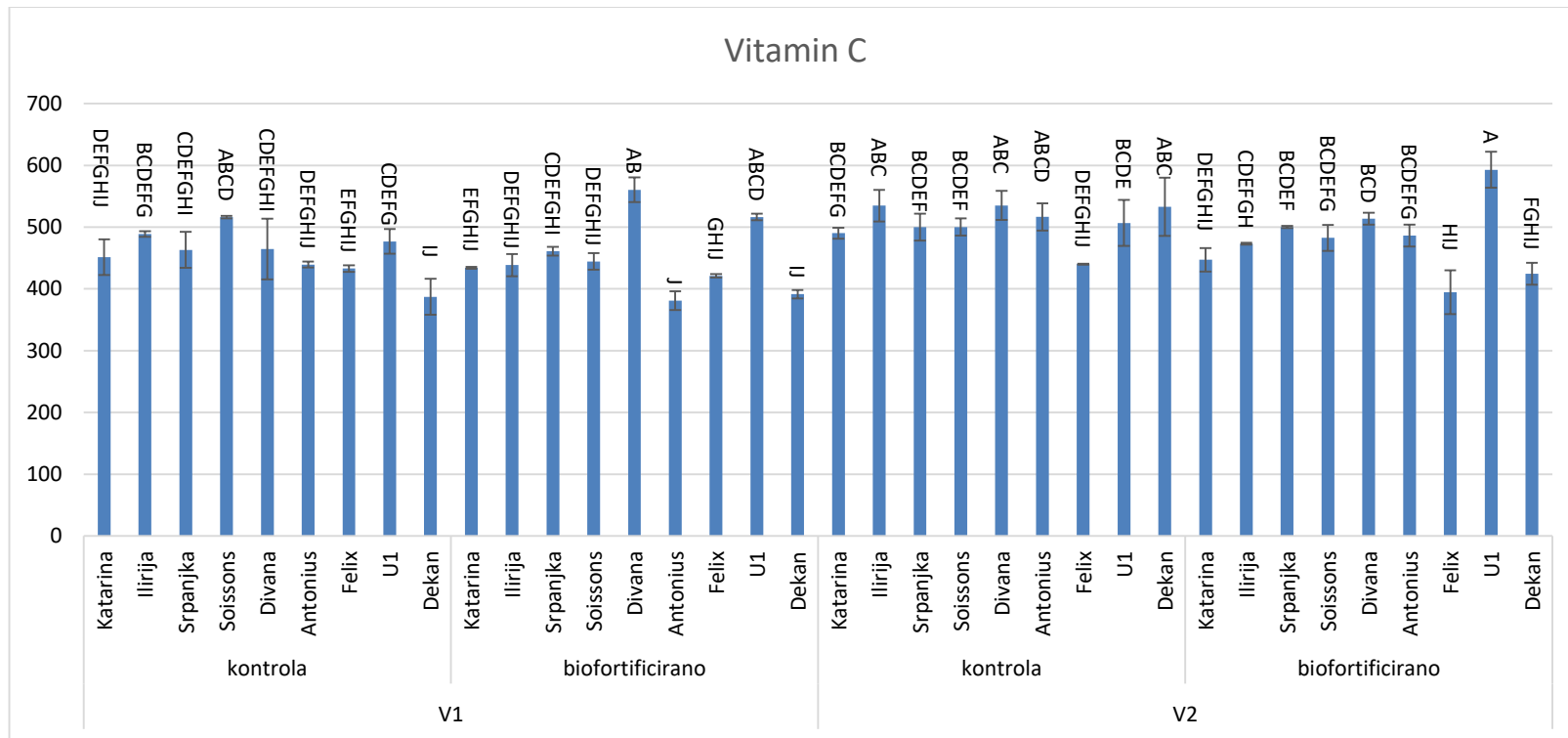
Trosmjernom analizom varijance utvrđen je značajan učinak interakcije sorte, biofortifikacije Se i Zn i različite učestalosti zalijevanja na antioksidativnu aktivnost određenu metodom FRAP ($F=3,04$; $p=0,0054$) (Grafikon 43.), na kapacitet kelatiranja Fe iona ($F=5,49$; $p\leq 0,0001$) (Grafikon 44.), na sadržaj vitamina C ($F=6,39$; $p\leq 0,0001$) (Grafikon 45.) i antioksidativnu aktivnost određenu ORAC metodom ($F=3,82$; $p=0,0009$) (Grafikon 46.). Najviša vrijednost antioksidativne aktivnosti određena metodom FRAP utvrđena je u soku pšenične trave sorte Ilirija, koja je biofortificirana Se i Zn i uzgajana pri tretmanu V2 (0,096 mM FeSO₄/mL). U soku pšenične trave sorte U1 koja je uzgajana u kontrolnim uvjetima (V1) i nije biofortificirana Se i Zn utvrđena je najniža vrijednost antioksidativne aktivnosti utvrđena FRAP metodom (0,038 mM FeSO₄/mL)

(Grafikon 43.).



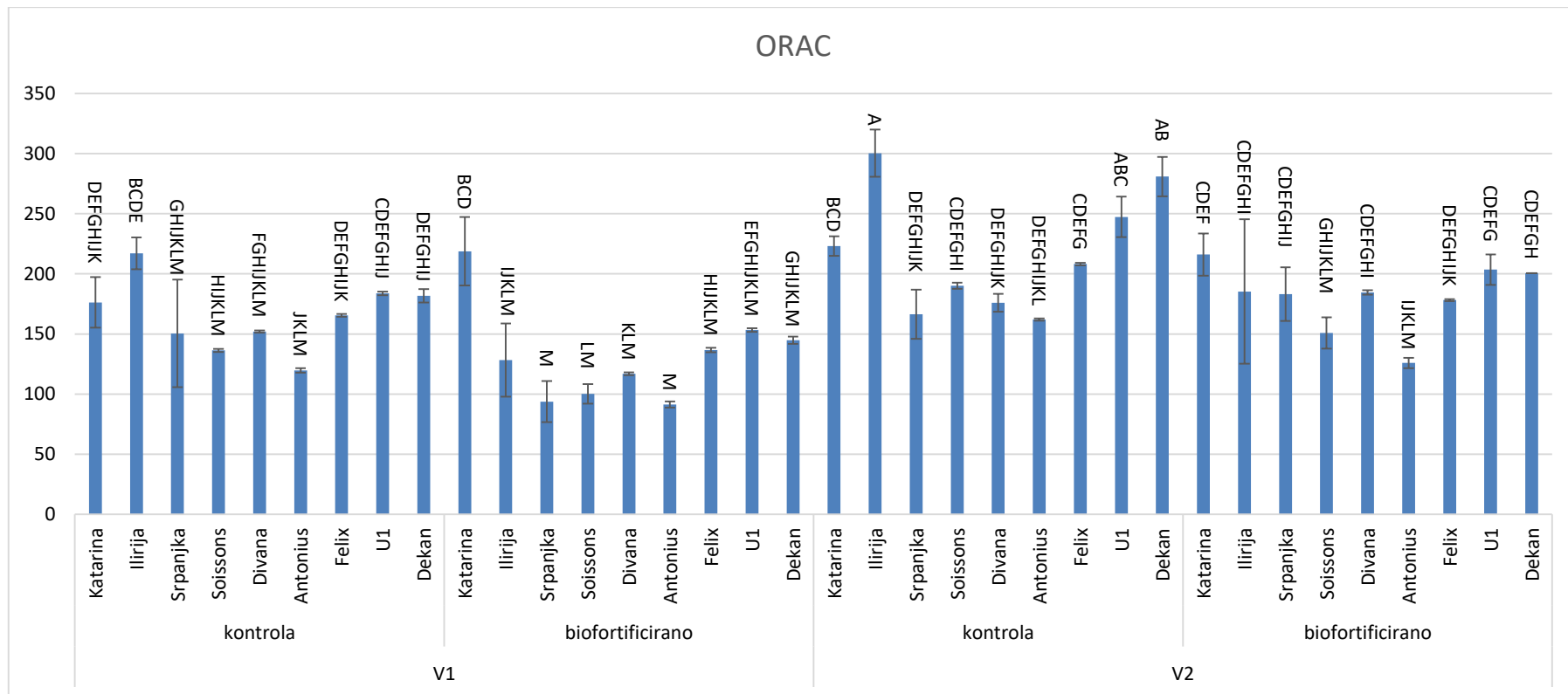
Grafikon 44. Utjecaj sorte, biofortifikacije Se i Zn i količine pristupačne vode (V1, zalijevano sa 150 mL vode svaka 24 h; V2, zalijevano sa 150 mL vode svakih 48 h) tijekom uzgoja na sposobnost kelatiranja Fe iona (mmol EDTA Na/L) u soku pšenične trave

Najviša vrijednost kapaciteta kelatiranja Fe iona utvrđena je u soku pšenične trave sorte Katarina koja je biofortificirana Se i Zn i uzgajana pri tretmanu V2 (6,810 mmol EDTA Na/L soka pšenične trave). U soku pšenične trave sorte Dekan koja nije biofortificirana Se i Zn i pri tretmanu V1 utvrđena je najniža vrijednost kapaciteta kelatiranja Fe iona (5,418 mmol EDTA Na/L soka pšenične trave) (Grafikon 44.).



Grafikon 45. Utjecaj sorte, biofortifikacije Se i Zn i količine pristupačne vode (V1, zalijevano sa 150 mL vode svaka 24 h; V2, zalijevano sa 150 mL vode svakih 48 h) tijekom uzgoja na sadržaj vitamina C ($\mu\text{g/mL}$) u soku pšenične trave

Sadržaj vitamina C u soku pšenične trave se kretao od 380,96 $\mu\text{g/mL}$ soka (sorta Antonius, biofortificirana Se i Zn koja je pri uzgoju zalijevana svaka 24 sata (V1)) do 592,94 $\mu\text{g/mL}$ soka (sorta U1, biofortificirana Se i Zn i koja je pri uzgoju zalijevana svakih 48 sati (V2)) (Grafikon 45.).



Grafikon 46. Utjecaj sorte, biofortifikacije Se i Zn i količine pristupačne vode (V1, zalijevano sa 150 mL vode svaka 24 h; V2, zalijevano sa 150 mL vode svakih 48 h) tijekom uzgoja na antioksidativnu aktivnost utvrđenu metodom ORAC (mmol Trolox/mL) u soku pšenične trave

Najviša vrijednost antioksidativne aktivnosti određena metodom ORAC utvrđena je u soku pšenične trave sorte Ilirija koja nije biofortificirana Se i Zn i koja je uzgajana prvi tretmanu V2 (300,31 mmol Trolox/mL), a u soku pšenične trave sorte Antonius koja je biofortificirana Se i Zn i koja je uzgajana pri kontrolnim uvjetima (V1) utvrđena je najniža vrijednost antioksidativne aktivnosti (91,32 mmol Trolox/mL) (Grafikon 46.).

Jednosmjernom analizom varijance utvrđene su statistički značajne razlike za vrijednosti sadržaja malondialdehida (MDA) u soku pšenične trave za devet ispitivanih sorata (Tablica 23.). Najviša vrijednost sadržaja MDA utvrđena je u soku pšenične trave sorte Divana, a najniža u soku pšenične trave sorte Soissons. Vrijednosti sadržaja prolina su se kretale od 0,683 mmol/L soka (Soissons) do 0,909 mmol/L soka (U1), ali između njih nije utvrđen statistički značajan učinak sorata (Tablica 23.). Sadržaj MDA bio je viši u soku pšenične trave koja je bila biofortificirana Se i Zn u odnosu na nebiofortificirano, no statističke značajne razlike između tretmana nisu utvrđene. Sadržaj prolina je bio niži u soku pšenične trave koja je biofortificirana u odnosu na sok pšenične trave koja nije biofortificirana, ali statistički značajne razlike između tretmana nisu utvrđene (Tablica 24.).

Tablica 23. Utjecaj sorte na sadržaj MDA (mmol/L soka) i prolina (mmol/L) u soku pšenične trave

SORTA	MDA	Prolin
Antonius	11,94 ± 1,53	0,784 ± 0,237
Dekan	12,71 ± 1,74	0,728 ± 0,130
Divana	12,73 ± 1,29	0,793 ± 0,232
Felix	10,83 ± 1,01	0,692 ± 0,051
Ilirija	10,92 ± 1,24	0,770 ± 0,144
Katarina	10,75 ± 1,59	0,731 ± 0,096
Soissons	10,46 ± 1,08	0,683 ± 0,049
Srpanjka	11,97 ± 1,14	0,752 ± 0,121
U1	10,85 ± 1,59	0,909 ± 0,285
MSD	2,087	0,2562
F	19,84	1,9
p	≤0,0001	0,0679

Tablica 24. Utjecaj biofortifikacije Se i Zn na sadržaj MDA (mmol/L soka) i prolina (mmol/L) u soku pšenične trave

TRETMAN	MDA	Prolin
biofortificirano	11,58 ± 1,53	0,729 ± 0,154
kontrola	11,35 ± 1,61	0,792 ± 0,190
MSD	0,7924	0,0872
F	3,16	3,54
p	0,0798	0,0628

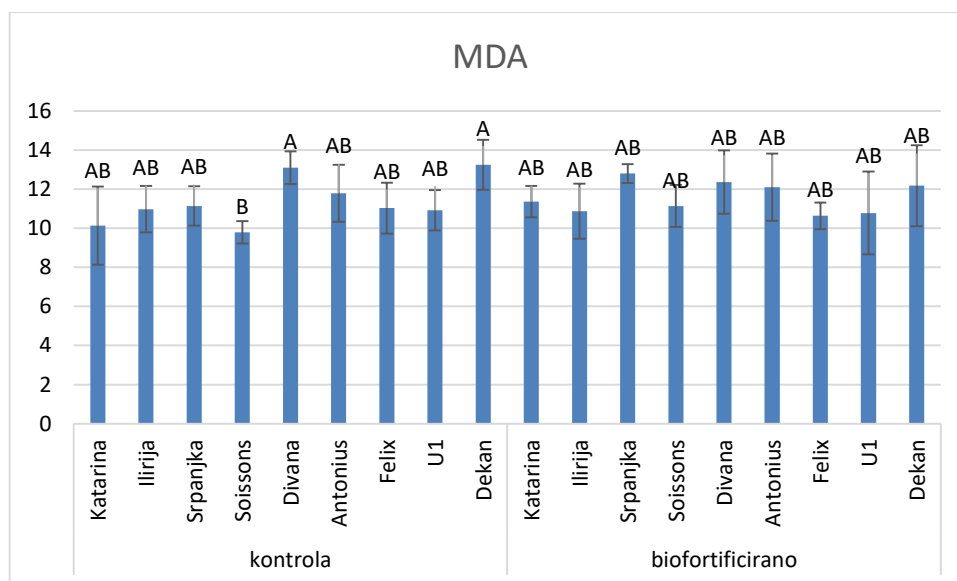
Jednosmjernom analizom utvrđen je značajan učinak količine pristupačne vode tijekom uzgoja pšenične trave na sadržaj MDA i prolina u soku pšenične trave. Značajno više vrijednosti za oba mjerena svojstva su utvrđene u soku pšenične trave koja je uzgajana pri tretmanu V2 u

usporedbi sa sokom pšenične trave koja je uzgajana pri tretmanu V1 (Tablica 25).

Tablica 25. Utjecaj različite količine pristupačne vode (V1, zalijevano sa 150 mL vode svaka 24 h; V2, zalijevano sa 150 mL vode svakih 48 h) tijekom uzgoja na sadržaj MDA (mmol/L soka) i prolina (mmol/L) u soku pšenične trave

TRETMAN	MDA	Prolin
V1	10,86 ± 1,53	0,665 ± 0,078
V2	12,07 ± 1,37	0,856 ± 0,192
MSD	0,7323	0,0741
F	84,34	200,18
<i>p</i>	≤0,0001	≤0,0001

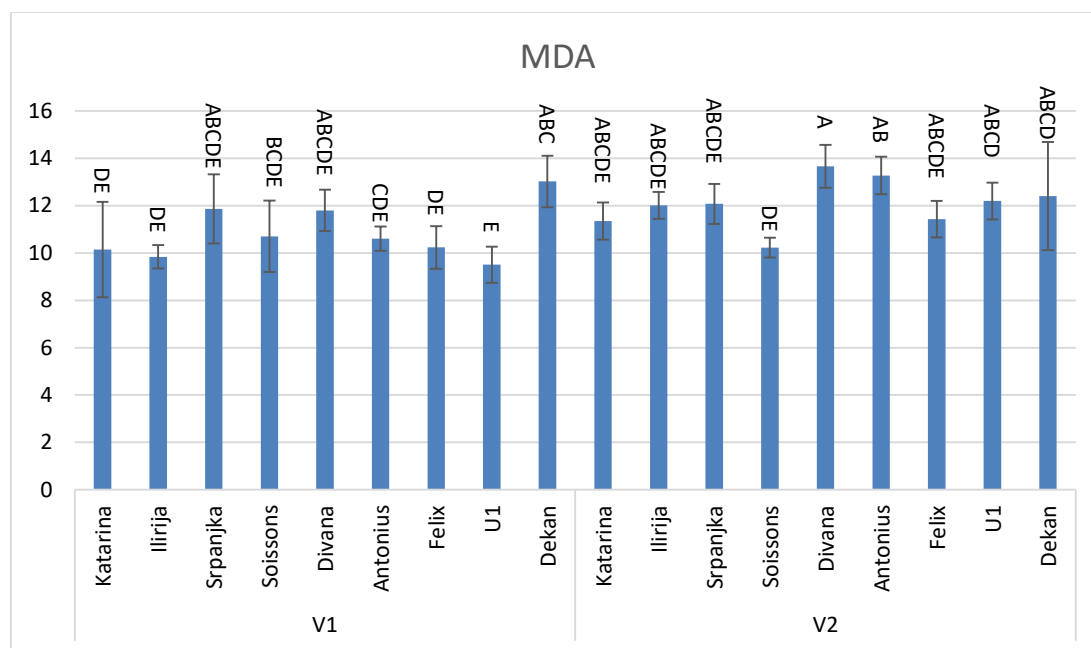
Dvosmjernom analizom varijance utvrđen je značajan učinak interakcije sorte i biofortifikacije Se i Zn na sadržaj MDA u soku pšenične trave ($F=6,03$; $p\leq 0,0001$) (Grafikon 47.). Najviša vrijednost sadržaja MDA je utvrđena u soku pšenične trave sorte Dekan koja nije bila biofortificirana Se i Zn (13,25 nmol/mL soka), a najniža vrijednost MDA je utvrđena u soku pšenične trave sorte Soissons koja nije biofortificirana Se i Zn (9,79 mmol/L soka) (Grafikon 47.).



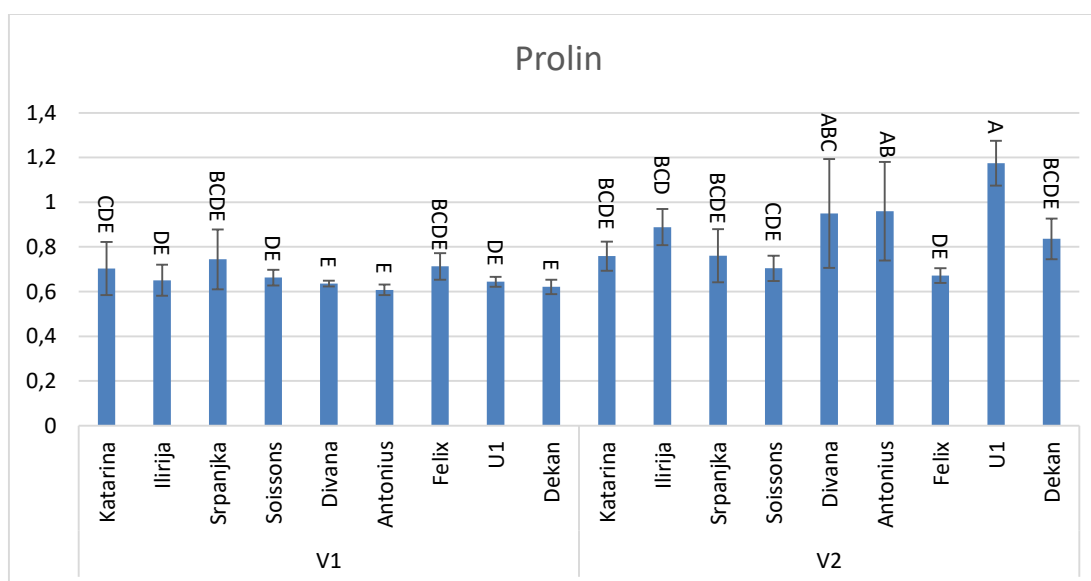
Grafikon 47. Utjecaj sorte i biofortifikacije Se i Zn na sadržaj MDA (mmol/L) u soku pšenične trave

Dvosmjernom analizom varijance ispitan je učinak interakcije sorte i promijenjenih vodnih uvjeta na sadržaj MDA ($F=10,28$; $p\leq 0,0001$) (Grafikon 48.) i prolina ($F=21,65$; $p\leq 0,0001$) (Grafikon 49.) u soku pšenične trave. Najviša vrijednost sadržaja MDA utvrđena je u soku pšenične trave sorte Divana, uzgajane pri tretmanu V2 (13,66 mmol/L soka), a najniža je utvrđena u soku pšenične trave sorte U1, koja je uzgajana pri tretmanu V1 (9,50 mmol/L soka) (Grafikon 48.). Za sadržaj prolina u soku pšenične trave vrijednosti su se kretale od 0,608

mmol/L soka (Antonius, V1) do 1,174 mmol/L (U1, V2) (Grafikon 49.).



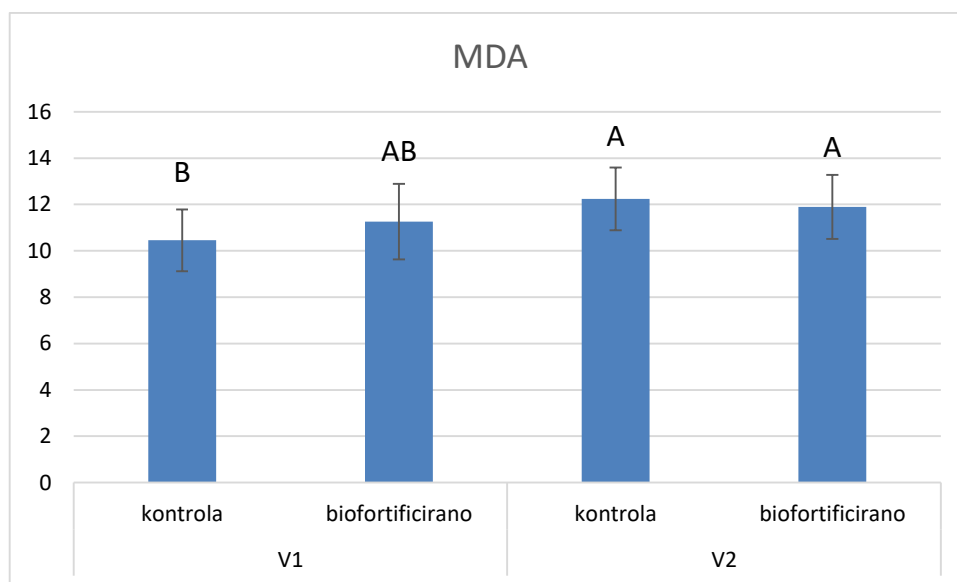
Grafikon 48. Utjecaj sorte i količine pristupačne vode tijekom (V1, zalijevano sa 150 mL vode svaka 24 h; V2, zalijevano sa 150 mL vode svakih 48 h) uzgoja na sadržaj MDA (mmol/L) u soku pšenične trave



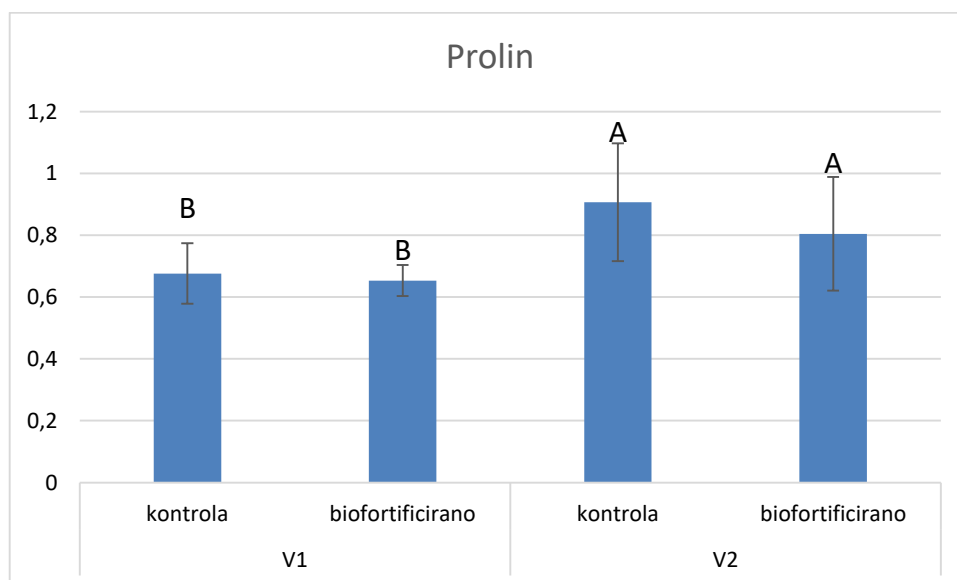
Grafikon 49. Utjecaj sorte i količine pristupačne vode (V1, zalijevano sa 150 mL vode svaka 24 h; V2, zalijevano sa 150 mL vode svakih 48 h) tijekom uzgoja na sadržaj prolina (mmol/L) u soku pšenične trave

Utvrđena je značajna interakcija biofortifikacije Se i Zn i količine pristupačne vode tijekom uzgoja pšenične trave iz koje se cijedio sok za sadržaj MDA ($F=18,81$; $p \leq 0,0001$) (Grafikon 50.) i prolina ($F=8,7$; $p=0,0043$) (Grafikon 51.) u soku. Najviše vrijednosti MDA (12,24 mmol

/L) i prolina (0,907 mmol/L soka) su utvrđene u prosjeku za sve sorte bez biofortifikacije Se i Zn, uzgajane pri tretmanu V2. Najniža vrijednost MDA je utvrđena u sokovima pšenične trave koji nisu biofortificirane Se i Zn i koje su uzgajane pri tretmanu V1 (10,45 mmol /L) (Grafikon 50.), a sokovi pšenične trave koja je uzgajana pri tretmanu V1 i biofortificirana Se i Zn imali su najmanje prolina (0,653 mmol/L soka) (Grafikon 51.).

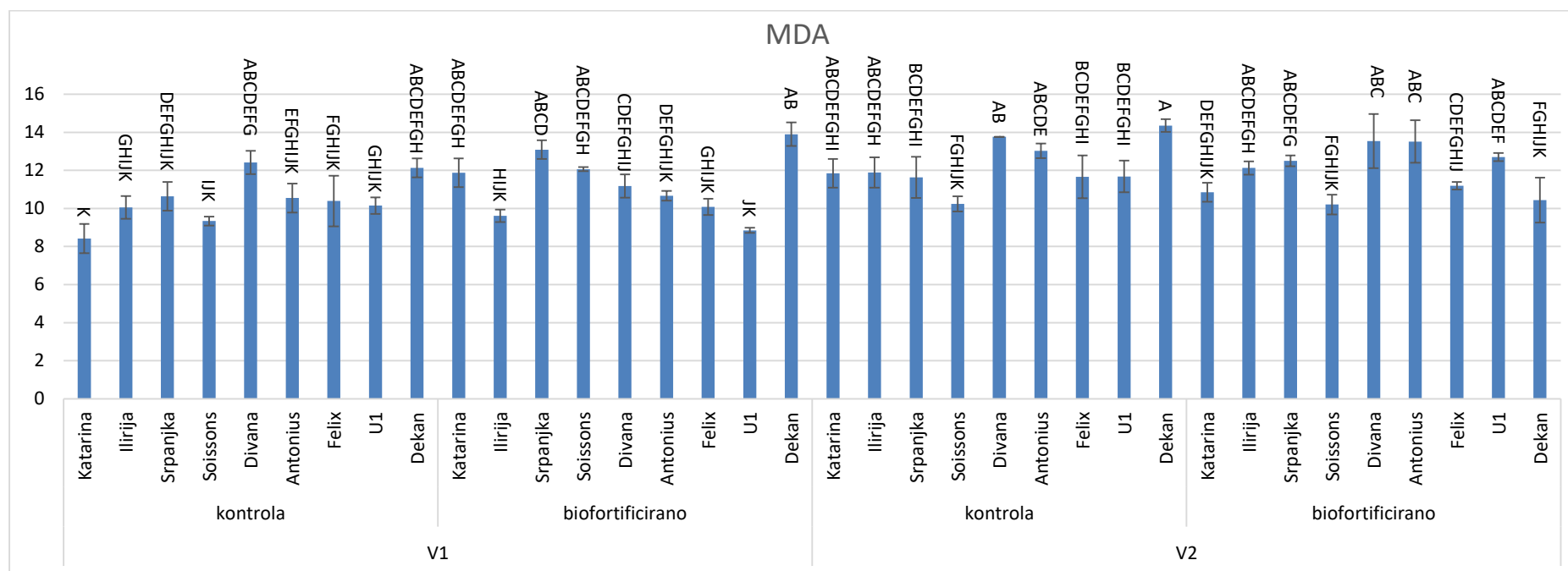


Grafikon 50. Utjecaj biofortifikacije Se i Zn i količine pristupačne vode tijekom uzgoja (V1, zalijevano sa 150 mL vode svaka 24 h; V2, zalijevano sa 150 mL vode svakih 48 h) na sadržaj MDA (mmol/L) u soku pšenične trave



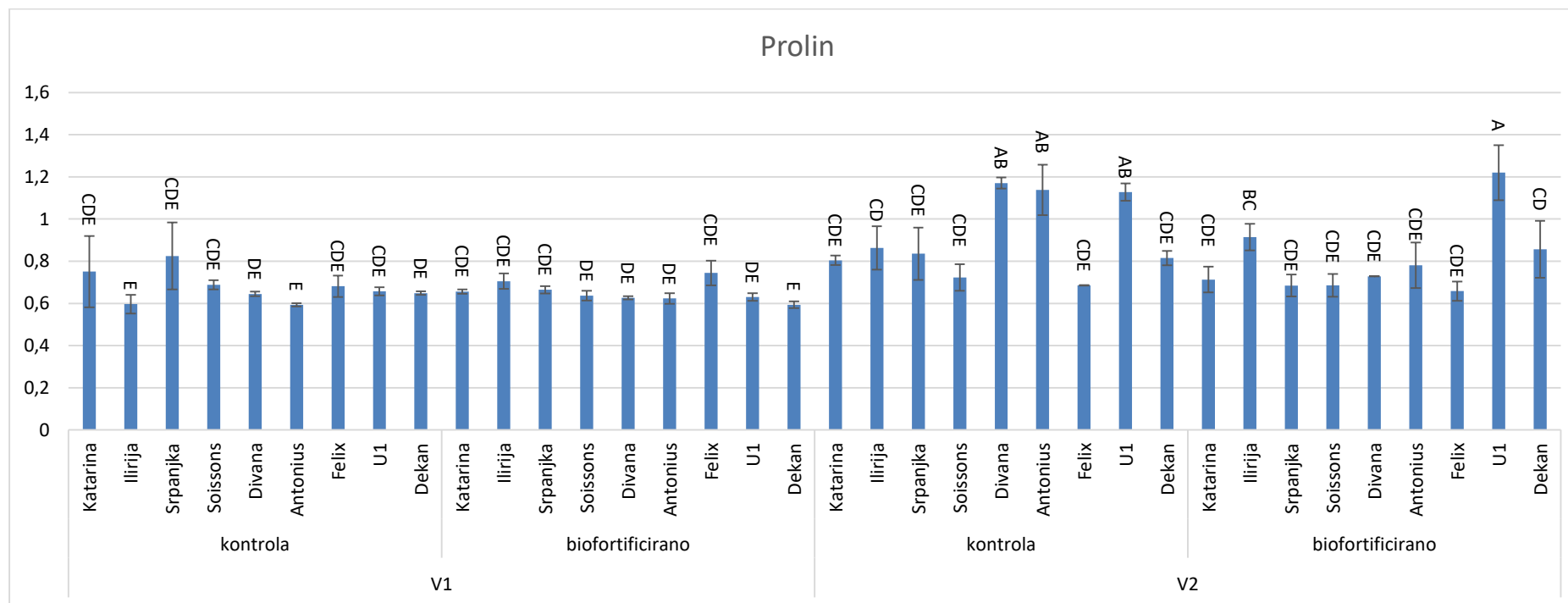
Grafikon 51. Utjecaj biofortifikacije Se i Zn i količine pristupačne vode tijekom uzgoja na sadržaj prolina (mmol/L) u soku pšenične trave

Trosmjernom analizom varijance utvrđen je značajan učinak interakcije sorte, biofortifikacije Se i Zn i količine pristupačne vode na sadržaj MDA ($F=11,52$; $p \leq 0,0001$) (Grafikon 52.) i prolina ($F=5,88$; $p \leq 0,0001$) (Grafikon 53.) u soku pšenične trave. Najviša vrijednost sadržaja MDA utvrđena je u soku pšenične trave sorte Dekan koja nije biofortificirana Se i Zn i koja je uzgojena pri tretmanu V2(14,36 mmol/L), a najniža vrijednost je utvrđena u soku pšenične trave sorte Katarina, koja nije biofortificirana Se i Zn i koja je uzgajana pri tretmanu V1(8,42 mmol/L) (Grafikon 52.).



Grafikon 52. Utjecaj sorte, biofortifikacije Se i Zn i količine pristupačne vode tijekom uzgoja (V1, zalijevano sa 150 mL vode svaka 24 h; V2, zalijevano sa 150 mL vode svakih 48 h) na sadržaj MDA (mmol/L) u soku pšenične trave

Najviša vrijednost sadržaja prolina utvrđena je u soku pšenične trave sorte U1, koja je biofortificirana Se i Zn i uzgajana pri tretmanu V2 (1,220 mmol/L), a najniža vrijednost prolina je utvrđena u soku pšenične trave sorte Antonius, koja nije biofortificirana Se i Zn i koja je uzgajana pri kontrolnim uvjetima, odnosno pri tretmanu V1 (0,593 mmol/L) (Grafikon 53.).



Grafikon 53. Utjecaj sorte, biofortifikacije Se i Zn i količine pristupačne vode tijekom uzgoja (V1, zalijevano sa 150 mL vode svaka 24 h; V2, zalijevano sa 150 mL vode svakih 48 h) na sadržaj prolina (mmol/L) u soku pšenične trave

Jednosmjernom analizom varijance utvrđen je značajan učinak sorte na sadržaj fenola, flavonoida, fenolnih kiselina i flavanola u soku pšenične trave (Tablica 26.). Sorta Ilirija je imala statistički značajno najviši sadržaj fenola, flavonoida, fenolnih kiselina i flavanola. Kod sorte Antonius utvrđene su statistički značajno najniže vrijednosti sa sadržaj flavonoida i fenolnih kiselina, dok je sorta Katarina imala najniži sadržaj fenola. Najniži sadržaj flavanola je utvrđen kod sorte Dekan (Tablica 26.). Biofortifikacija nije imala značajan učinak na sadržaj fenola, flavonoida, fenolnih kiselina i flavanola u soku pšenične trave (Tablica 27.). Različiti vodni uvjeti, odnosno zalijevanje pšenične trave svakih 48 sati, značajno je utjecalo na promjenu sadržaja fenola, flavonoida i flavanola u soku pšenične trave. HSD testom na razini značajnosti od 99% utvrđeno je da su u sokovima pšenične trave koja je uzgajana pri smanjenoj količini vode značajno više vrijednosti sadržaja fenola, flavonoida i flavanola u soku, nego u soku pšenične trave koja je rasla pri kontrolnim uvjetima, odnosno tretmanu V1 (Tablica 28.).

Tablica 26. Utjecaj sorte na sadržaj fenola (mg GAE/mL), flavonoida (μg QCE/mL), fenolnih kiselina (mg KE/mL) i flavanola (mg KTE/L) u soku pšenične trave

SORTA	Fenoli	Flavonoidi	Fenolne kiseline	Flavanoli
Antonius	11,63 \pm 1,91	87,74 \pm 20,06	1,200 \pm 0,178	9,02 \pm 3,08
Dekan	10,81 \pm 1,85	88,55 \pm 12,31	1,404 \pm 0,140	7,57 \pm 2,17
Divana	11,76 \pm 1,93	122,16 \pm 20,57	1,686 \pm 0,337	9,88 \pm 1,96
Felix	10,44 \pm 1,23	129,40 \pm 21,38	1,440 \pm 0,203	8,96 \pm 1,71
Ilirija	13,72 \pm 1,59	211,79 \pm 38,60	2,480 \pm 0,541	11,67 \pm 3,46
Katarina	9,78 \pm 0,98	122,10 \pm 16,46	1,226 \pm 0,212	8,11 \pm 1,89
Soissons	13,42 \pm 1,51	159,93 \pm 22,47	2,399 \pm 0,133	9,23 \pm 1,54
Srpanjka	12,27 \pm 1,46	145,45 \pm 29,46	1,758 \pm 0,375	8,62 \pm 1,40
U1	11,71 \pm 2,13	103,26 \pm 26,84	1,498 \pm 0,477	8,82 \pm 3,04
MSD	2,5109	36,694	0,4864	3,5681
F	59,52	619,28	70,16	25,02
<i>p</i>	$\leq 0,0001$	$\leq 0,0001$	$\leq 0,0001$	$\leq 0,0001$

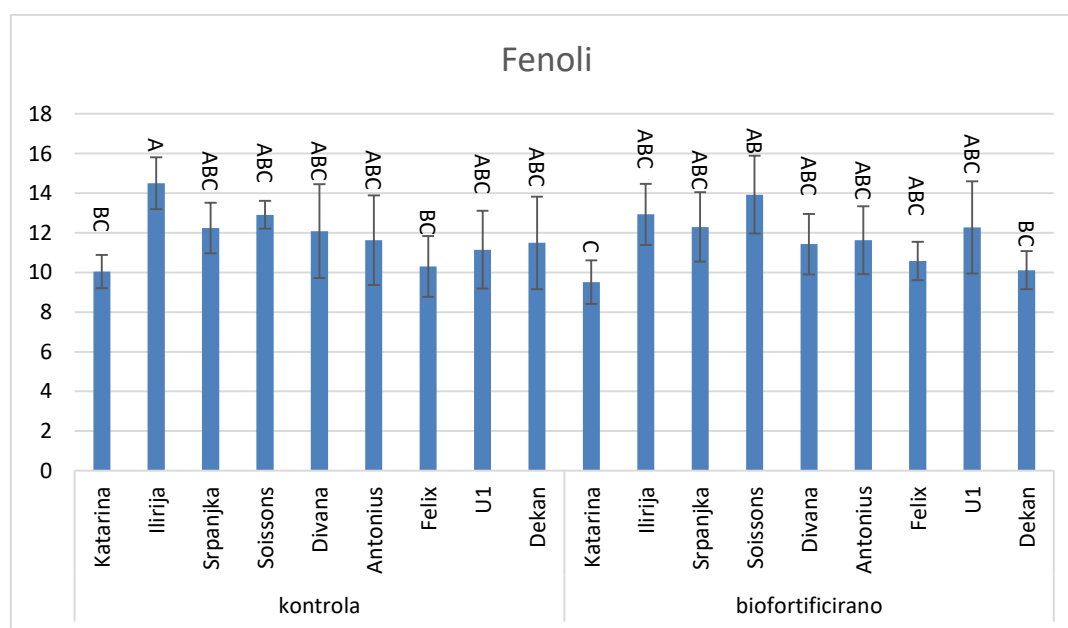
Tablica 27. Utjecaj biofortifikacije Se i Zn na sadržaj fenola (mg GAE/mL), flavonoida (μg QCE/mL), fenolnih kiselina (mg KE/mL) i flavanola (mg KTE/L) u soku pšenične trave

TRETMAN	Fenoli	Flavonoidi	Fenolne kiseline	Flavanoli
biofortificirano	11,63 \pm 1,99	129,76 \pm 44,76	1,757 \pm 0,583	8,88 \pm 2,45
kontrola	11,82 \pm 2,05	130,33 \pm 43,00	1,596 \pm 0,490	9,32 \pm 2,60
MSD	1,0195	22,154	0,2717	1,2739
F	2,66	0,3	2,42	0,884
<i>p</i>	0,1073	0,5884	0,1229	0,3607

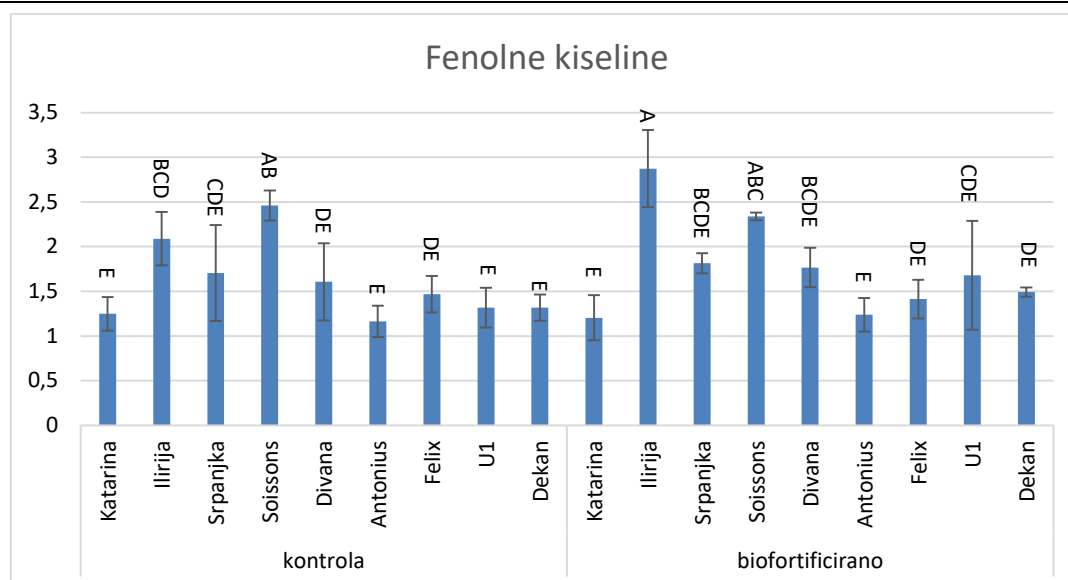
Tablica 28. Utjecaj količine pristupačne vode tijekom uzgoja na sadržaj fenola (mg GAE/mL), flavonoida ($\mu\text{g QCE/mL}$), fenolne kiseline (mg KE/mL) i flavanola (mg KTE/L) u soku pšenične trave

TRETMAN	Fenoli	Flavonoidi	Fenolne kiseline	Flavanoli
V1	10,37 \pm 1,36	109,24 \pm 32,63	1,576 \pm 0,437	7,16 \pm 1,25
V2	13,08 \pm 1,60	150,85 \pm 43,66	1,778 \pm 0,618	11,04 \pm 1,90
MSD	0,7494	19,453	0,27	0,8106
F	590,66	1586,31	3,84	624,38
p	$\leq 0,0001$	$\leq 0,0001$	0,0527	$\leq 0,0001$

Dvosmjernom analizom varijance utvrđen je značajan učinak interakcije sorte i biofortifikacije Se i Zn na sadržaj fenola ($F=7,97$; $p \leq 0,0001$) (Grafikon 54.), flavonoida ($F=13,5$; $p \leq 0,0001$) (Grafikon 56.) i fenolnih kiselina ($F=6,02$; $p \leq 0,0001$) (Grafikon 55.) u soku pšenične trave. Vrijednosti sadržaja fenola su se kretale od 9,51 mg GAE/mL (sorta Katarina, biofortificirana Se i Zn) do 14,50 mg GAE/mL (sorta Ilirija, nije biofortificirana Se i Zn) (Grafikon 54.). Najniža vrijednost sadržaja fenolnih kiselina utvrđena je u soku pšenične trave sorte Antonius koja nije biofortificirana Se i Zn (1,163 mg KE/mL), a najviša je utvrđena u soku pšenične trave sorte Ilirija, biofortificirane Se i Zn (2,872 mg KE/mL) (Grafikon 55.).

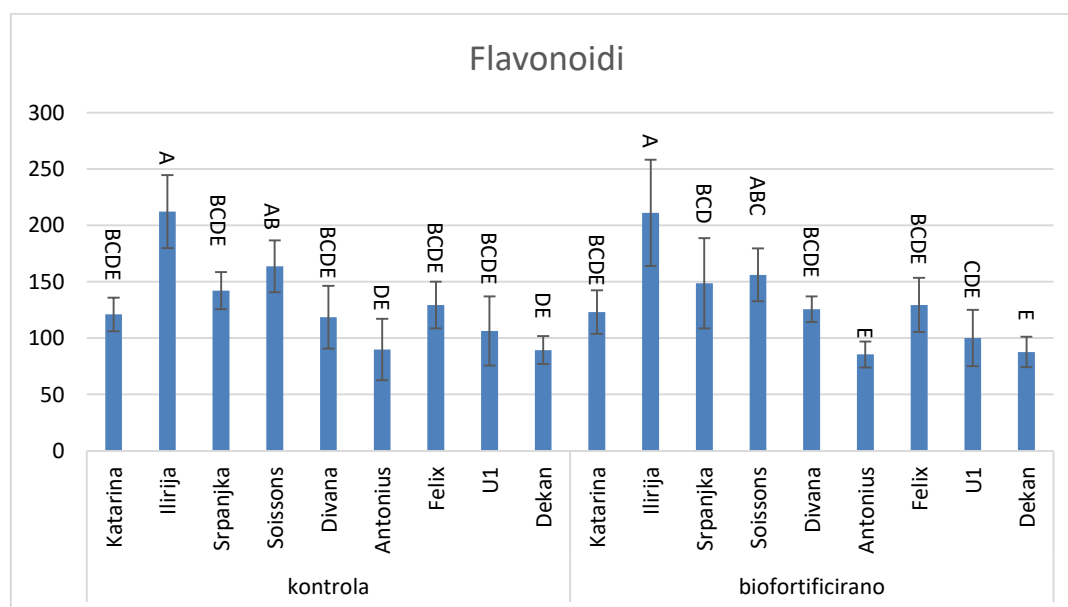


Grafikon 54. Utjecaj sorte i biofortifikacije Se i Zn na sadržaj ukupnih fenola (mg GAE/mL) u soku pšenične trave



Grafikon 55. Utjecaj sorte i biofortifikacije Se i Zn na sadržaj fenolnih kiselina (mg KE/mL) u soku pšenične trave

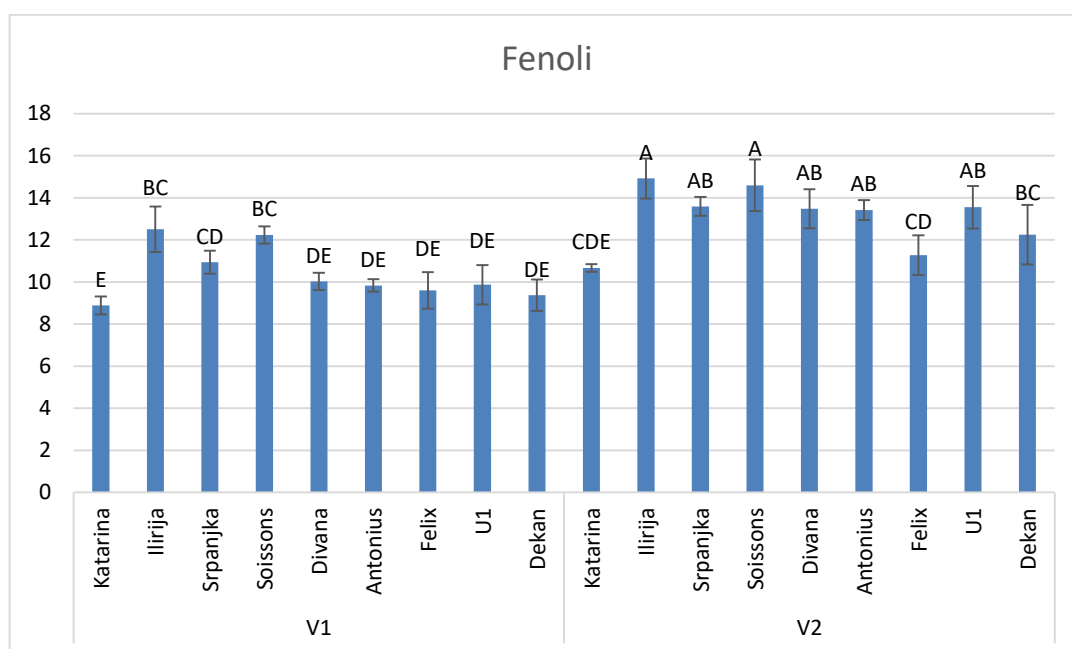
Sadržaj flavonoida u soku pšenične trave se kretao od 85,53 $\mu\text{g QCE/mL}$ (sorta Antonius, biofortificirana Se i Zn) do 212,32 $\mu\text{g QCE/mL}$ (sorta Ilirija, nije biofortificirana Se i Zn), ali se najviša vrijednost nije značajno razlikovala od vrijednosti utvrđene u soku pšenične trave sorte Ilirije biofortificirane Se i Zn (211,26 $\mu\text{g QCE/mL}$), te sorte Soissons biofortificirane Se i Zn (156,18 $\mu\text{g QCE/mL}$) i nebiofortificirane Se i Zn (163,69 $\mu\text{g QCE/mL}$) (Grafikon 56.).



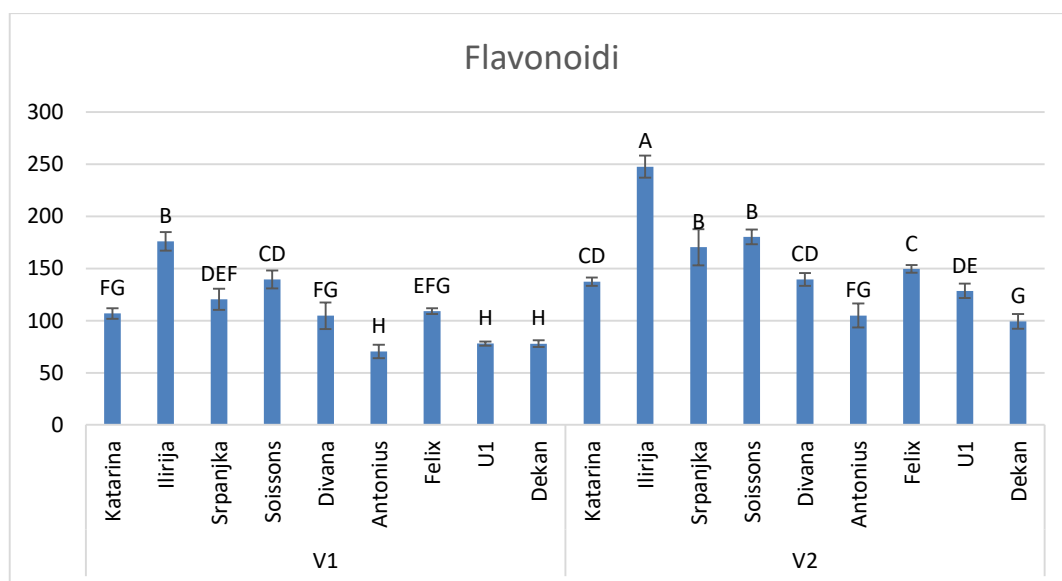
Grafikon 56. Utjecaj interakcije sorte i biofortifikacije Se i Zn na sadržaj flavonoida ($\mu\text{g QCE/mL}$) u soku pšenične trave

Dvosmjernom analizom varijance utvrđen je značajan učinak interakcije sorte i količine pristupačne vode tijekom uzgoja na sadržaj fenola ($F=4,94$; $p \leq 0,0001$) (Grafikon 57.),

flavonoida ($F=21,57$; $p\leq 0,0001$) (Grafikon 58.), fenolnih kiselina ($F=8,45$; $p\leq 0,0001$) (Grafikon 60.) i flavanola ($F=10,45$; $p\leq 0,0001$) (Grafikon 59.) u soku pšenične trave.



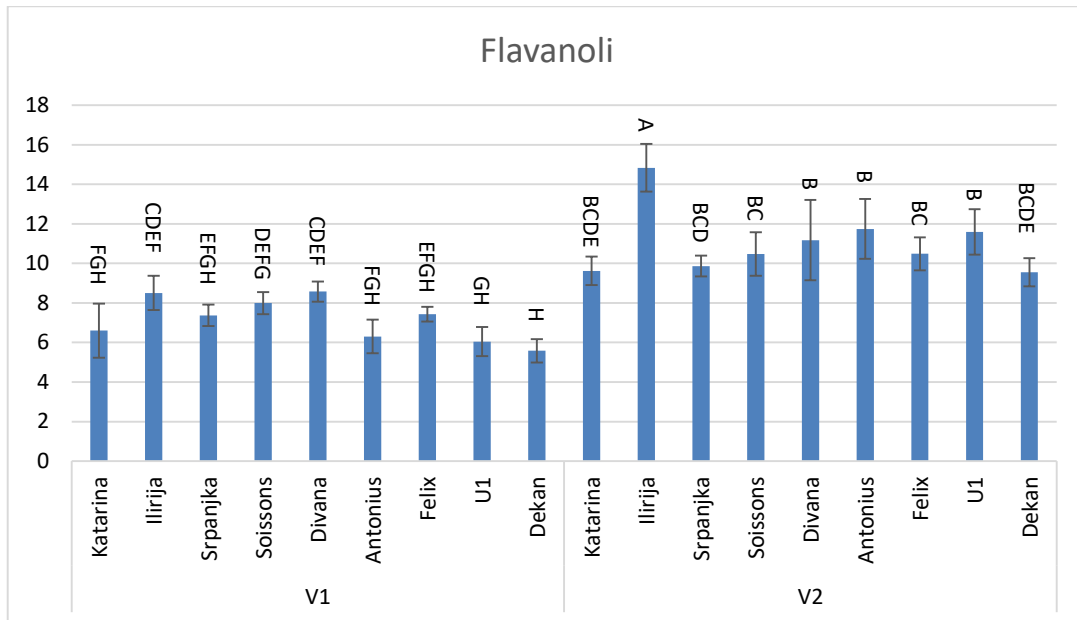
Grafikon 57. Utjecaj sorte i količine pristupačne vode (V1, zalijevano sa 150 mL vode svaka 24 h; V2, zalijevano sa 150 mL vode svakih 48 h) na sadržaj ukupnih fenola (mg GAE/mL) u soku pšenične trave



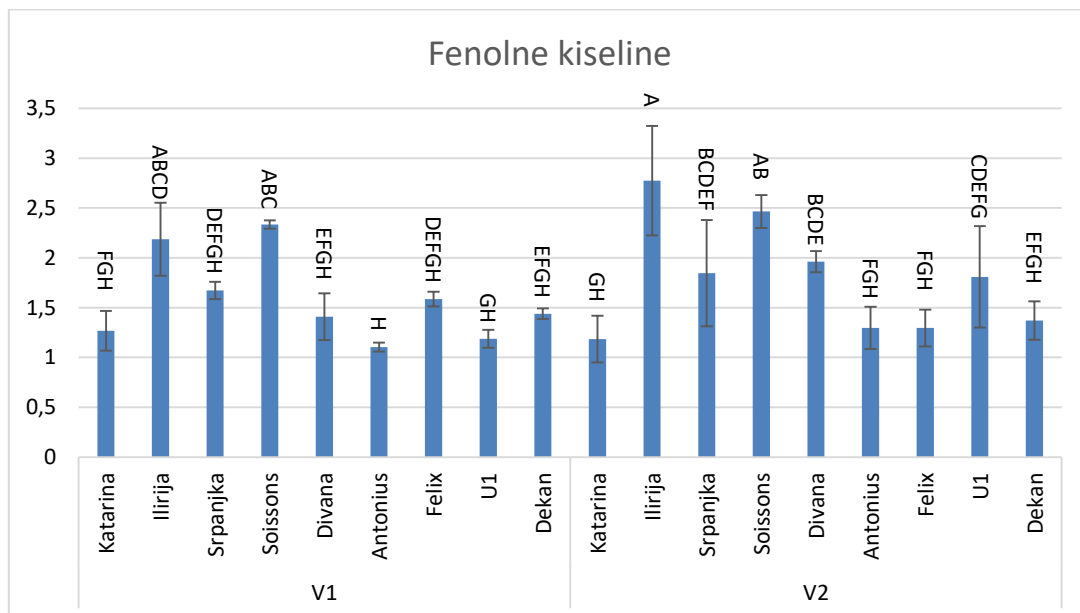
Grafikon 58. Utjecaj sorte i količine pristupačne vode (V1, zalijevano sa 150 mL vode svaka 24 h; V2, zalijevano sa 150 mL vode svakih 48 h) na sadržaj flavonoida ($\mu\text{g QCE/mL}$) u soku pšenične trave

Najviše vrijednosti za sadržaj fenola (14,92 mg GAE/mL) (Grafikon 57.), flavonoida (247,66 $\mu\text{g QCE/mL}$) (Grafikon 58.), fenolnih kiselina (2,775 mg KE/mL) (Grafikon 60.) i flavanola (14,84 mg KTE/L) (Grafikon 59.) utvrđene su u soku pšenične trave sorte Ilirija uzgajane pri tretmanu V2. Najniža vrijednost fenola utvrđena je u soku pšenične trave sorte Katarina koja

je uzgajana pri tretmanu V1 (8,89 mg GAE/mL) (Grafikon 57.). Sok pšenične trave sorte Antonius uzgajane pri tretmanu V1 imao je najniži sadržaj flavonoida (70,51 μg QCE/mL) (Grafikon 58.) i fenolnih kiselina (1,103 mg KE/mL) (Grafikon 60.). Najniža vrijednost sadržaja flavanola utvrđena je u soku pšenične trave sorte Dekan uzgajane u kontrolnim uvjetima (V1) (5,59 mg KTE/L) (Grafikon 59.).

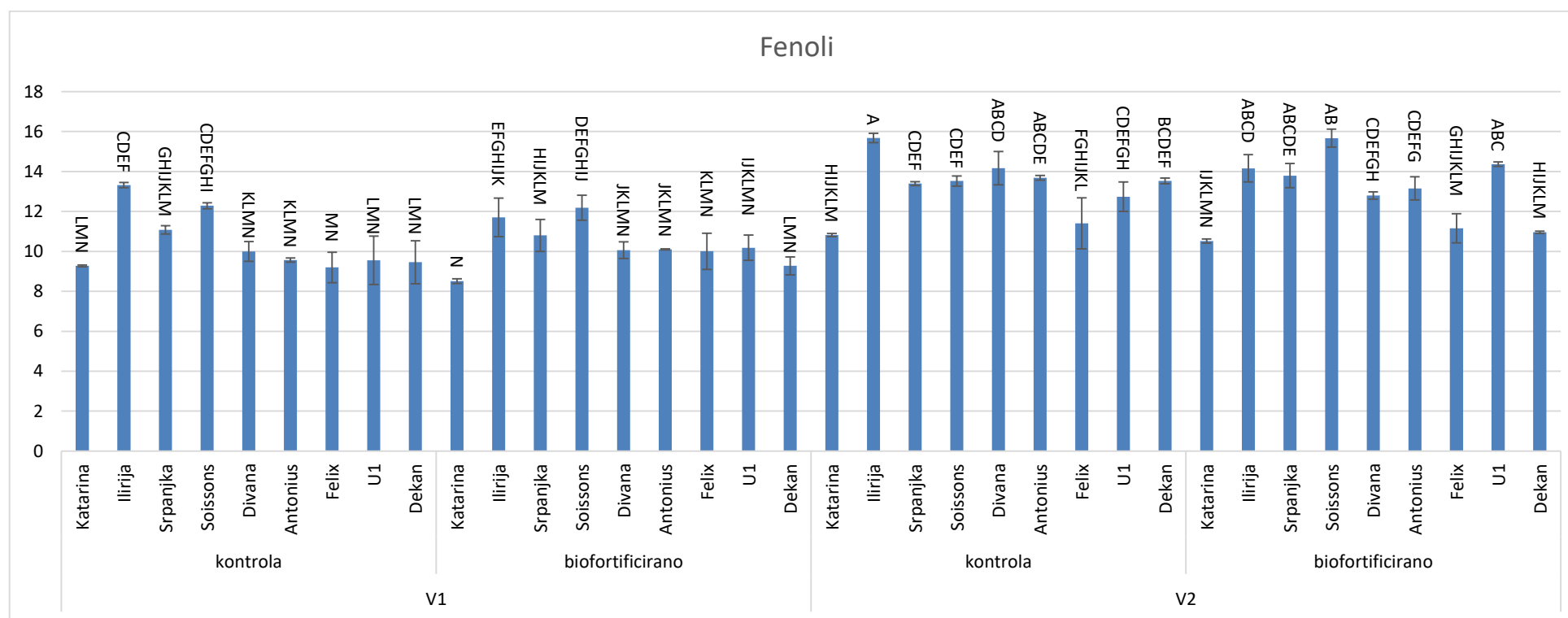


Grafikon 59. Utjecaj sorte i količine pristupačne vode (V1, zalijevano sa 150 mL vode svaka 24 h; V2, zalijevano sa 150 mL vode svakih 48 h) na sadržaj flavanola (mg KTE/L) u soku pšenične trave



Grafikon 60. Utjecaj sorte i količine pristupačne vode (V1, zalijevano sa 150 mL vode svaka 24 h; V2, zalijevano sa 150 mL vode svakih 48 h) na sadržaj fenolnih kiselina (mg KE/mL) u soku pšenične trave

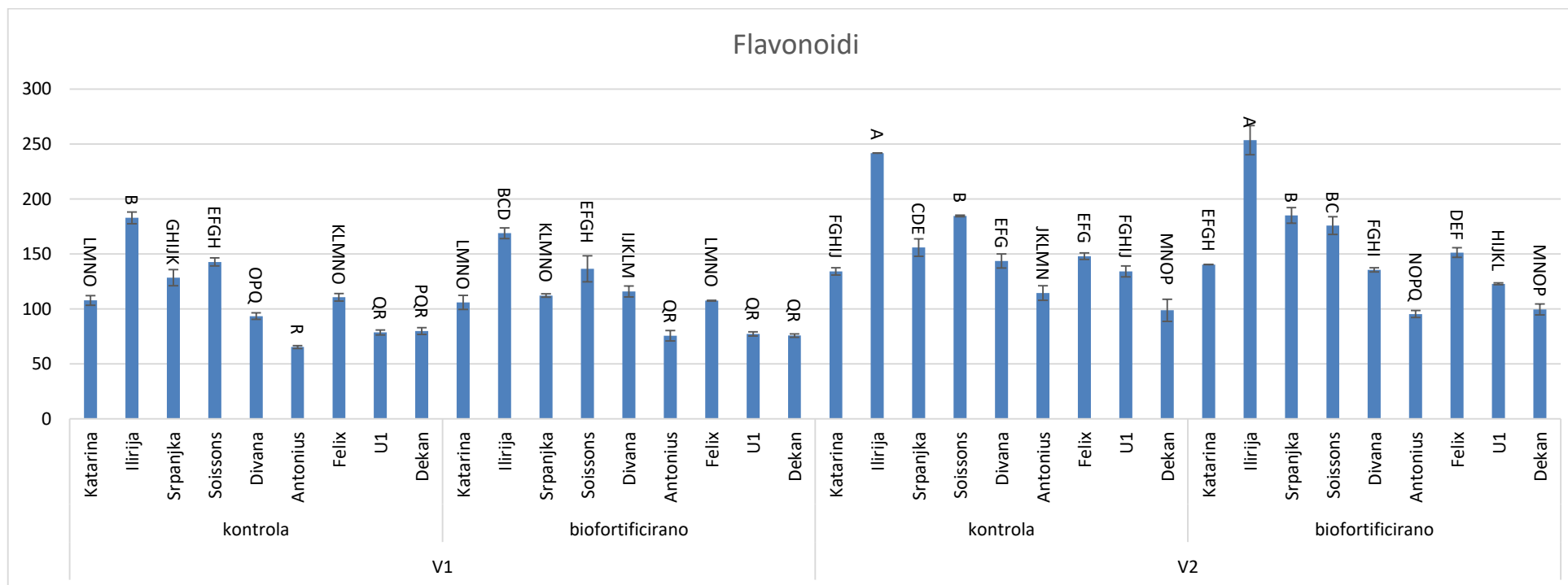
Trosmjernom analizom varijance utvrđen je značajan učinak interakcije sorte, biofortifikacije Se i Zn i količine pristupačne vode na sadržaj ukupnih fenola ($F=4,58$; $p=0,0002$) (Grafikon 61.), flavonoida ($F=14,98$; $p\leq 0,0001$) (Grafikon 62.), fenolnih kiselina ($F=4,33$; $p=0,0003$) (Grafikon 64.) i flavanola ($F=3,53$; $p=0,0017$) (Grafikon 63.) u soku pšenične trave. Značajno najviši sadržaj fenola utvrđen je u soku pšenične trave sorte Ilirija koja nije biofortificirana Se i Zn i uzgajana je pri tretmanu V2 (15,68 mg GAE/mL), a najnižu vrijednost sadržaja fenola imala je sorta Katarina biofortificirana Se i Zn i uzgajana pri tretmanu T1 (8,51 mg GAE/mL) (Grafikon 61.).



Grafikon 61. Utjecaj sorte, biofortifikacije Se i Zn i količina pristupačne vode (V1, zalijevano sa 150 mL vode svaka 24 h; V2, zalijevano sa 150 mL vode svakih 48

h) na sadržaj ukupnih fenola (mg GAE/mL) u soku pšenične trave

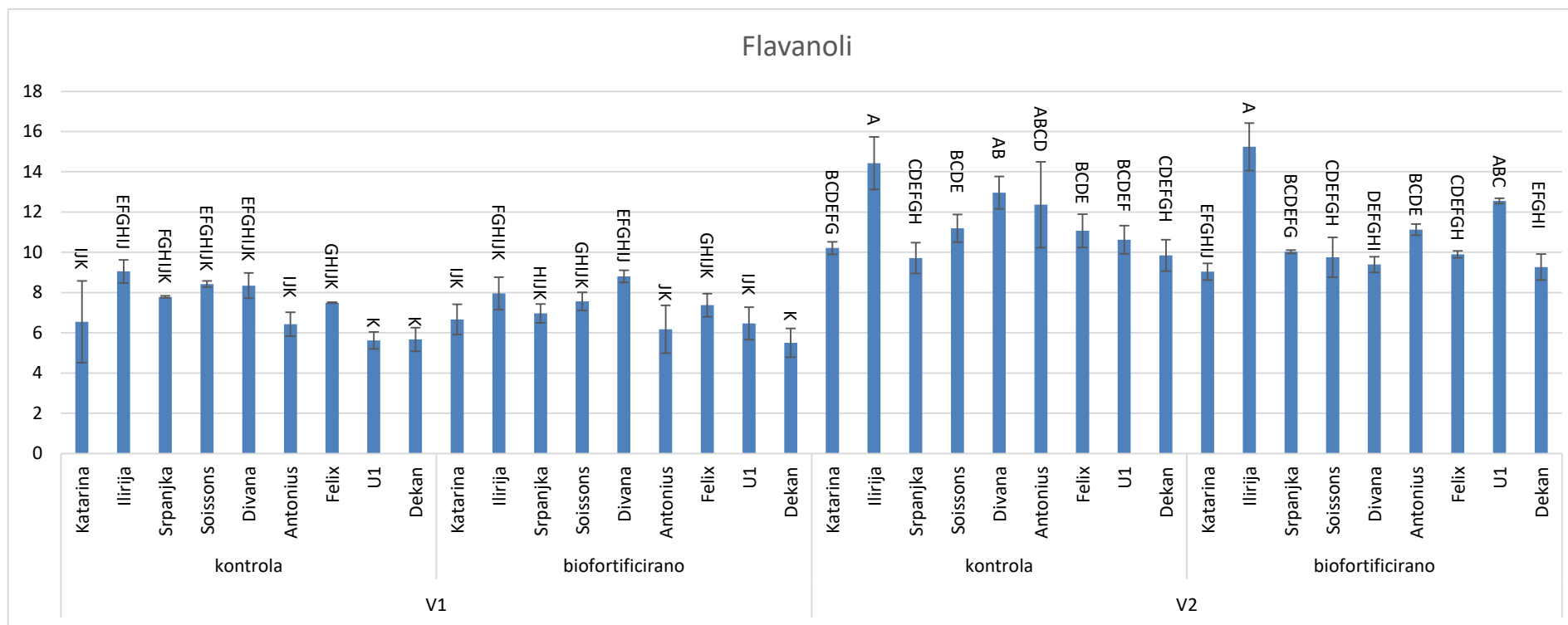
Vrijednosti flavonoida u soku pšenične trave su se kretale od 65,39 μg QCE/mL (sorta Antonius, nije biofortificirana Se i Zn uzgajana pri tretmanu V1) do 253,56 μg QCE/mL (sorta Ilirija biofortificirana Se i Zn i uzgajana pri tretmanu V2) (Grafikon 62.).



Grafikon 62. Utjecaj sorte, biofortifikacije Se i Zn i količina pristupačne vode (V1, zalijevano sa 150 mL vode svaka 24 h; V2, zalijevano sa 150 mL vode svakih 48 h) na sadržaj flavonoida (μg QCE/mL) u soku pšenične trave

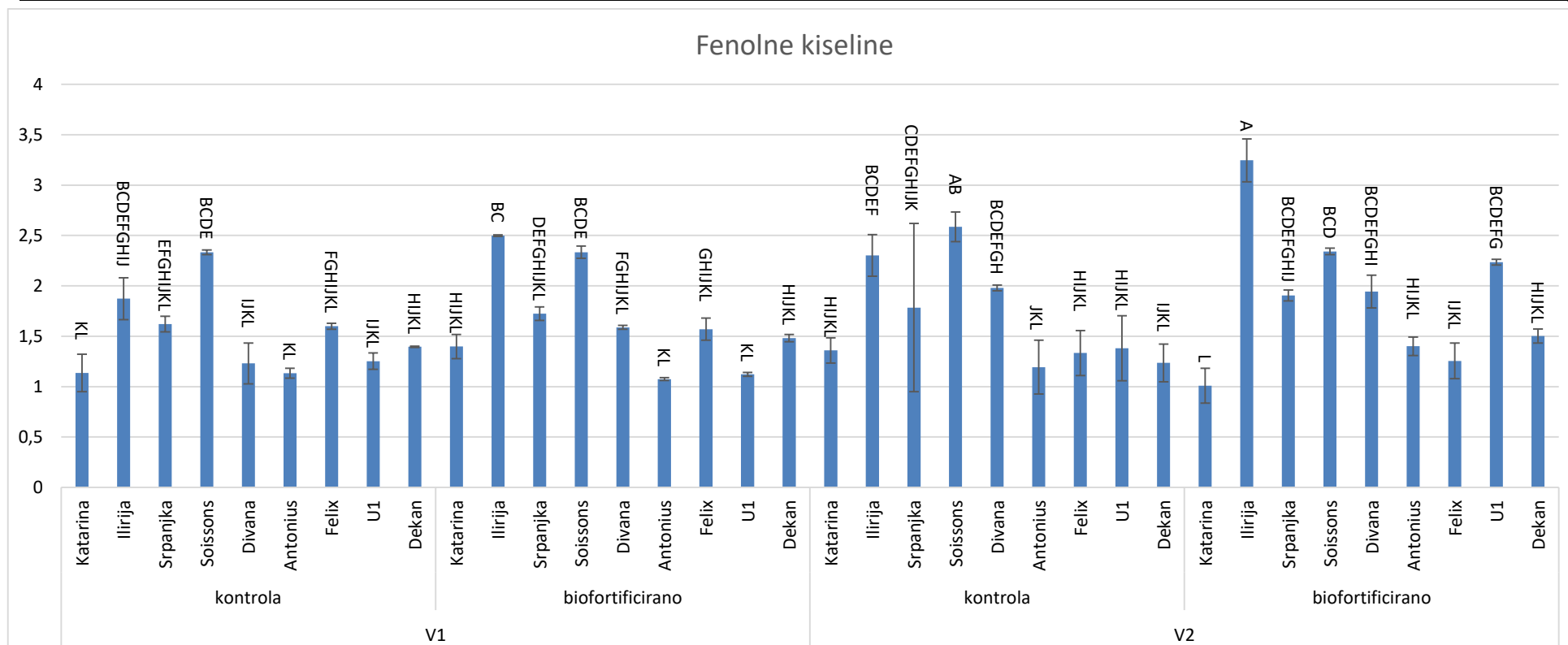
Statistički značajno najviši sadržaj flavanola je utvrđen u soku pšenične trave sorte Ilirija koja je biofortificirana Se i Zn i uzgajana pri tretmanu V2

(15,24 mg KTE/L), a u soku pšenične trave sorte Dekan koja je biofortificirana Se i Zn i uzgajana pri tretmanu V1, utvrđena je najniža vrijednost sadržaja flavanola (5,50 mg KTE/L) (Grafikon 63.).



Grafikon 63. Utjecaj sorte, biofortifikacije Se i Zn i količine pristupačne vode (V1, zalijevano sa 150 mL vode svaka 24 h; V2, zalijevano sa 150 mL vode svakih 48 h) na sadržaj flavanola (mg KTE/L) u soku pšenične trave

Najviši sadržaj fenolnih kiselina imao je sok pšenične trave sorte Ilirija biofortificirana Se i Zn i uzgajana pri tretmanu V2 (3,246 mg KE/mL), a najniži sorta Katarina biofortificirana Se i Zn i uzgajana pri tretmanu V2 (1,009 mg KE/mL) (Grafikon 64.).



Grafikon 64. Utjecaj sorte, biofortifikacije Se i Zn i količine pristupačne vode (V1, zalijevano sa 150 mL vode svaka 24 h; V2, zalijevano sa 150 mL vode svakih 48 h) na sadržaj fenolnih kiselina (mg KE/mL) u soku pšenične trave

5.3.2. Utjecaj temperaturnih uvjeta uzgoja na sadržaj biološki aktivnih komponenti u soku pšenične trave

U dijelu pokusa u kojem je od okolišnih uvjeta promijenjena dnevna i noćna temperatura, statistički značajne razlike između sorata utvrđene su za klorofil a (mg/mL soka), klorofil b (mg/mL soka), ukupne klorofile (mg/mL soka) i karotenoide (mg/mL soka) (Tablica 29.). Sorta U1 imala je najnižu vrijednost sadržaja klorofila a, klorofila b, ukupnih klorofila i karotenoida. Sorta Srpanjka imala je najviše klorofila b, a najviši sadržaj klorofila a, ukupnih klorofila i karotenoida imala je sorta Soissons (Tablica 29.).

Tablica 29. Utjecaj sorte na sadržaj kloroplastnih pigmenata (mg/mL), omjer klorofila a i b (kl a/kl b) te omjer ukupnih klorofila i karotenoida (kl/kar) u soku pšenične trave

SORTA	Klorofil a	Klorofil b	Klorofil a+b	Karotenoide	Kl a/Kl b	Kl/Kar
Antonius	0,514 ± 0,064	0,163 ± 0,017	0,646 ± 0,048	0,150 ± 0,015	3,178 ± 0,156	4,500 ± 0,223
Dekan	0,570 ± 0,039	0,178 ± 0,011	0,757 ± 0,052	0,165 ± 0,012	3,176 ± 0,142	4,545 ± 0,259
Divana	0,494 ± 0,036	0,154 ± 0,014	0,644 ± 0,047	0,151 ± 0,007	3,186 ± 0,138	4,298 ± 0,172
Felix	0,583 ± 0,026	0,192 ± 0,009	0,769 ± 0,038	0,179 ± 0,013	3,132 ± 0,166	4,457 ± 0,246
Ilirija	0,620 ± 0,047	0,195 ± 0,023	0,815 ± 0,071	0,191 ± 0,010	3,197 ± 0,156	4,374 ± 0,256
Katarina	0,501 ± 0,057	0,158 ± 0,020	0,663 ± 0,078	0,152 ± 0,012	3,027 ± 0,266	4,498 ± 0,332
Soissons	0,650 ± 0,042	0,203 ± 0,017	0,861 ± 0,047	0,192 ± 0,015	3,229 ± 0,151	4,396 ± 0,229
Srpanjka	0,636 ± 0,020	0,211 ± 0,018	0,845 ± 0,036	0,191 ± 0,015	3,084 ± 0,174	4,525 ± 0,287
U1	0,436 ± 0,025	0,135 ± 0,013	0,573 ± 0,038	0,124 ± 0,006	3,223 ± 0,187	4,466 ± 0,234
MSD	0,0636	0,0245	0,0792	0,0184	0,2644	0,3816
F	111,13	50,81	146,81	70,1	1,75	1,21
p	≤0,0001	≤0,0001	≤0,0001	≤0,0001	0,0966	0,2992

Sadržaj klorofila a, klorofila b, ukupnih klorofila i karotenoida je bio niži u sokovima pšenične trave koja nije biofortificirana Se i Zn u odnosu na sokove pšenične trave koja je biofortificirana Se i Zn, no statističke značajne razlike između tretmana nisu utvrđene (Tablica 30.).

Tablica 30. Utjecaj biofortifikacije Se i Zn na sadržaj kloroplastnih pigmenata (mg/mL), omjer klorofila a i b (kl a/kl b) te omjer ukupnih klorofila i karotenoida (kl/kar) u soku pšenične trave

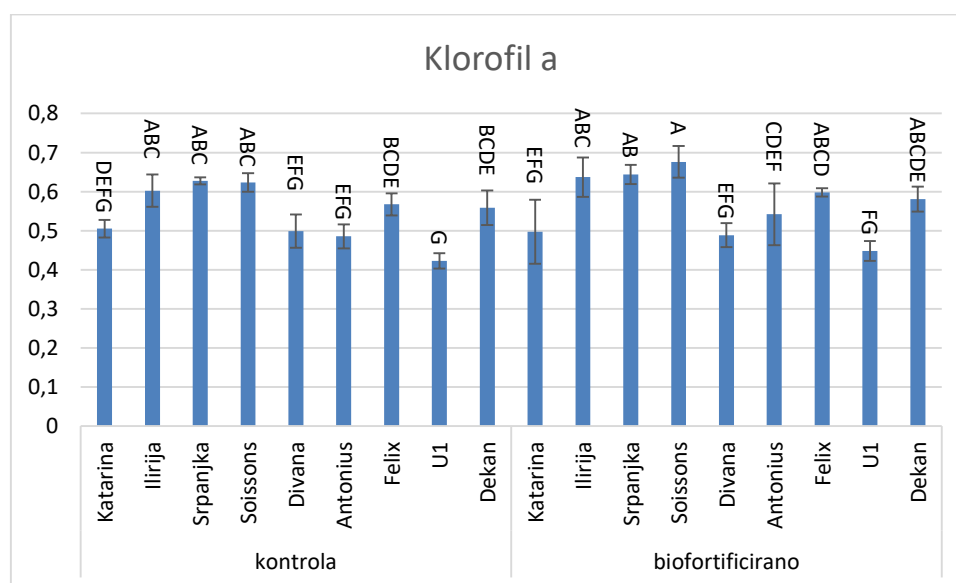
TRETMAN	Klorofil a	Klorofil b	Klorofil a+b	Karotenoide	Kl a/Kl b	Kl/Kar
biofortificirano	0,568 ± 0,087	0,180 ± 0,031	0,742 ± 0,117	0,170 ± 0,027	3,134 ± 0,193	4,443 ± 0,260
kontrola	0,544 ± 0,072	0,173 ± 0,026	0,718 ± 0,101	0,162 ± 0,023	3,185 ± 0,162	4,459 ± 0,251
MSD	0,0404	0,0145	0,055	0,0127	0,0901	0,1288
F	2,51	6,9	1,3	2,58	3,76	0,15
p	0,1161	0,0105	0,2573	0,1111	0,0563	0,7019

Različita dnevno/noćna temperatura pri uzgoju pšenične trave imala je značajan učinak na sadržaj klorofila a, klorofila b, ukupnih klorofila, omjer klorofila a i b te omjer klorofila i karotenoida u soku pšenične trave (Tablica 31.). U sokovima pšenične trave koja je uzgajana pri nižim temperaturama utvrđene su značajno više vrijednosti sadržaja klorofila a, klorofila b, ukupnih klorofila te omjer klorofila i karotenoida. Sadržaj karotenoida također je bio veći kod soka pšenične trave uzgajane pri nižim temperaturama, ali nije se statistički značajno razlikovao sa vrijednosti sadržaja karotenoida u soku pšenične trave koja je uzgajana pri kontrolnim uvjetima (T1) (Tablica 31.).

Tablica 31. Utjecaj temperaturnih uvjeta uzgoja (T1, dnevno/noćna temperatura 20/18 °C; T2, dnevno/noćna temperatura 18/16 °C) na sadržaj kloroplastnih pigmenata (mg/mL), omjer klorofila a i b (kl a/kl b) te omjer ukupnih klorofila i karotenoida (kl/kar) u soku pšenične trave

TRETMAN	Klorofil a	Klorofil b	Klorofil a+b	Karotenoidi	Kl a/Kl b	Kl/Kar
T1	0,531 ± 0,080	0,167 ± 0,026	0,695 ± 0,105	0,165 ± 0,027	3,261 ± 0,158	4,290 ± 0,184
T2	0,580 ± 0,074	0,186 ± 0,028	0,765 ± 0,103	0,167 ± 0,024	3,057 ± 0,137	4,612 ± 0,210
MSD	0,0389	0,0138	0,0524	0,0128	0,0747	0,0996
F	124,63	69,46	172,54	2,33	55,96	68,88
p	≤0,0001	≤0,0001	≤0,0001	0,131	≤0,0001	≤0,0001

Dvosmjernom analizom varijance utvrđen je značajan učinak interakcije sorte i biofortifikacije Se i Zn na sadržaj klorofila a ($F=3,74$; $p=0,001$) (Grafikon 65.) i ukupnih klorofila ($F=3,1$; $p=0,0046$) (Grafikon 66.) u soku pšenične trave. Najviša vrijednost sadržaja klorofila a je utvrđena u soku pšenične trave sorte Soissons biofortificirane Se i Zn (0,676 mg/mL soka), a najniža u soku pšenične trave sorte U1 koja nije biofortificirana Se i Zn (0,423 mg/mL soka) (Grafikon 65.).

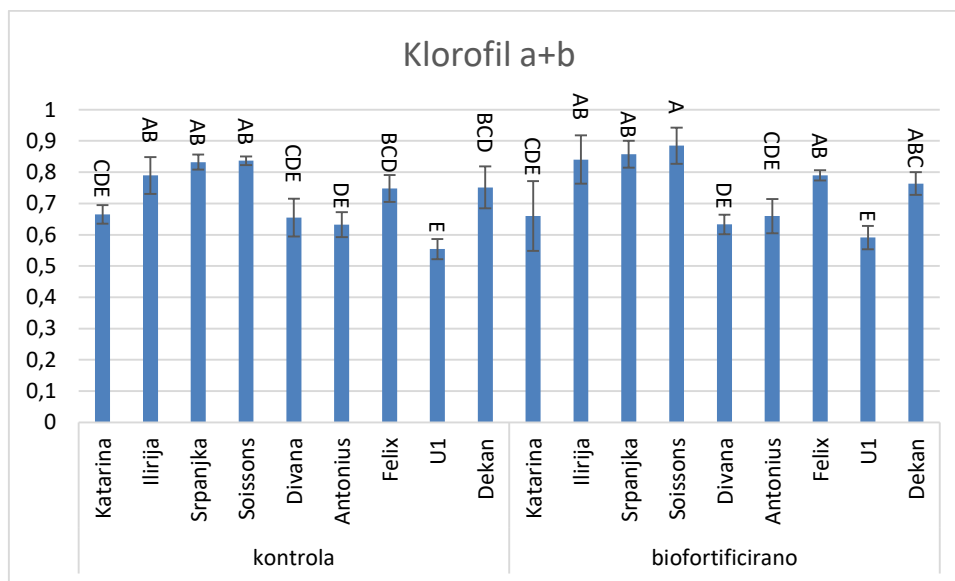


Grafikon 65. Utjecaj biofortifikacije Se i Zn te sorte na sadržaj klorofila a (mg/mL) u soku pšenične

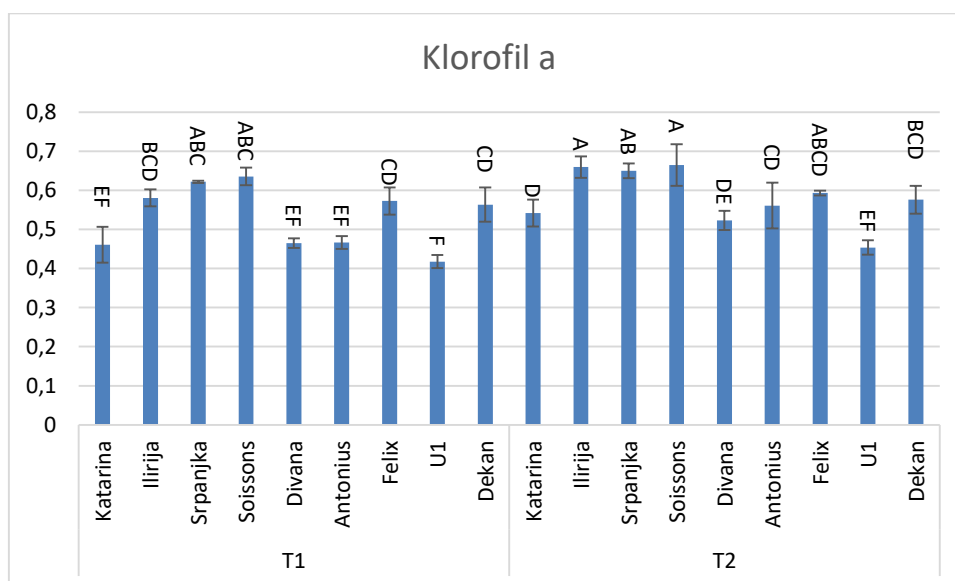
trave

Najviše ukupnih klorofila imao je sok pšenične trave sorte Soissons biofortificirana Se i Zn (0,885 mg/mL soka), a sorta U1 nebiofortificirana Se i Zn imala je najmanje ukupnih klorofila (0,554 mg/mL soka) (Grafikon 66.).

Utvrđena je značajna interakcija sorte i temperaturnih uvjeta uzgoja na sadržaj klorofila a ($F=5,37$; $p\leq 0,0001$) (Grafikon 67.), ukupnih klorofila ($F=3,91$; $p=0,0007$) (Grafikon 68.) i karotenoida ($F=3,34$; $p=0,0027$) (Grafikon 69.) u soku pšenične trave.

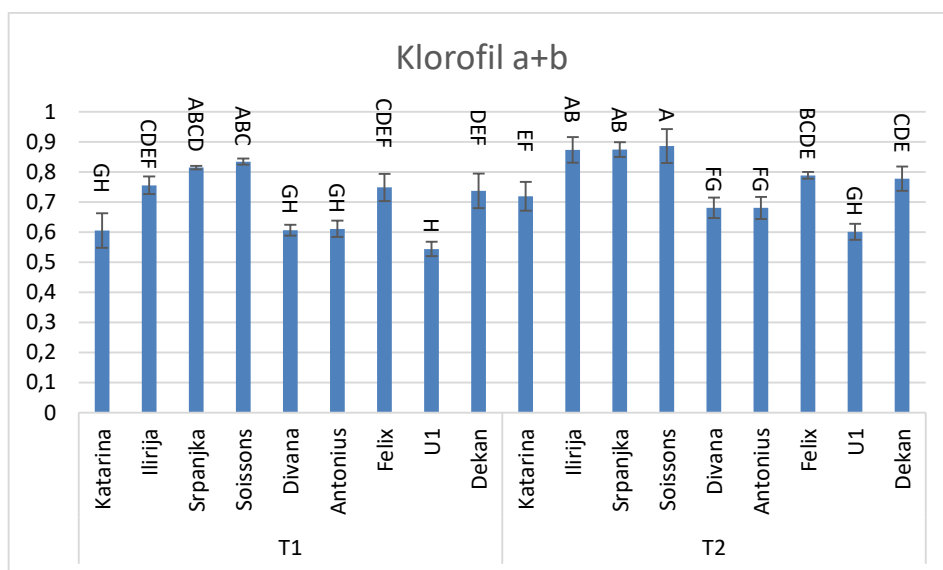


Grafikon 66. Utjecaj biofortifikacije Se i Zn i sorte na sadržaj ukupnih klorofila (mg/mL) u soku pšenične trave

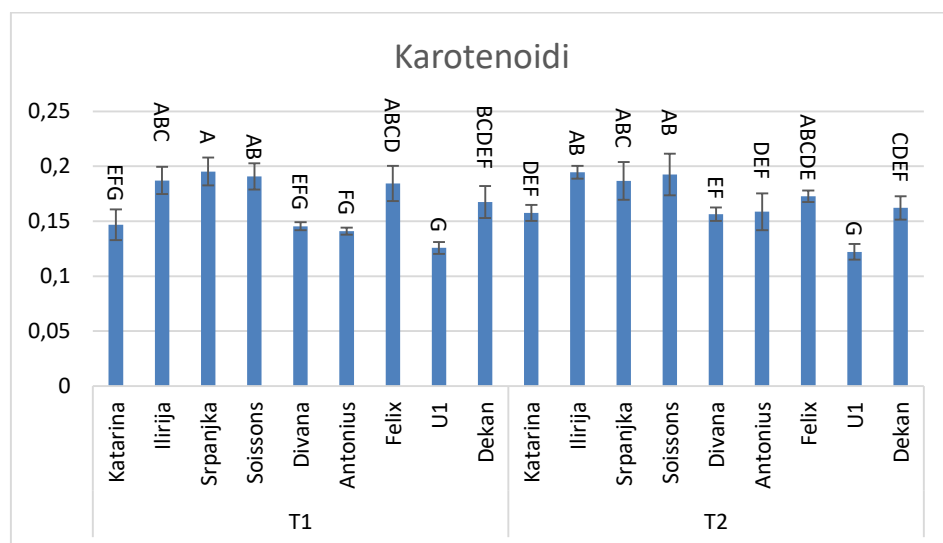


Grafikon 67. Utjecaj sorte i temperaturnih uvjeta uzgoja (T1, dnevno/noćna temperatura 20/18 °C; T2, dnevno/noćna temperatura 18/16 °C) na sadržaj klorofila a (mg/mL) u soku pšenične trave

U soku pšenične trave sorte U1 koja je uzgajana pri kontrolnim uvjetima odnosno pri tretmanu T1, utvrđene su najniže vrijednosti sadržaja klorofila a (0,418 mg/mL soka) (Grafikon 67.) i ukupnih klorofila (0,544 mg/mL soka) (Grafikon 68.). U soku pšenične trave sorte Soissons uzgajane pri nižim temperaturama (T2) utvrđene su najviše vrijednosti klorofila a (0,664 mg/mL soka) (Grafikon 67.) i ukupnih klorofila (0,887 mg/mL soka) (Grafikon 68.). Najviše karotenoida imao je sok pšenične trave sorte Srpanjka koja je uzgajana u kontrolnim uvjetima (T1) (0,195 mg/mL soka), a u soku pšenične trave U1 koja je uzgajana pri tretmanu T2 utvrđena je najniža vrijednost sadržaja karotenoida (0,122 mg/mL soka) (Grafikon 69.).

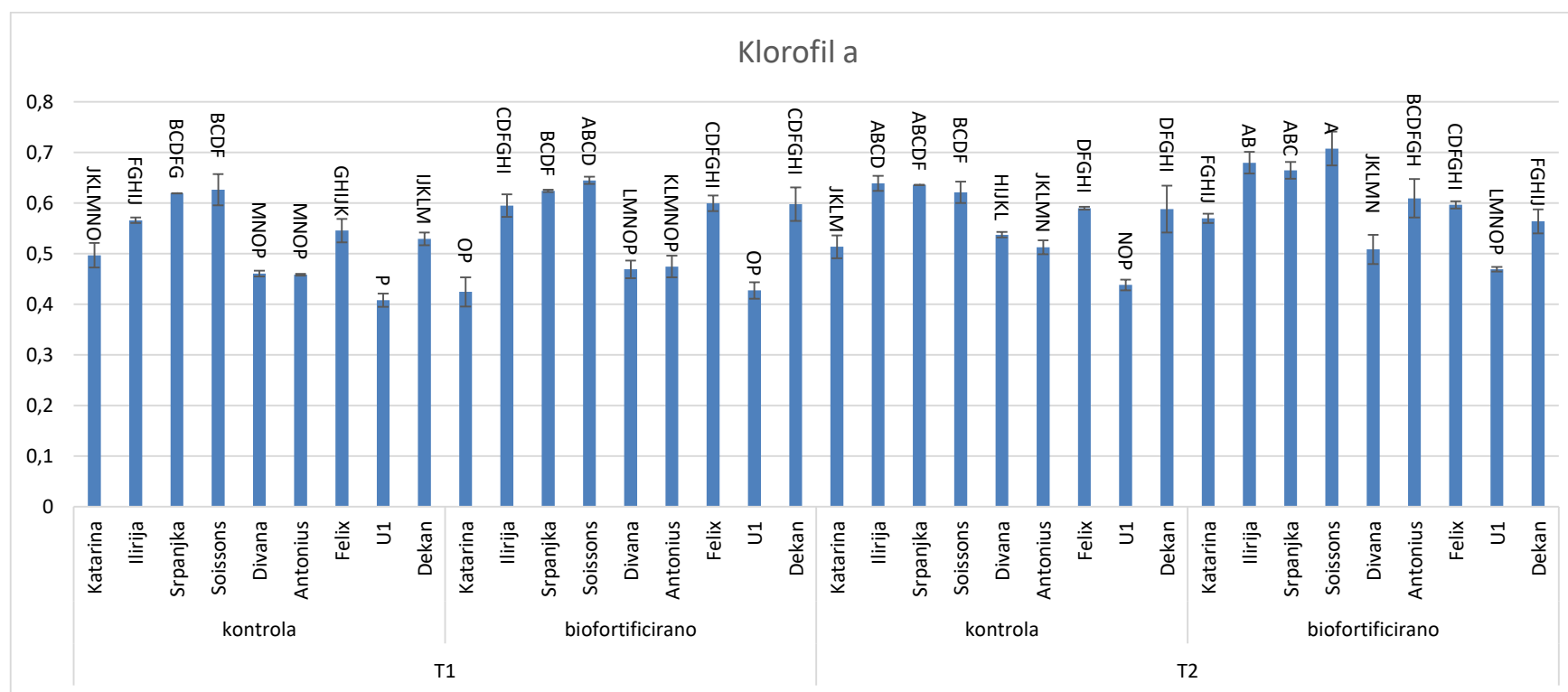


Grafikon 68. Utjecaj sorte i temperaturnih uvjeta uzgoja (T1, dnevno/noćna temperatura 20/18 °C; T2, dnevno/noćna temperatura 18/16 °C) na sadržaj ukupnih klorofila (mg/mL) u soku pšenične trave

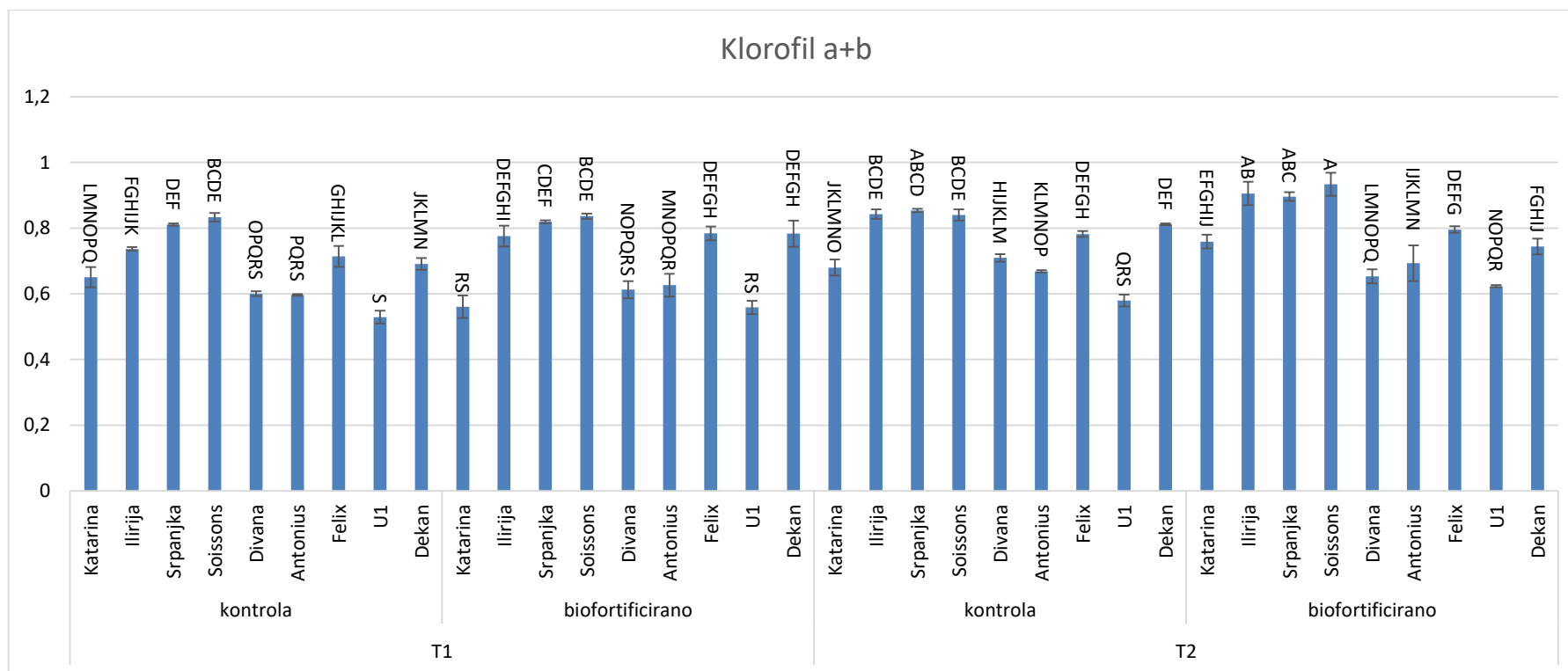


Grafikon 69. Utjecaj sorte i temperaturnih uvjeta uzgoja (T1, dnevno/noćna temperatura 20/18 °C; T2, dnevno/noćna temperatura 18/16 °C) na sadržaj karotenoida (mg/mL) u soku pšenične trave

Trosmjernom analizom varijance utvrđen je značajan učinak interakcije sorte, biofortifikacije Se i Zn te temperaturnih uvjeta uzgoja na sadržaj klorofila a ($F=5,44$; $p \leq 0,0001$) i ukupnih klorofila ($F=6,84$; $p \leq 0,0001$) u soku pšenične trave. Najviša vrijednost klorofila a (0,708 mg/mL soka) i ukupnih klorofila (0,933 mg/mL soka) je utvrđena u soku pšenične trave sorte Soissons biofortificirane Se i Zn i uzgajane pri tretmanu T2. U soku pšenične trave sorte U1 koja nije biofortificirana i uzgajana je pri tretmanu T1 utvrđena je najniža vrijednost klorofila a (0,408 mg/mL soka) i ukupnih klorofila (0,529 mg/mL soka) (Grafikon 70.).



Grafikon 70. Utjecaj sorte, biofortifikacije Se i Zn te temperaturnih uvjeta uzgoja (T1, dnevno/noćna temperatura 20/18 °C; T2, dnevno/noćna temperatura 18/16 °C) na sadržaj klorofila a (mg/mL) u soku pšenične trave



Grafikon 71. Utjecaj sorte, biofortifikacije Se i Zn te temperaturnih uvjeta uzgoja (T1, dnevno/noćna temperatura 20/18 °C; T2, dnevno/noćna temperatura 18/16 °C) na sadržaj ukupnih klorofila (mg/mL) u soku pšenične trave

Aritmetičke sredine vitamina C i antioksidativnih aktivnosti ispitivanih sorata pšenice uspoređene su Tukeyevim testom na razini značajnosti od 99 %. Utvrđeno je postojanje statistički značajnih razlika između sorata pšenice za antioksidativnu aktivnost utvrđenu DPPH, FRAP i ORAC metodom te za sadržaj vitamina C. U soku pšenične trave sorte Antonius utvrđeno je DPPH metodom da je potrebno najviše uzorka soka za 50 % inhibicije, i FRAP i ORAC metodom da ima najnižu antioksidativnu aktivnost. Sok pšenične trave sorte Ilirija imao je najvišu antioksidativnu aktivnost i DPPH metodom je utvrđeno kako je potrebna najmanja količina uzorka za 50 % inhibicije. Najvišu vrijednost kapaciteta kelatiranja Fe iona ima sok pšenične trave sorte Divana, a najnižu sorta Dekan. Najniža vrijednost sadržaja vitamina C je utvrđena u soku pšenične trave sorte Felix, a najviša u soku sorte Divana (Tablica 32.).

Tablica 32. Utjecaj sorte na antioksidativnu aktivnost određenu metodom DPPH (μL soka pri IC 50), FRAP (mmol FeSO_4/mL soka) i ORAC (mmol Trolox/ mL soka) sposobnost kelatiranja Fe iona (mmol EDTA Na/L) i sadržaj vitamina C ($\mu\text{g}/\text{mL}$) u soku pšenične trave

SORTA	DPPH	FRAP	Kelatiranje	ORAC	Vitamin C
Antonius	32,68 \pm 4,56	0,043 \pm 0,005	6,573 \pm 0,689	99,90 \pm 12,67	437,16 \pm 39,74
Dekan	27,01 \pm 0,69	0,049 \pm 0,007	6,260 \pm 0,796	159,09 \pm 15,24	537,95 \pm 187,53
Divana	21,40 \pm 1,30	0,049 \pm 0,008	6,820 \pm 0,771	129,71 \pm 17,36	541,61 \pm 68,66
Felix	22,61 \pm 1,38	0,053 \pm 0,008	6,509 \pm 0,769	148,21 \pm 14,67	428,38 \pm 28,74
Ilirija	14,93 \pm 3,11	0,070 \pm 0,011	6,732 \pm 0,828	198,29 \pm 45,67	478,45 \pm 27,71
Katarina	27,14 \pm 3,28	0,045 \pm 0,009	6,803 \pm 0,764	187,03 \pm 27,23	502,93 \pm 75,31
Soissons	17,02 \pm 4,01	0,064 \pm 0,010	6,621 \pm 0,715	120,00 \pm 20,21	501,59 \pm 46,68
Srpanjka	21,03 \pm 4,49	0,055 \pm 0,010	6,574 \pm 0,634	129,72 \pm 49,43	470,77 \pm 33,97
U1	29,25 \pm 2,73	0,044 \pm 0,006	6,353 \pm 0,510	154,53 \pm 18,75	529,71 \pm 40,23
MSD	4,7586	0,0128	1,098	42,035	116,91
F	51,91	24,39	1,83	29,62	19,74
<i>p</i>	$\leq 0,0001$	$\leq 0,0001$	0,0846	$\leq 0,0001$	$\leq 0,0001$

Tablica 33. Utjecaj biofortifikacije Se i Zn na antioksidativnu aktivnost određenu metodom DPPH (μL soka pri IC 50), FRAP (mmol FeSO_4/mL soka) i ORAC (mmol Trolox/ mL soka), sposobnost kelatiranja Fe iona (mmol EDTA Na/L) i sadržaj vitamina C ($\mu\text{g}/\text{mL}$) u soku pšenične trave

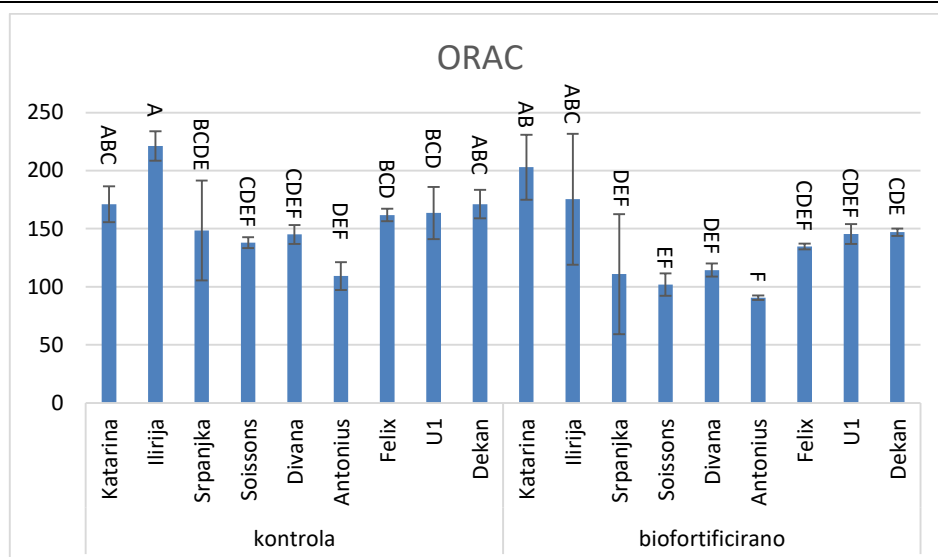
TRETMAN	DPPH	FRAP	Kelatiranje	ORAC	Vitamin C
biofortificirano	23,75 \pm 6,21	0,054 \pm 0,012	6,473 \pm 0,624	135,93 \pm 42,94	498,88 \pm 99,90
kontrola	23,6 \pm 6,40	0,050 \pm 0,011	6,693 \pm 0,796	158,84 \pm 33,71	485,24 \pm 64,91
MSD	3,1814	0,006	0,3612	19,485	42,521
F	0,21	3,29	4,98	32,41	5,17
<i>p</i>	0,6473	0,0724	0,0288	$\leq 0,0001$	0,0259

Biofortifikacija Se i Zn značajno je utjecala na promjenu vrijednosti antioksidativne aktivnosti u soku pšenične trave utvrđene metodom ORAC. HSD testom na razini značajnosti od 99 % utvrđeno je da sok pšenične trave koja nije biofortificirana ima višu vrijednost antioksidativne aktivnosti od one vrijednosti soka pšenične trave koja je biofortificirana Se i Zn. Više vrijednosti sadržaja vitamina C i antioksidativne aktivnosti utvrđene metodom FRAP su utvrđene u soku pšenične trave biofortificirane Se i Zn, no nisu se značajno razlikovale od vrijednosti dobivenih u soku pšenične trave koja nije biofortificirana (Tablica 33.).

Kapacitet kelatiranja Fe iona i sadržaj vitamina C su bili statistički značajno viši u soku pšenične trave koja je uzgajana pri tretmanu T2 od onih vrijednosti koje su utvrđene u soku pšenične trave koja je uzgajana pri tretmanu T1. Na vrijednosti antioksidativne aktivnosti (metoda DPPH, FRAP, ORAC) u soku pšenične trave promjena temperature pri uzgoju nije imala značajan učinak (Tablica 34.). Dvosmjernom analizom varijance utvrđen je značajan učinak interakcije sorte i biofortifikacije Se i Zn na vrijednost antioksidativne aktivnosti utvrđene metodom ORAC u soku pšenične trave ($F=4,37$; $p=0,0002$). Najviša vrijednost antioksidativne aktivnosti (ORAC) utvrđena je u soku pšenične trave sorte Ilirija na kojoj nije provedena biofortifikacije Se i Zn (221,15 mmol Trolox/mL soka), a u soku pšenične trave sorte Antonius, na kojoj je provedena biofortifikacije Se i Zn utvrđena je najniža vrijednost antioksidativne aktivnosti (90,58 mmol Trolox/mL soka) (Grafikon 72.).

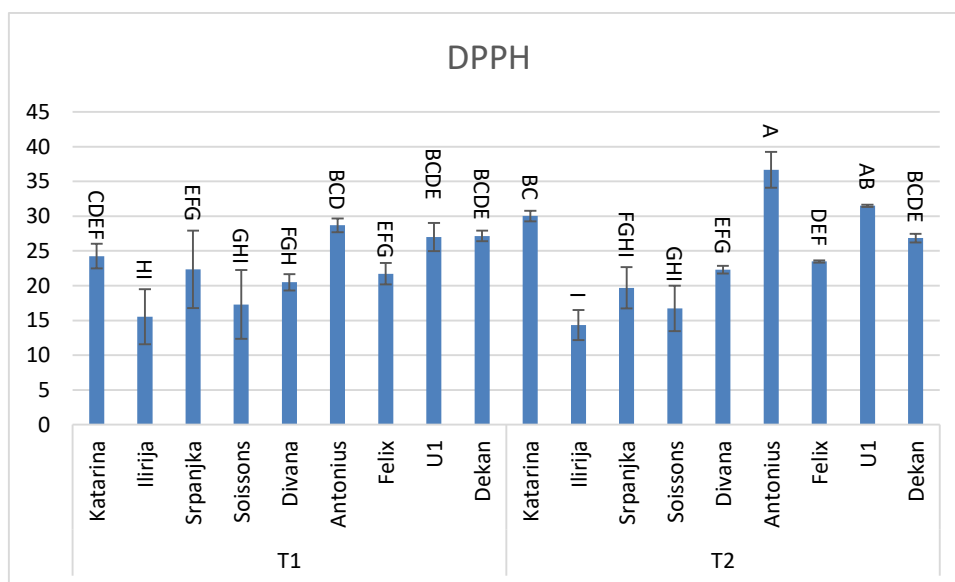
Tablica 34. Utjecaj temperaturnih uvjeta uzgoja (T1, dnevno/noćna temperatura 20/18 °C; T2, dnevno/noćna temperatura 18/16 °C) na antioksidativnu aktivnost određenu metodom DPPH (μL soka pri IC 50), FRAP (mmol FeSO_4 /mL soka) i ORAC (mmol Trolox/mL soka), sposobnost kelatiranja Fe iona (mmol EDTA Na/L) i sadržaj vitamina C ($\mu\text{g}/\text{mL}$) u soku pšenične trave

TRETMAN	DPPH	FRAP	Kelatiranje	ORAC	Vitamin C
T1	22,72 ± 5,14	0,050 ± 0,012	6,083 ± 0,216	148,17 ± 39,37	453,84 ± 48,62
T2	24,62 ± 7,16	0,055 ± 0,011	7,082 ± 0,703	146,60 ± 41,18	530,28 ± 94,59
MSD	3,1447	0,006	0,2625	20,337	37,959
F	2,51	4,62	106,89	0,45	149,79
p	0,1161	0,0339	≤0,0001	0,5065	≤0,0001



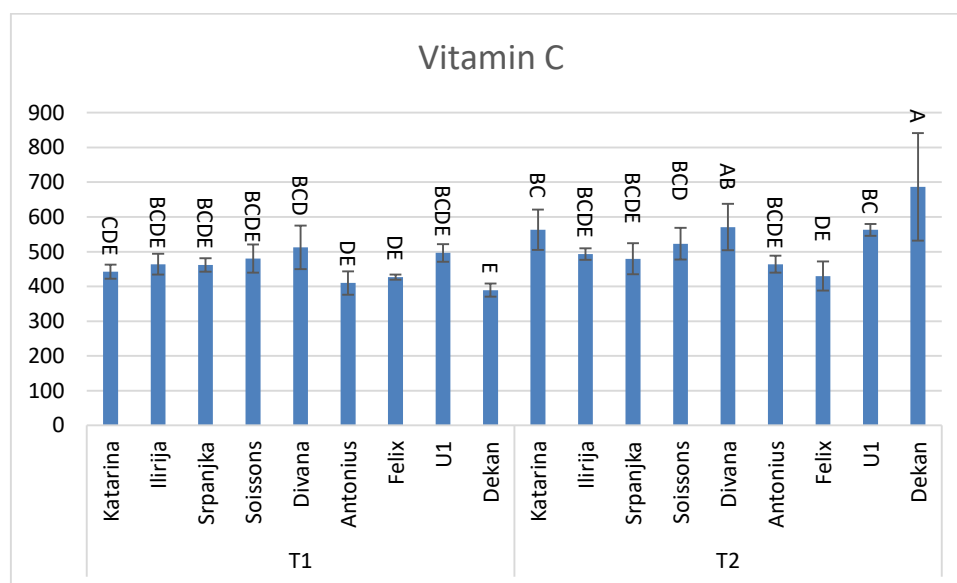
Grafikon 72. Utjecaj sorte i biofortifikacije Se i Zn na antioksidativnu aktivnost utvrđenu metodom ORAC (mmol Trolox/mL) u soku pšenične trave

Utvrđena je značajna interakcija sorte i temperaturnog stresa za antioksidativnu aktivnost određenu DPPH metodom ($F=4,19$; $p=0,0004$) i ORAC metodom ($F=4,27$; $p=0,0003$) te za sadržaj vitamina C ($F=22,35$; $p<0,0001$). DPPH metodom je utvrđeno da je za 50 % inhibicije potrebno najviše uzorka soka pšenične trave sorte Antonius, koja je uzgajana pri tretmanu T2 (36,67 μL soka za 50 IC), dok je pšenični sok sorte Ilirija koja je uzgajana pri temperaturnom stresu potreban najmanji volumen soka za 50 % inhibicije (14,33 μL) (Grafikon 73.).

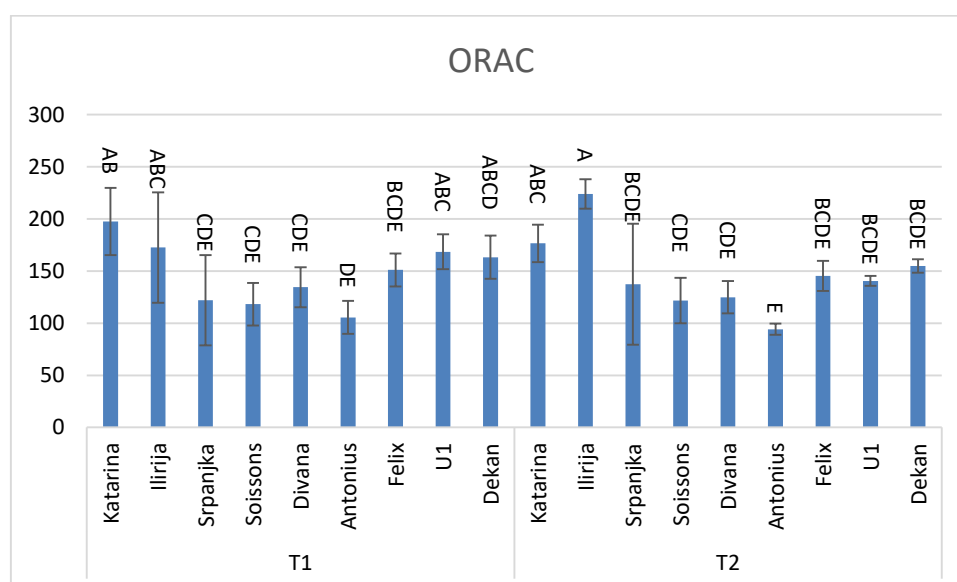


Grafikon 73. Utjecaj sorte i temperaturnih uvjeta uzgoja (T1, dnevno/noćna temperatura 20/18 °C; T2, dnevno/noćna temperatura 18/16 °C) na antioksidativnu aktivnost utvrđenu metodom DPPH (μL soka za 50 IC) u soku pšenične trave

Sok pšenične trave sorte Dekan uzgajane pri tretmanu T2 je imao najveći sadržaj vitamina C (686,59 $\mu\text{g/mL}$), sok pšenične trave iste sorte uzgajane pri kontrolnim uvjetima odnosno pri tretmanu T1, sadržavao je najmanje vitamina C (389,3 $\mu\text{g/mL}$) (Grafikon 74.). U soku pšenične trave sorte Ilirija koja je uzgajana pri tretmanu T2 utvrđena je najviša vrijednost antioksidativne aktivnosti metodom ORAC (223,94 mmol Trolox/mL), a najniža vrijednost antioksidativne aktivnosti (ORAC) je utvrđena u soku pšenične trave sorte Antonius uzgajane pri nižim temperaturama (T2) (94,24 mmol Trolox/mL) (Grafikon 75.).

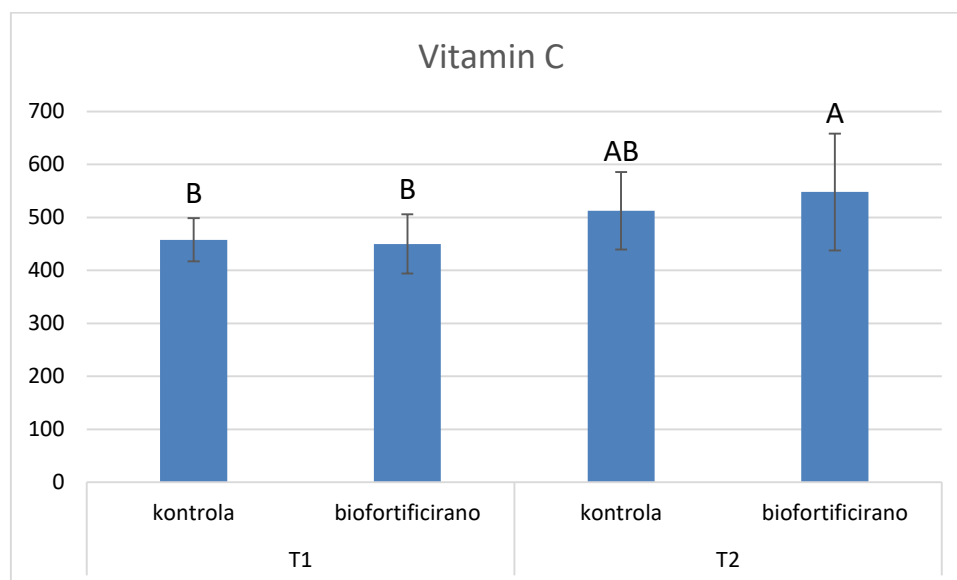


Grafikon 74. Utjecaj sorte i temperaturnih uvjeta uzgoja (T1, dnevno/noćna temperatura 20/18 °C; T2, dnevno/noćna temperatura 18/16 °C) na sadržaj vitamina C ($\mu\text{g/mL}$) u soku pšenične trave



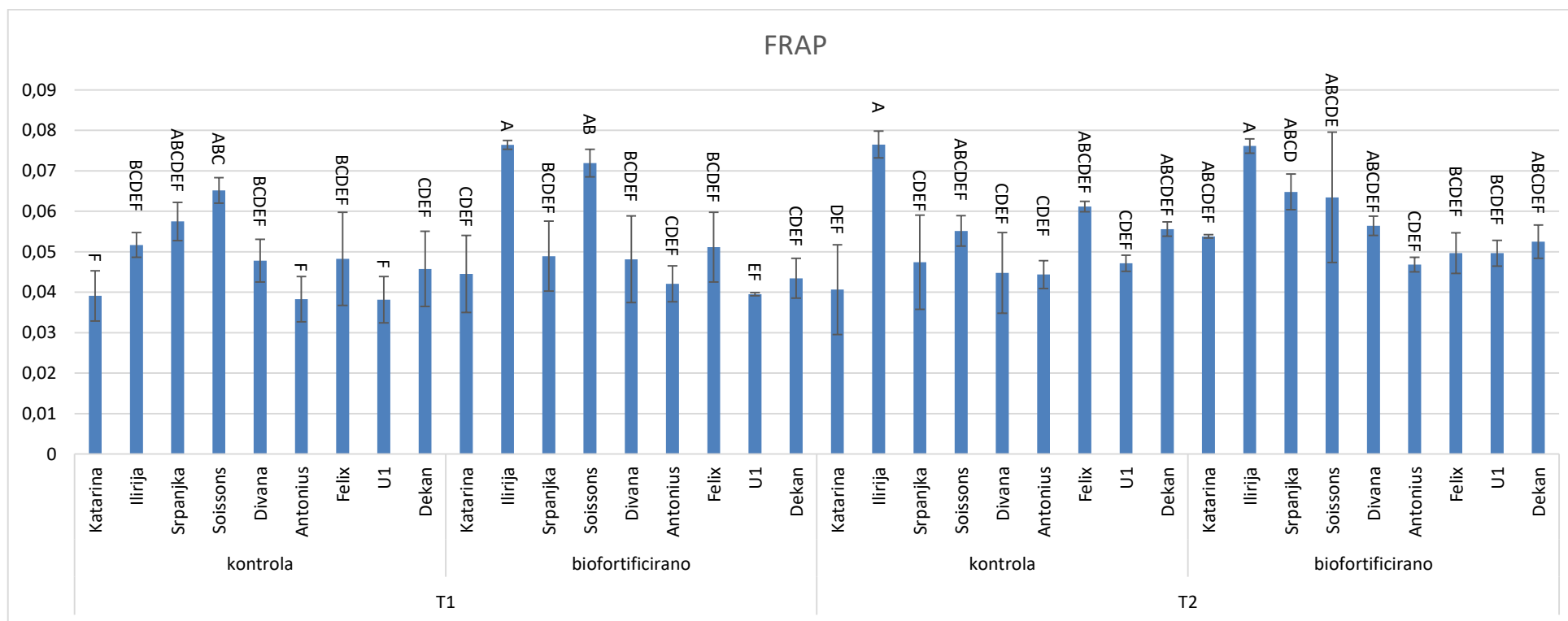
Grafikon 75. Utjecaj sorte i temperaturnih uvjeta uzgoja (T1, dnevno/noćna temperatura 20/18 °C; T2, dnevno/noćna temperatura 18/16 °C) na antioksidativnu aktivnost utvrđenu ORAC metodom (mmol Trolox/mL) u soku pšenične trave

Dvosmjernom analizom varijance utvrđen je značajan učinak interakcije biofortifikacije Se i Zn te temperaturnih uvjeta tijekom uzgoja pšenične trave na sadržaj vitamina C u soku pšenične trave ($F=13,93$; $p=0,0004$). U prosjeku za sve sorte, najviši sadržaj vitamina C u soku pšenične trave je utvrđen u soku pšenične trave biofortificirane Se i Zn i uzgajane pri tretmanu T2 (547,95 $\mu\text{g/mL}$), a u soku pšenične trave biofortificirane Se i Zn i uzgajane pri tretmanu T1, utvrđena je najniža vrijednost sadržaja vitamina C (449,82 $\mu\text{g/mL}$) (Grafikon 76.).



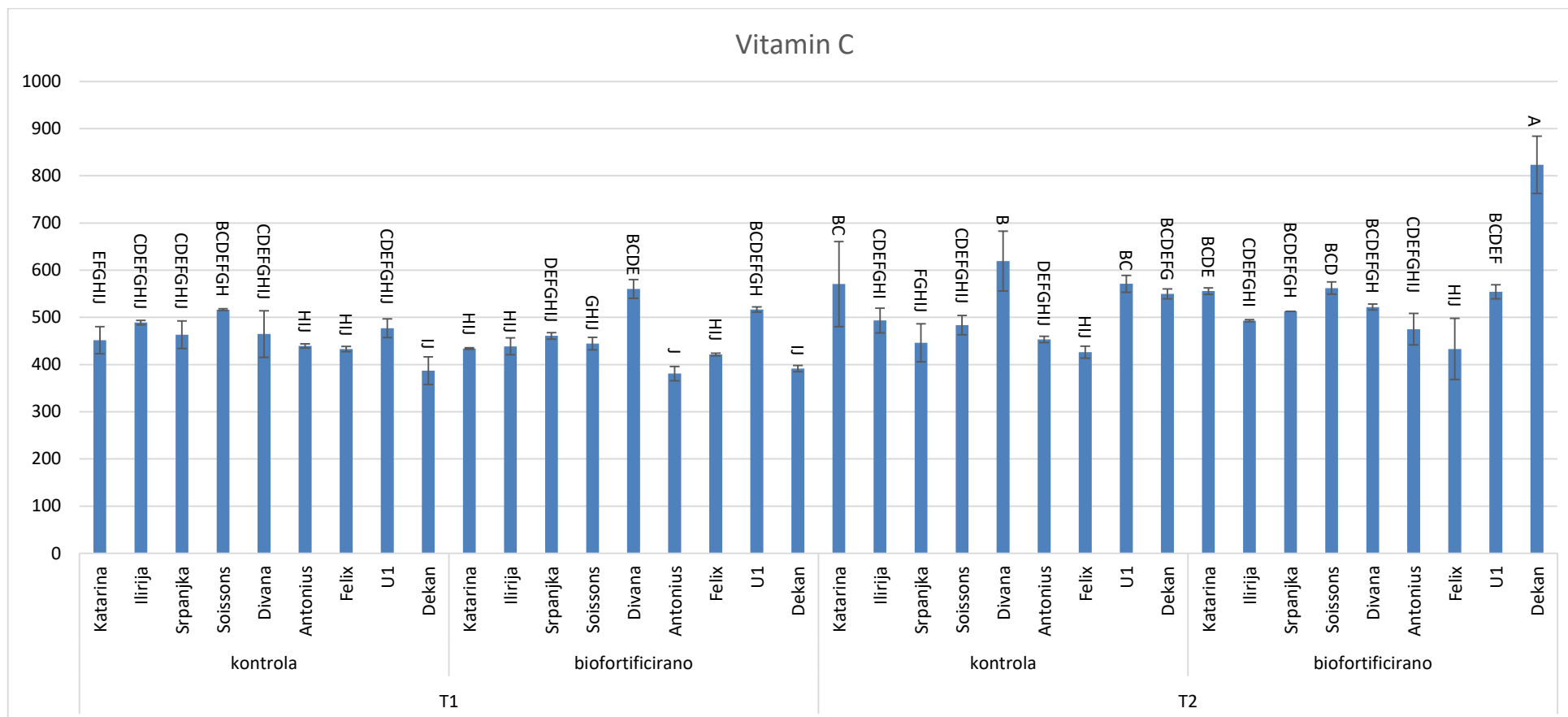
Grafikon 76. Utjecaj biofortifikacije Se i Zn i temperaturnih uvjeta uzgoja (T1, dnevno/noćna temperatura 20/18 °C; T2, dnevno/noćna temperatura 18/16 °C) na sadržaj vitamina C ($\mu\text{g/mL}$) u soku pšenične trave

Trosmjernom analizom varijance utvrđen je značajan učinak interakcije sorte, biofortifikacije Se i Zn te temperatura pri uzgoju na antioksidativnu aktivnost utvrđenu metodom FRAP ($F=3,47$; $p=0,002$) (Grafikon 77.) i sadržaj vitamina C ($F=11,81$; $p\leq 0,0001$) (Grafikon 78.). U soku pšenične trave sorte Ilirija biofortificirane Se i Zn koja je uzgajana pri tretmanu T2 utvrđena je najviša vrijednost antioksidativne aktivnosti metodom FRAP (0,077 mmol FeSO₄/mL soka pšenične trave), a najniža vrijednost je utvrđena u soku pšenične trave sorte U1 koja nije biofortificirana Se i Zn i koja je uzgajana pri tretmanu T1 (0,038 mmol FeSO₄/mL soka pšenične trave) (Grafikon 77.).



Grafikon 77. Utjecaj sorte, biofortifikacije Se i Zn te temperaturnih uvjeta uzgoja (T1, dnevno/noćna temperatura 20/18 °C; T2, dnevno/noćna temperatura 18/16 °C) na antioksidativnu aktivnost utvrđenu FRAP metodom (mmol FeSO₄/mL) u soku pšenične trave

Najviša vrijednost vitamina C utvrđena je u soku pšenične trave sorte Dekan koja je biofortificirana Se i Zn i uzgajana pri tretmanu T2 (823,39 $\mu\text{g/mL}$), a u soku pšenične trave sorte Antonius biofortificirane Se i Zn i uzgajane pri tretmanu T1, utvrđena je najniža vrijednost sadržaja vitamina C (380,96 $\mu\text{g/mL}$) (Grafikon 78.).



Grafikon 78. Utjecaj sorte, biofortifikacije Se i Zn te temperaturnih uvjeta uzgoja (T1, dnevno/noćna temperatura 20/18 °C; T2, dnevno/noćna temperatura 18/16 °C) na sadržaj vitamina C ($\mu\text{g/mL}$) u soku pšenične trave

Statistički značajne razlike između sorata utvrđene su za sadržaj MDA i prolina u soku pšenične trave (Tablica 35.). Najviša vrijednost sadržaja MDA utvrđena je u soku pšenične trave sorte Divana, a najniža u soku pšenične trave sorte Ilirija. Sok pšenične trave sorte Srpanjka imao je najviši sadržaj prolina, a najmanje ga je bilo u soku pšenične trave sorte Dekan (Tablica 35.). Biofortifikacije Se i Zn imala je značajan učinak na sadržaj MDA u soku pšenične trave. HSD testom na razini značajnosti od 99 % utvrđen je viši sadržaj MDA u soku pšenične trave biofortificirane Se i Zn. Sadržaj prolina je bio viši u soku pšenične trave koja nije biofortificirana Se i Zn, no statistički značajne razlike između tretmana nisu utvrđene (Tablica 36.). Temperaturni uvjeti uzgoja nisu imali značajan učinak na sadržaj MDA u soku pšenične trave, no na sadržaj prolina jeste što je utvrđeno Tukeyevim HSD testom (Tablica 37.).

Tablica 35. Utjecaj sorte na sadržaj MDA (mmol/L) i prolina (mmol/L soka) u soku pšenične trave

SORTA	MDA	Prolin
Antonius	10,94 ± 1,17	0,584 ± 0,031
Dekan	11,93 ± 1,57	0,579 ± 0,050
Divana	12,06 ± 0,86	0,595 ± 0,052
Felix	10,81 ± 1,18	0,644 ± 0,087
Ilirija	9,54 ± 0,55	0,614 ± 0,063
Katarina	9,77 ± 1,42	0,664 ± 0,093
Soissons	10,72 ± 1,26	0,634 ± 0,042
Srpanjka	11,96 ± 1,19	0,666 ± 0,123
U1	10,01 ± 0,94	0,581 ± 0,071
MDS	1,7597	0,1108
F	21,25	7,45
<i>p</i>	≤0,0001	≤0,0001

Tablica 36. Utjecaj biofortifikacije Se i Zn na sadržaj MDA (mmol/L) i prolina (mmol/L soka) u soku pšenične trave

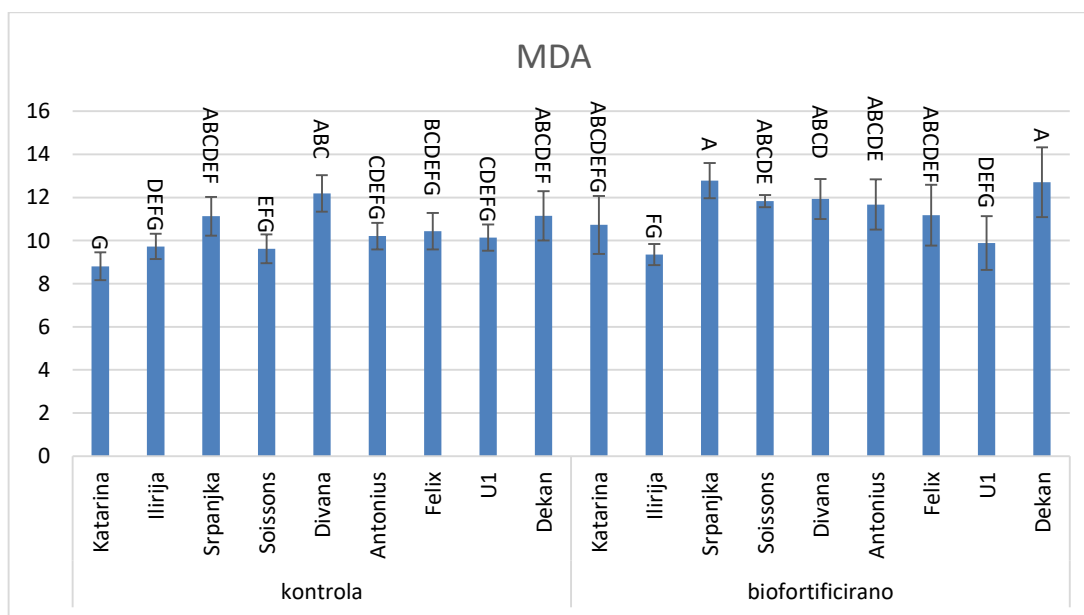
TRETMAN	MDA	Prolin
biofortificirano	11,34 ± 1,52	0,608 ± 0,064
kontrola	10,38 ± 1,19	0,628 ± 0,089
MDS	0,6908	0,0392
F	45,4	1,86
<i>p</i>	≤0,0001	0,1751

Tablica 37. Utjecaj temperaturnih uvjeta uzgoja (T1, dnevno/noćna temperatura 20/18 °C; T2, dnevno/noćna temperatura 18/16 °C) na sadržaj MDA (nmol/mL) i prolina (mM/L) u soku pšenične trave

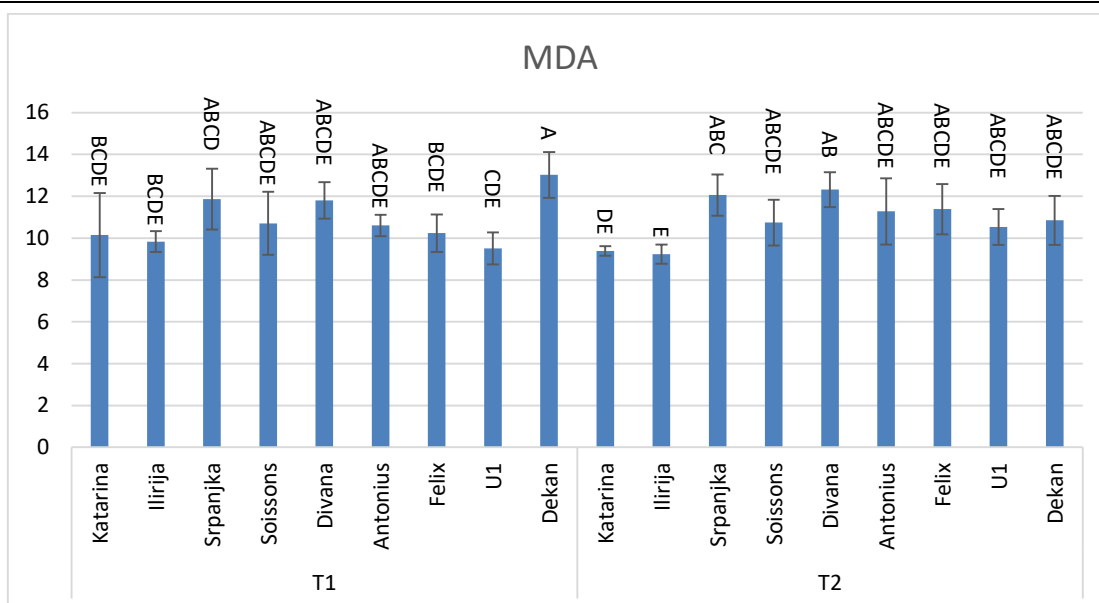
TRETMAN	MDA	Prolin
T1	10,86 ± 1,53	0,665 ± 0,078
T2	10,86 ± 1,37	0,571 ± 0,042
MDS	0,7332	0,0315
F	0,1	115,84
p	0,7525	≤0,0001

Utvrđena je značajna interakcija sorte i biofortifikacije Se i Zn na sadržaj MDA u soku pšenične trave ($F=5,78$; $p\leq 0,0001$). Sok pšenične trave sorte Srpanjka biofortificirane Se i Zn sadržavao je najviše MDA (12,79 mmol/L), a najmanja vrijednost sadržaja MDA je utvrđena u soku pšenične trave sorte Katarina koja nije bila biofortificirana (8,80 mmol/L) (Grafikon 79.).

Interakcija sorte i promijenjenih temperaturnih uvjeta je imala značajan učinak na sadržaj MDA u soku pšenične trave ($F=6,08$; $p\leq 0,0001$). Vrijednosti MDA u soku pšenične trave su se kretale od 9,23 mmol/L (sorta Ilirija, T2) do 13,02 mmol/L (sorta Dekan, T1) (Grafikon 80.).

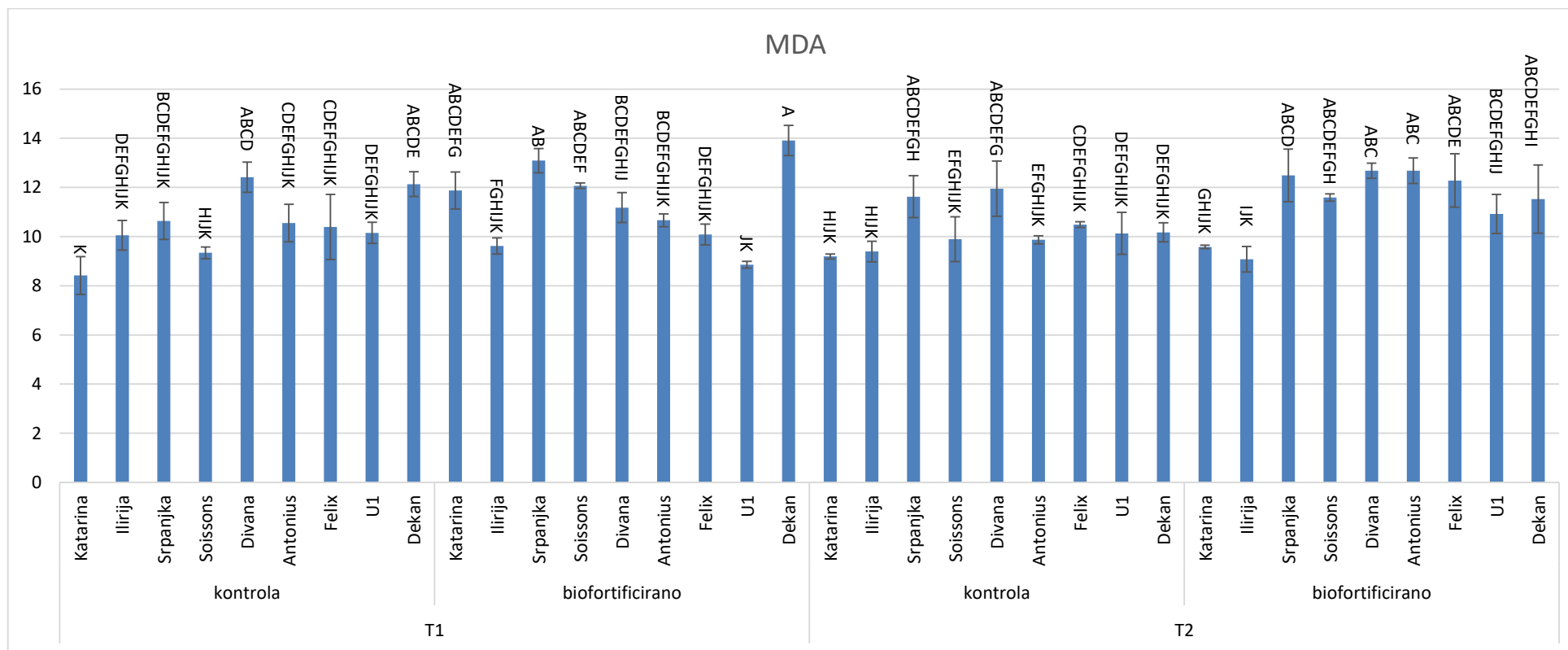


Grafikon 79. Utjecaj sorte i biofortifikacije Se i Zn na sadržaj MDA (mmol/L) u soku pšenične trave



Grafikon 80. Utjecaj sorte i temperaturnih uvjeta uzgoja (T1, dnevno/noćna temperatura 20/18 °C; T2, dnevno/noćna temperatura 18/16 °C) na sadržaj MDA (mmol/L) u soku pšenične trave

Trosmjernom analizom varijance utvrđen je značajan učinak interakcije sorte, biofortifikacije Se i Zn te temperaturnih uvjeta uzgoja na sadržaj MDA (mmol/L) u soku pšenične trave ($F=6,86$; $p\leq 0,0001$). Sok pšenične trave sorte Katarina koja nije biofortificirana Se i Zn i koja je uzgajana pri tretmanu T1 je imao najnižu vrijednost sadržaja MDA (8,42 mmol/L). Najviša vrijednost sadržaja MDA u soku pšenične trave utvrđena je u soku pšenične trave sorte Dekan, biofortificirane Se i Zn i uzgajane pri tretmanu T1 (13,91 mmol/L) (Grafikon 81.).



Grafikon 81. Utjecaj sorte, biofortifikacije Se i Zn i temperaturnih uvjeta uzgoja (T1, dnevno/noćna temperatura 20/18 °C; T2, dnevno/noćna temperatura 18/16 °C) na sadržaj MDA (mmol/L) u soku pšenične trave

Aritmetičke sredine fenolnih spojeva ispitivanih sorata pšenične trave uspoređene su Tukeyevim testom na razini značajnosti od 99 %. Utvrđeno je postojanje statistički značajnih razlika između sorata pšenice za sve ispitivane fenolne spojeve. Najviša vrijednost sadržaja ukupnih fenola utvrđena je u soku pšenične trave sorte Ilirija, a najmanja u soku pšenične trave sorte Katarina. Sok pšenične trave sorte Ilirija imao je najviši sadržaj flavonoida i flavanola, a najniža vrijednost flavonoida utvrđena je u soku pšenične trave sorte Antonius. Najmanje flavanola je imao sok pšenične trave sorte Dekan, a sok pšenične trave sorte U1 imao je najmanje fenolnih kiselina. Najviša vrijednost sadržaja fenolnih kiselina utvrđena je u soku pšenične trave sorte Soissons (Tablica 38.).

Tablica 38. Utjecaj sorte na sadržaj fenola (mg GAE/mL), flavonoida (μg QCE/mL), fenolnih kiselina (mg KE/mL) i flavanola (mg KTE/L) u soku pšenične trave

SORTA	Fenoli	Flavonoidi	Fenolne kiseline	Flavanoli
Antonius	10,06 \pm 0,48	76,48 \pm 7,69	0,850 \pm 0,284	7,36 \pm 1,52
Dekan	10,32 \pm 1,17	83,24 \pm 6,10	0,970 \pm 0,495	6,41 \pm 1,01
Divana	10,77 \pm 1,06	110,25 \pm 10,65	1,094 \pm 0,377	8,65 \pm 0,63
Felix	10,39 \pm 1,14	120,48 \pm 12,10	1,104 \pm 0,518	7,88 \pm 0,80
Ilirija	12,52 \pm 0,92	187,06 \pm 13,44	1,713 \pm 0,566	9,10 \pm 0,94
Katarina	9,75 \pm 1,04	120,52 \pm 17,66	0,960 \pm 0,357	7,68 \pm 1,54
Soissons	12,43 \pm 0,46	158,43 \pm 21,21	1,952 \pm 0,435	8,80 \pm 1,08
Srpanjka	11,32 \pm 0,62	125,08 \pm 8,72	1,180 \pm 0,523	8,30 \pm 1,06
U1	10,37 \pm 0,93	83,52 \pm 6,83	0,847 \pm 0,374	6,45 \pm 0,74
MSD	1,3737	19,022	0,6744	1,632
F	28,11	967,99	171,28	20,88
<i>p</i>	$\leq 0,0001$	$\leq 0,0001$	$\leq 0,0001$	$\leq 0,0001$

Tablica 39. Utjecaj biofortifikacije Se i Zn na sadržaj fenola (mg GAE/mL), flavonoida (μg QCE/mL), fenolnih kiselina (mg KE/mL) i flavanola (mg KTE/L) u soku pšenične trave

TRETMAN	Fenoli	Flavonoidi	Fenolne kiseline	Flavanoli
biofortificirano	11,00 \pm 1,28	118,78 \pm 36,46	1,246 \pm 0,601	7,82 \pm 1,35
kontrola	10,76 \pm 1,30	117,89 \pm 37,09	1,125 \pm 0,525	7,88 \pm 1,44
MSD	0,6513	18,564	0,2847	0,704
F	3,13	1,13	1,26	0,24
<i>p</i>	0,0811	0,2915	0,2645	0,624

Ukupnih fenola, flavonoida i fenolnih kiselina bilo je manje u soku pšenične trave koja nije biofortificirana u odnosu na biofortificiranu, no statističke značajne razlike između tretmana nisu utvrđene. U soku pšenične trave koja je biofortificirana, utvrđena je niža vrijednost flavanola, no nije statistički značajna u usporedbi sa vrijednosti flavanola utvrđenom u soku pšenične trave koja nije biofortificirana (Tablica 39.).

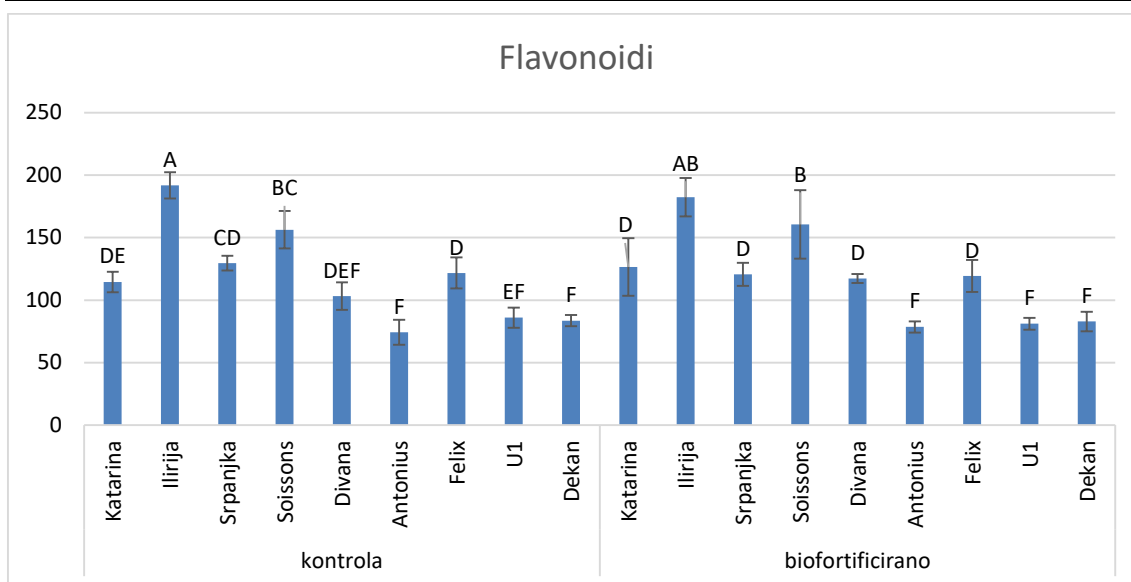
Temperaturni uvjeti uzgoja imali su značajan učinak na sadržaj fenolnih spojeva u soku pšenične trave. U sokovima pšenične trave koja je uzgajana pri tretmanu T2 utvrđen je značajno viši sadržaj fenola, flavonoida i flavanola, dok je sadržaj fenolnih kiselina viši bio u soku pšenične trave koja je uzgajana pri tretmanu T1 (Tablica 40.).

Tablica 40. Utjecaj temperaturnih uvjeta uzgoja (T1, dnevno/noćna temperatura 20/18 °C; T2, dnevno/noćna temperatura 18/16 °C) pšenične trave na sadržaj fenola (mg GAE/mL), flavonoida (µg QCE/mL), fenolnih kiselina (mg KE/mL) i flavanola (mg KTE/L) u soku pšenične trave

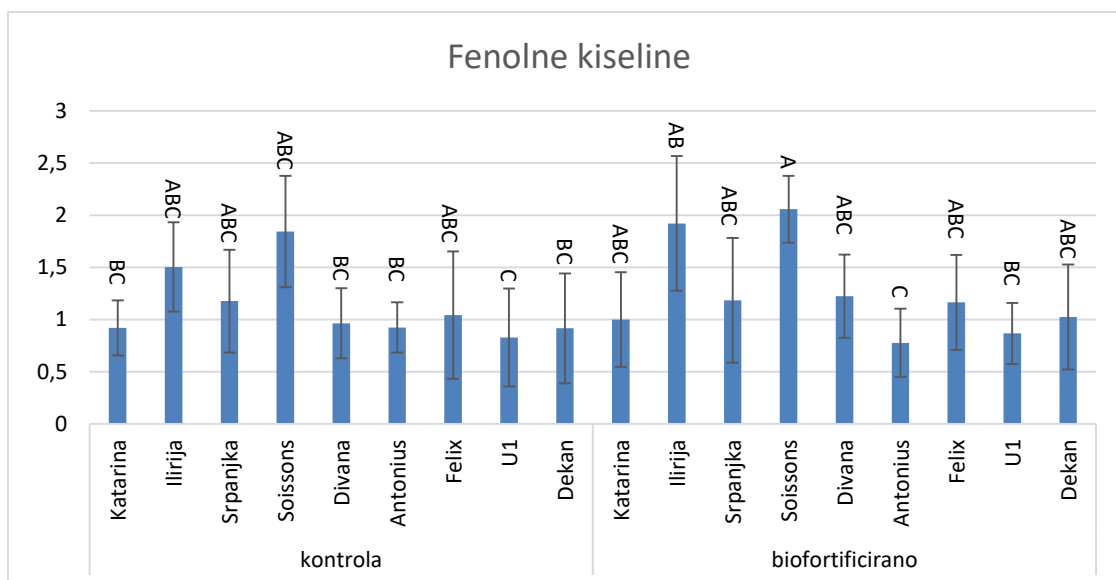
TRETMAN	Fenoli	Flavonoidi	Fenolne kiseline	Flavanoli
T1	10,37 ± 1,36	109,24 ± 32,63	1,576 ± 0,437	7,16 ± 1,25
T2	11,40 ± 0,98	127,44 ± 38,37	0,795 ± 0,377	8,54 ± 1,17
MSD	0,5992	17,977	0,206	0,6101
F	72,66	547,21	1524,8	96,81
<i>p</i>	≤0,0001	≤0,0001	≤0,0001	≤0,0001

Dvosmjernom analizom varijance utvrđen je značajan učinak interakcije sorte i biofortifikacije Se i Zn na sadržaj flavonoida (F=13,12; $p \leq 0,0001$) (Grafikon 82.) i fenolnih kiselina (F=7,54; $p \leq 0,0001$) (Grafikon 83.). Najviša vrijednost sadržaja flavonoida utvrđena je u soku pšenične trave sorte Ilirija koja nije biofortificirana Se i Zn (191,84 µg QCE/mL), no nije bilo statistički značajne razlike u usporedbi sa sokom iste sorte biofortificirane Se i Zn (182,28 µg QCE/mL). Sok pšenične trave sorte Antonius imao je najmanji sadržaj flavonoida (74,41 µg QCE/mL) (Grafikon 82.). Najviše fenolnih kiselina imao je sok pšenične trave sorte Soissons biofortificirane Se i Zn (2,058 mg KE/mL), a sok pšenične trave sorte Antonius biofortificiran Se i Zn imao je najmanje fenolnih kiselina (0,776 mg KE/mL) (Grafikon 83.).

Utvrđena je značajna interakcija sorte i različitih temperaturnih uvjeta uzgoja na ukupne fenole (F=3,47; $p=0,002$) (Grafikon 84.), flavonoide (F=17,27; $p \leq 0,0001$) (Grafikon 85.), fenolne kiseline (F=9,45; $p \leq 0,0001$) (Grafikon 86.) i flavanole (F=15,31; $p \leq 0,0001$) (Grafikon 87.).

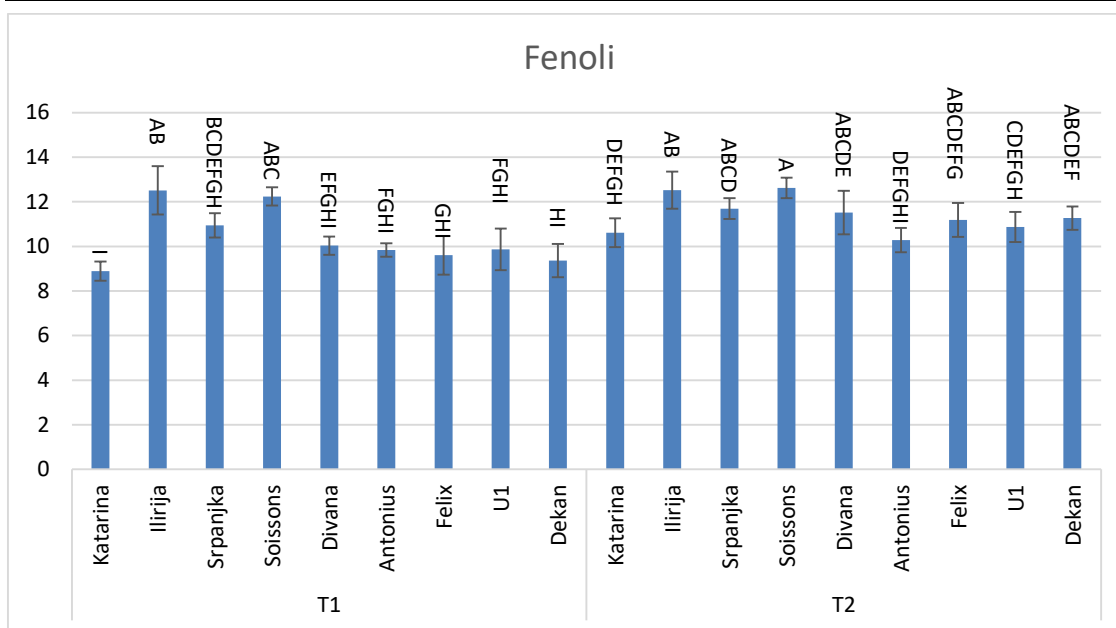


Grafikon 82. Utjecaj sorte i biofortifikacije Se i Zn na sadržaj flavonoida ($\mu\text{g QCE/mL}$) u soku pšenične trave

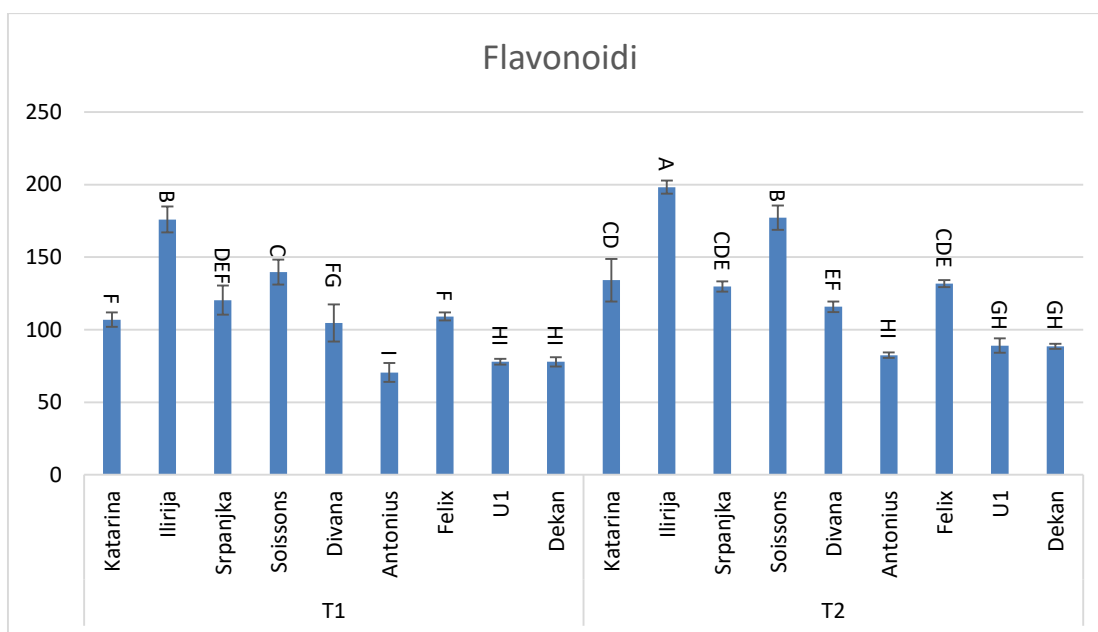


Grafikon 83. Utjecaj sorte i biofortifikacije Se i Zn na sadržaj fenolnih kiselina (mg KE/mL) u soku pšenične trave

Najviša vrijednost sadržaja ukupnih fenola utvrđena je u soku pšenične trave sorte Soissons koja je uzgajana pri tretmanu T2 (12,62 mg GAE/mL), a najniža u soku pšenične trave sorte Katarina koja je uzgajana pri tretmanu T1 (8,89 mg GAE/mL) (Grafikon 84.). Sok pšenične trave sorte Ilirija koja je uzgajana pri tretmanu T2 imao je najviši sadržaj flavonoida (198,20 $\mu\text{g QCE/mL}$), a najniža vrijednost sadržaja flavonoida utvrđena je u soku pšenične trave sorte Antonius, uzgajane pri tretmanu T1 (70,51 $\mu\text{g QCE/mL}$) (Grafikon 85.).

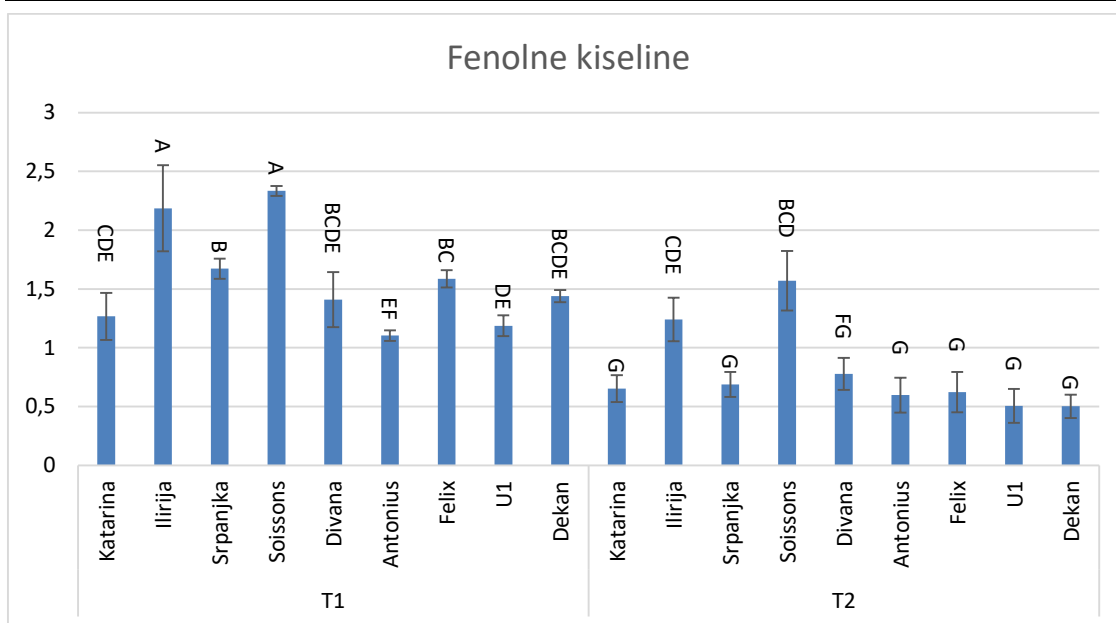


Grafikon 84. Utjecaj sorte i temperaturnih uvjeta uzgoja (T1, dnevno/noćna temperatura 20/18 °C; T2, dnevno/noćna temperatura 18/16 °C) na sadržaj fenola (mg GAE/mL) u soku pšenične trave

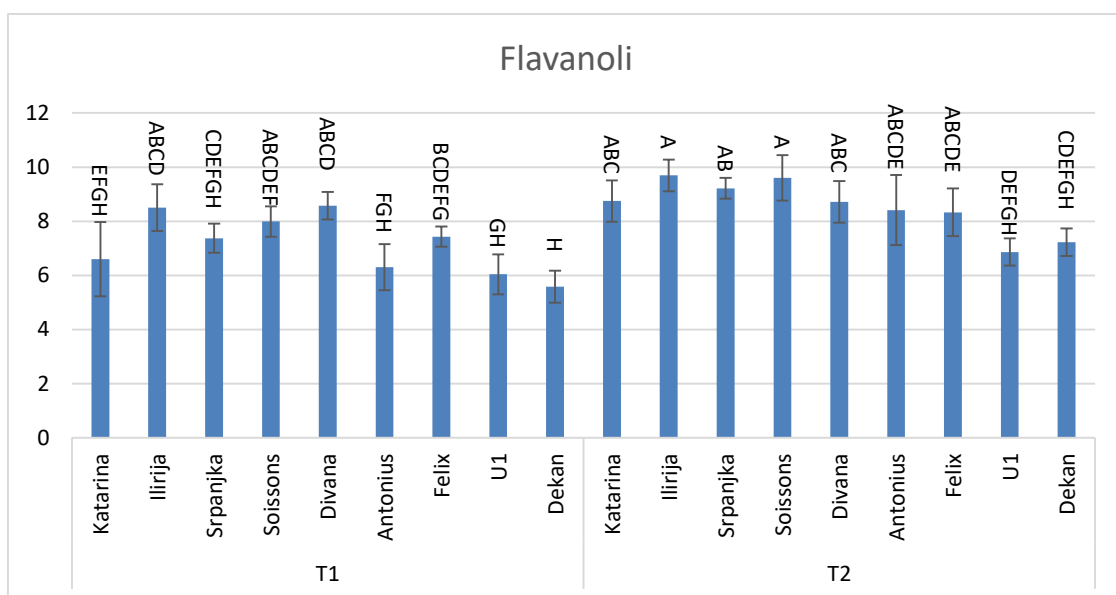


Grafikon 85. Utjecaj sorte i temperaturnih uvjeta uzgoja (T1, dnevno/noćna temperatura 20/18 °C; T2, dnevno/noćna temperatura 18/16 °C) na sadržaj flavonoida (µg QCE/mL) u soku pšenične trave

Najviša vrijednost sadržaja fenolnih kiselina utvrđena je u soku pšenične trave sorte Soissons koja je uzgajana pri tretmanu T1 (2,333 mg KE/mL), no nije se statistički značajno razlikovala od vrijednosti sadržaja fenolnih kiselina u soku pšenične trave sorte Ilirija uzgajane također pri tretmanu T1 (2,186 mg KE/mL). Najniža vrijednost fenolnih kiselina je utvrđena u soku pšenične trave sorte Dekan (0,502 mg KE/mL) (Grafikon 86.).



Grafikon 86. Utjecaj sorte i temperaturnih uvjeta uzgoja (T1, dnevno/noćna temperatura 20/18 °C; T2, dnevno/noćna temperatura 18/16 °C) na sadržaj fenolnih kiselina (mg KE/mL) u soku pšenične trave

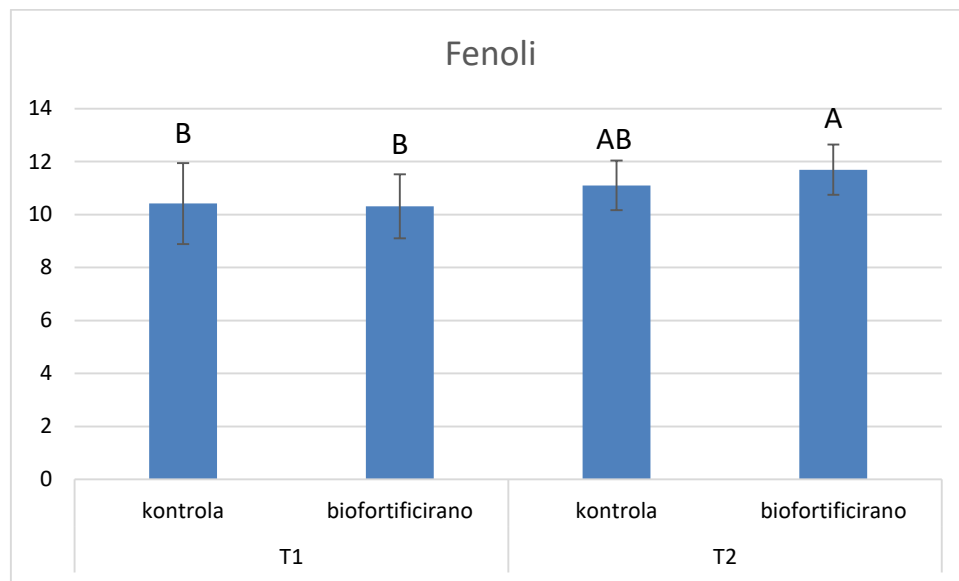


Grafikon 87. Utjecaj sorte i temperaturnih uvjeta uzgoja (T1, dnevno/noćna temperatura 20/18 °C; T2, dnevno/noćna temperatura 18/16 °C) na sadržaj flavanola (mg KTE/L) u soku pšenične trave

Sok pšenične trave sorte Ilirija koja je uzgajana pri tretmanu T2 sadržavao je najviše ukupnih flavanola (9,69 mg KTE/L). Najniža vrijednost sadržaja flavanola utvrđena je u soku pšenične trave sorte Dekan koja je uzgajana pri tretmanu T1 (5,59 mg KTE/L) (Grafikon 87.).

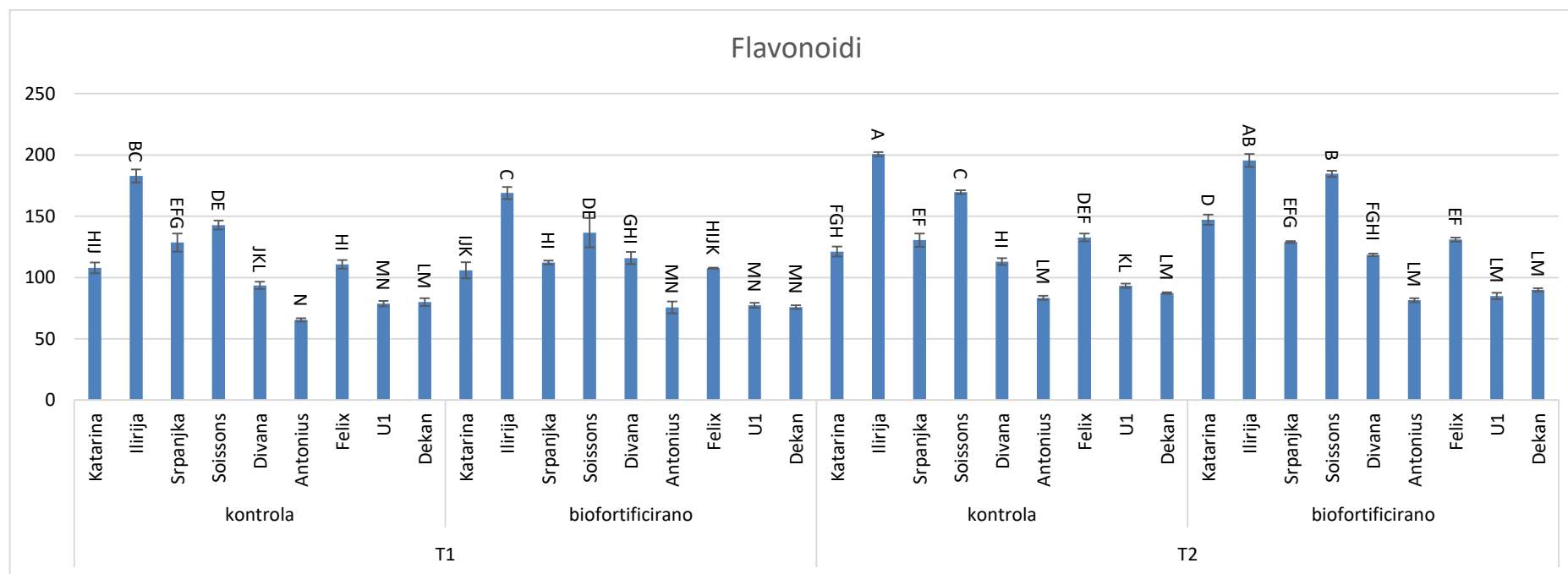
Dvosmjernom analizom varijance utvrđen je značajan učinak interakcije biofortifikacije Se i Zn i temperaturnih uvjeta uzgoja na sadržaj ukupnih fenola u soku pšenične trave ($F=7,09$; $p=0,0096$). Sokovi pšenične trave biofortificirane Se i Zn i uzgajane pri tretmanu T2 imao je najviše ukupnih fenola (11,69 mg GAE/mL), a najniži sadržaj ukupnih fenola utvrđen

je u sokovima pšenične trave biofortificirane Se i Zn i uzgajane pri tretmanu T1 (10,31 mg GAE/mL) (Grafikon 88.).



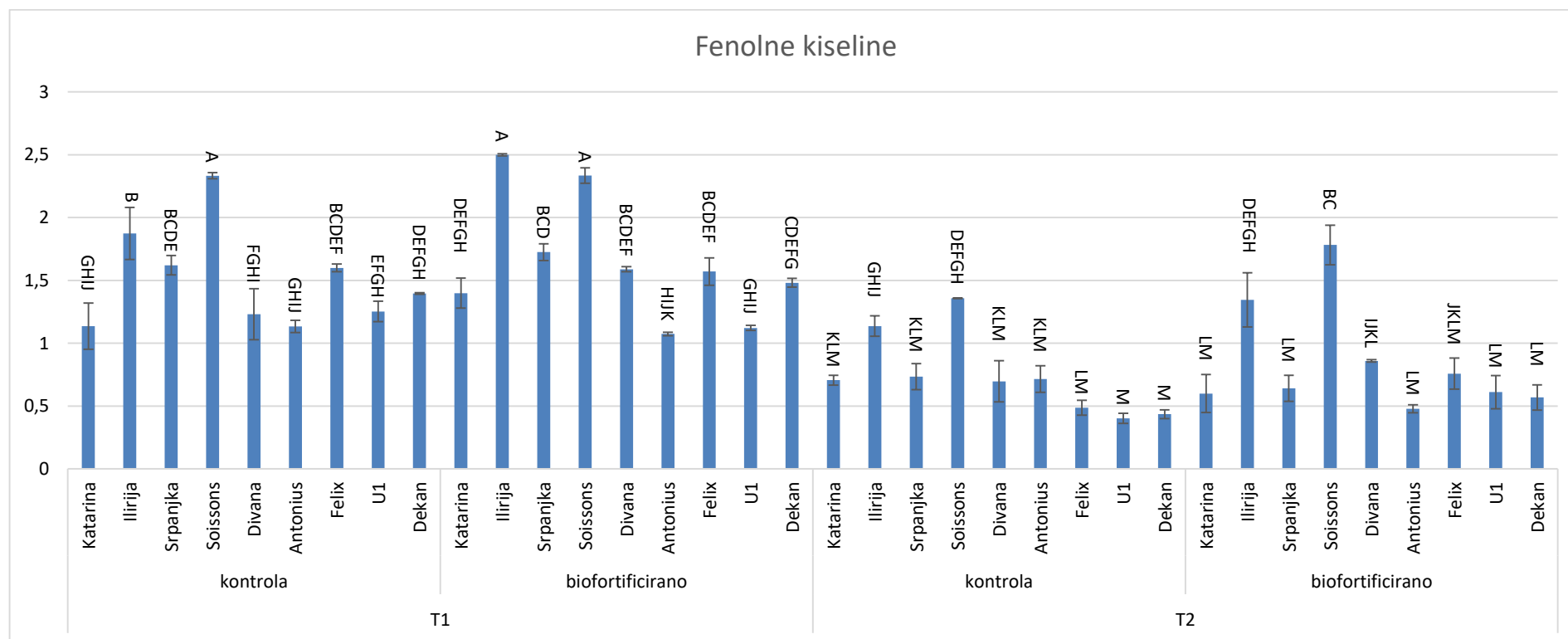
Grafikon 88. Utjecaj biofortifikacije Se i Zn i temperaturnih uvjeta uzgoja (T1, dnevno/noćna temperatura 20/18 °C; T2, dnevno/noćna temperatura 18/16 °C) na sadržaj fenola (mg GAE/mL) u soku pšenične trave

Trosmjernom analizom varijance utvrđen je značajan učinak interakcije sorte, biofortifikacije Se i Zn i temperaturnih uvjeta uzgoja pšenične trave na sadržaj flavonoida ($F=9,89$; $p \leq 0,0001$) (Grafikon 89.) i fenolnih kiselina u soku pšenične trave ($F=7,1$; $p \leq 0,0001$) (Grafikon 90.). Najviši sadržaj flavonoida je utvrđen u soku pšenične trave sorte Ilirija koja nije biofortificirana i uzgajane je pri nižim temperaturama (200,79 $\mu\text{g QCE/mL}$), no nije se statistički značajno razlikovala od vrijednosti flavonoida u soku iste sorta koja je uzgajana također pri jednakim temperaturama i biofortificirana je Se i Zn (195,60 $\mu\text{g QCE/mL}$). Najniža vrijednost sadržaja flavonoida utvrđena je u soku pšenične trave sorte Antonius koja nije biofortificirana i uzgajana je pri tretmanu T1 (65,39 $\mu\text{g QCE/mL}$) (Grafikon 89.).



Grafikon 89. Utjecaj sorte, biofortifikacije Se i Zn te temperaturnih uvjeta uzgoja (T1, dnevno/noćna temperatura 20/18 °C; T2, dnevno/noćna temperatura 18/16 °C) na sadržaj flavonoida ($\mu\text{g QCE/mL}$) u soku pšenične trave

Najviša vrijednost sadržaja fenolnih kiselina utvrđena je u soku pšenične trave sorte Ilirija koje je biofortificirana Se i Zn i uzgajana pri tretmanu T1 (2,499 mg KE/mL), no nije se statistički značajno razlikovala od vrijednosti sadržaja fenolnih kiselina utvrđenih u sokovima pšenične trave sorte Soissons biofortificirane Se i Zn (2,334 mg kava kis./mL) i nebiofortificirane Se i Zn (2,333 mg KE/mL) uzgajane pri tretmanu T1. Sok pšenične trave sorte U1 koja nije biofortificirana Se i Zn i uzgajana je pri tretmanu T2 ima najnižu vrijednost sadržaja fenolnih kiselina (0,402 mg KE/mL) (Grafikon 90.).



Grafikon 90. Utjecaj sorte, biofortifikacije Se i Zn te temperaturnih uvjeta uzgoja (T1, dnevno/noćna temperatura 20/18 °C; T2, dnevno/noćna temperatura 18/16 °C) na sadržaj fenolnih kiselina (mg KE/mL) u soku pšenične trave

5.3.3. Utjecaj smanjenog osvjetljenja na biološki aktivne komponente u soku pšenične trave

Aritmetičke sredine kloroplastnih pigmenata ispitivanih sorata pšenične trave uspoređene su Tukeyevim testom na razini značajnosti od 99 %. Utvrđeno je postojanje statistički značajnih razlika između sorata pšenične trave za sadržaj klorofila a (mg/mL), klorofila b (mg/mL), ukupnih klorofila (mg/mL), karotenoida (mg/mL) te omjer klorofila a i b. Sok pšenične trave sorte U1 imao je najniži sadržaj klorofila a, klorofila b, ukupnih klorofila i karotenoida te najviši omjer klorofila a i b. U soku pšenične trave sorte Soissons utvrđen je najviši sadržaj klorofila a i ukupnih klorofila, a u soku pšenične trave sorte Srpanjka utvrđen je najviši sadržaj klorofila b. Sorta Ilirija je imala najviši sadržaj karotenoida (Tablica 41.).

Tablica 41. Utjecaj sorte na sadržaj kloroplastnih pigmenata (mg/mL), omjer klorofila i b (kl a/kl b) i omjer ukupnih klorofila i karotenoida (kl/kar) u soku pšenične trave

SORTA	Klorofil a	Klorofil b	Klorofil a+b	Karotenoidi	Kl a/Kl b	Kl/Kar
Antonius	0,441 ± 0,030	0,142 ± 0,022	0,577 ± 0,042	0,131 ± 0,011	3,269 ± 0,107	4,433 ± 0,143
Dekan	0,514 ± 0,063	0,157 ± 0,021	0,671 ± 0,084	0,151 ± 0,020	3,239 ± 0,131	4,452 ± 0,166
Divana	0,417 ± 0,051	0,126 ± 0,017	0,543 ± 0,068	0,129 ± 0,018	3,308 ± 0,111	4,244 ± 0,128
Felix	0,547 ± 0,037	0,176 ± 0,016	0,723 ± 0,050	0,172 ± 0,017	3,248 ± 0,089	4,360 ± 0,198
Ilirija	0,597 ± 0,061	0,178 ± 0,016	0,776 ± 0,079	0,185 ± 0,016	3,323 ± 0,091	4,277 ± 0,165
Katarina	0,458 ± 0,034	0,143 ± 0,010	0,601 ± 0,043	0,141 ± 0,012	3,133 ± 0,285	4,432 ± 0,325
Soissons	0,606 ± 0,046	0,178 ± 0,014	0,791 ± 0,060	0,181 ± 0,015	3,354 ± 0,092	4,319 ± 0,139
Srpanjka	0,594 ± 0,050	0,188 ± 0,019	0,780 ± 0,066	0,182 ± 0,018	3,190 ± 0,058	4,364 ± 0,143
U1	0,393 ± 0,031	0,124 ± 0,012	0,524 ± 0,031	0,118 ± 0,010	3,372 ± 0,094	4,368 ± 0,138
MSD	0,0702	0,0252	0,0914	0,024	0,201	0,274
F	155,46	69,64	136,27	98,75	4,08	2,02
p	≤0,0001	≤0,0001	≤0,0001	≤0,0001	0,0005	0,0557

Biofortifikacija Se i Zn nije imala statistički značajan učinak na sadržaj kloroplastnih pigmenata u soku pšenične trave.

Tablica 42. Utjecaj biofortifikacije Se i Zn na sadržaj kloroplastnih pigmenata (mg/mL), omjer klorofila i b (kl a/kl b) i omjer ukupnih klorofila i karotenoida (kl/kar) u soku pšenične trave

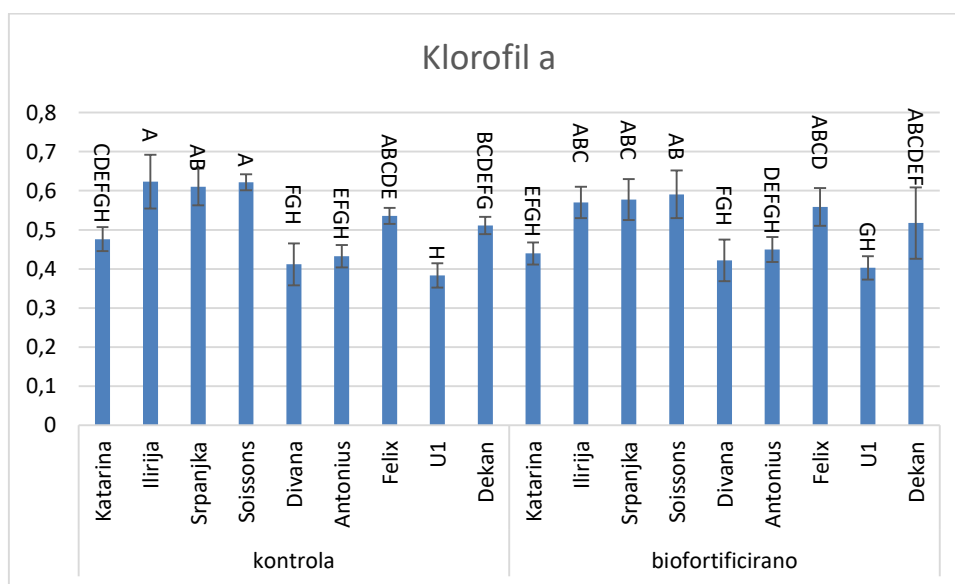
TRETMAN	Klorofil a	Klorofil b	Klorofil a+b	Karotenoidi	Kl a/Kl b	Kl/Kar
biofortificirano	0,503 ± 0,086	0,158 ± 0,029	0,660 ± 0,112	0,154 ± 0,028	3,240 ± 0,167	4,347 ± 0,207
kontrola	0,512 ± 0,095	0,155 ± 0,027	0,671 ± 0,122	0,155 ± 0,030	3,302 ± 0,118	4,376 ± 0,165
MSD	0,0457	0,0141	0,0591	0,0147	0,0731	0,0946
F	0,24	2,95	3,17	0,47	5,84	0,74
p	0,6255	0,0902	0,0792	0,4936	0,0182	0,3915

Različita jačina svjetla pri uzgoju je imala značajan učinak na sadržaj kloroplastnih pigmenta. Utvrđene su značajno više vrijednosti sadržaja klorofila a, klorofila b, ukupnih klorofila i karotenoida u soku pšenične trave koja je uzgajana u kontrolnim uvjetima, odnosno u uvjetima gdje je svjetlo bilo na 100 % u usporedbi sa vrijednostima kloroplastnih pigmenta koje su utvrđene u sokovima pšenične trave koja je uzgajana pri 30 % osvjetljenju (Tablica 43.).

Tablica 43. Utjecaj svjetlosnih uvjeta uzgoja (S1, 2000 lx; S2, 800 lx) na sadržaj kloroplastnih pigmenta (mg/mL), omjer klorofila i b (kl a/kl b) i omjer ukupnih klorofila i karotenoida (kl/kar) u soku pšenične trave

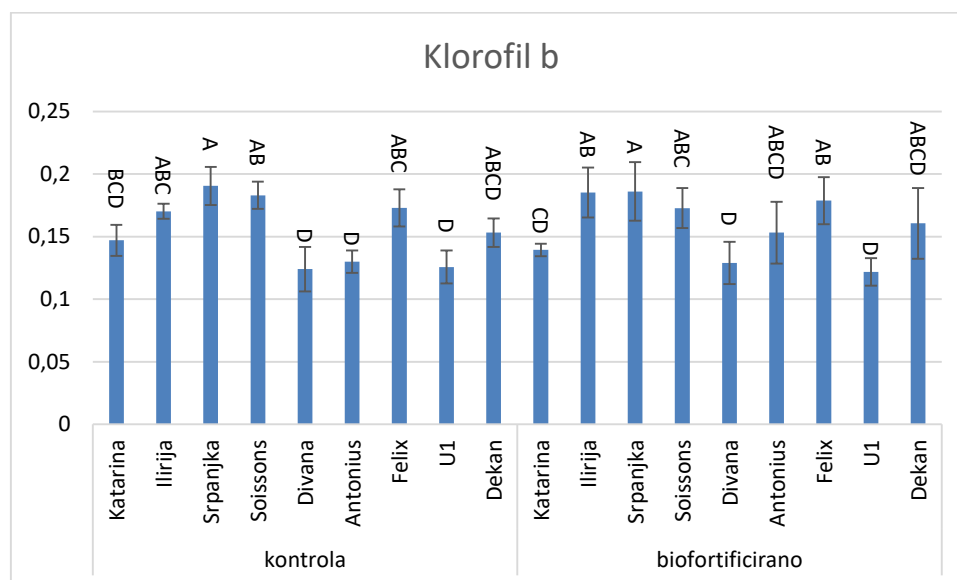
TRETMAN	Klorofil a	Klorofil b	Klorofil a+b	Karotenoidi	Kl a/Kl b	Kl/Kar
S1	0,531 ± 0,080	0,167 ± 0,026	0,695 ± 0,105	0,165 ± 0,027	3,261 ± 0,158	4,290 ± 0,184
S2	0,483 ± 0,094	0,146 ± 0,026	0,635 ± 0,121	0,144 ± 0,028	3,280 ± 0,137	4,432 ± 0,163
MSD	0,0441	0,0131	0,0571	0,0137	0,0747	0,0878
F	117,9	116	98,71	141,87	0,57	17,64
p	≤0,0001	≤0,0001	≤0,0001	≤0,0001	0,4543	≤0,0001

Dvosmjernom analizom varijance utvrđen je utjecaj interakcije sorte i biofortifikacije Se i Zn na sadržaj klorofila a ($F=4,84$; $p\leq 0,0001$) (Grafikon 91.), klorofila b ($F=3,64$; $p=0,0013$) (Grafikon 92.) i ukupnih klorofila ($F=4,69$; $p=0,0001$) (Grafikon 93.) u soku pšenične trave. Najviša vrijednost klorofila a je utvrđena u soku pšenične trave sorte Ilirija koja nije biofortificirana Se i Zn (0,623 mg/mL), a pod istim tretmanom u soku pšenične trave sorte U1 utvrđena je najniža vrijednost sadržaja klorofila (0,383 mg/mL) (Grafikon 91.).

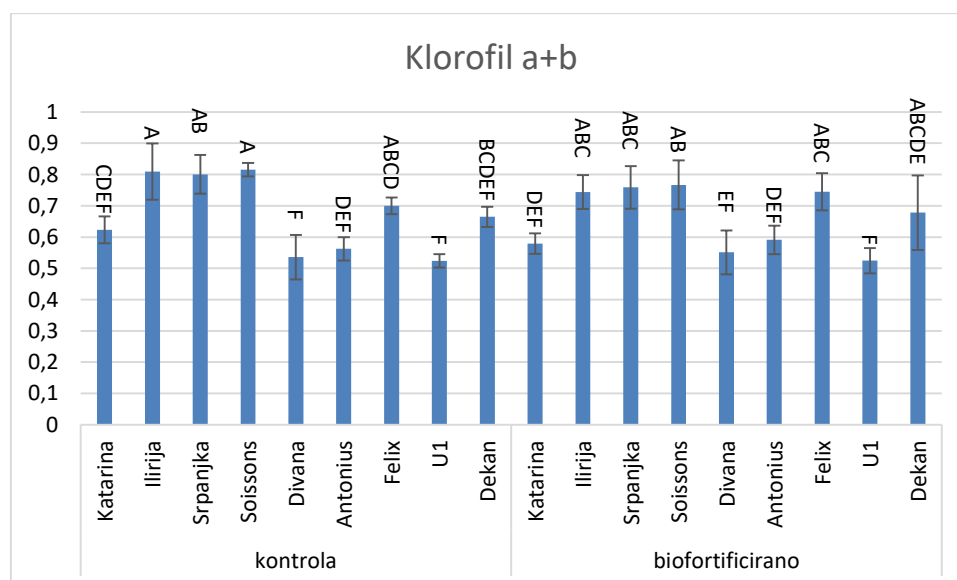


Grafikon 91. Utjecaj biofortifikacije Se i Zn te sorte na sadržaj klorofila a (mg/mL) u soku pšenične trave

U soku pšenične trave sorte Srpanjka koja nije biofortificirana Se i Zn utvrđena je najviša vrijednost klorofila b (0,191 mg/mL), a najniža vrijednost klorofila b je utvrđena u soku pšenične trave sorte U1 biofortificirane Se i Zn (0,122 mg/mL) (Grafikon 92.). Najviši sadržaj ukupnih klorofila je utvrđen u soku pšenične trave sorte Soissons koja nije biofortificirana Se i Zn (0,815 mg/mL), a kod istog tretmana, u soku pšenične trave sorte U1 utvrđena je najniža vrijednost ukupnih klorofila (0,524 mg/mL) (Grafikon 93.).



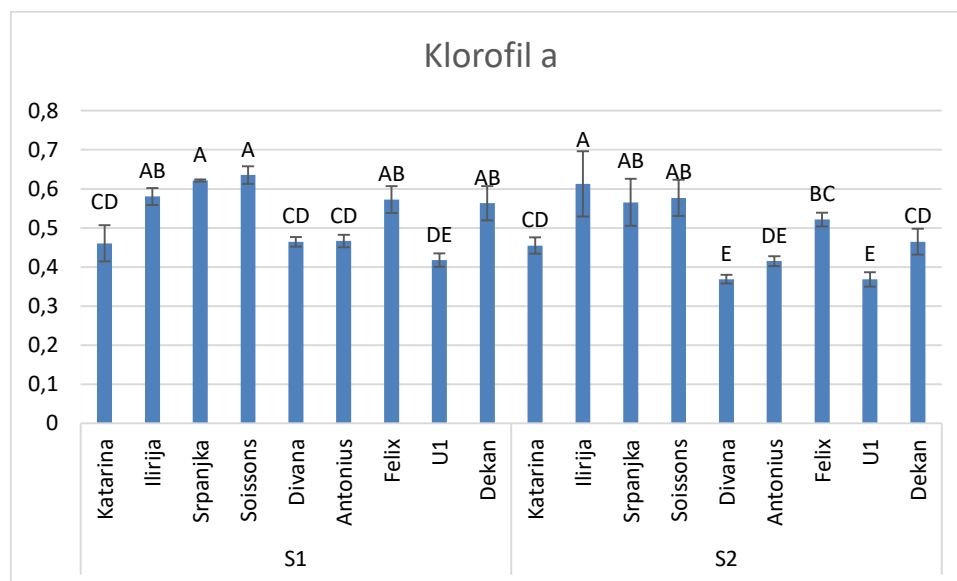
Grafikon 92. Utjecaj biofortifikacije Se i Zn te sorte na sadržaj klorofila b (mg/mL) u soku pšenične trave



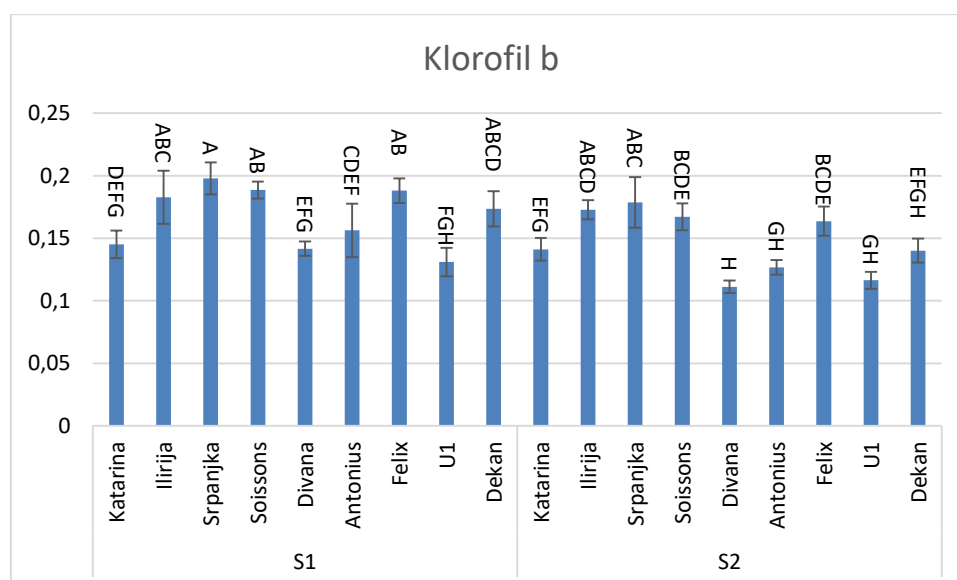
Grafikon 93. Utjecaj biofortifikacije Se i Zn te sorte na sadržaj ukupnih klorofila (mg/mL) u soku pšenične trave

Dvosmjernom analizom varijance utvrđen je značajan učinak interakcije sorte i različitih svjetlosnih uvjeta pri uzgoju pšenične trave na sadržaj klorofila a ($F=9,42$; $p \leq 0,0001$) (Grafikon

94.), klorofila b ($F=2,92$; $p=0,007$) (Grafikon 95.), ukupnih klorofila ($F=8,81$; $p\leq 0,0001$) (Grafikon 96.) i karotenoida ($F=3,13$; $p=0,0043$) (Grafikon 97.) u soku pšenične trave. Vrijednosti za sadržaj klorofila a su se kretale od 0,368 mg/mL (sorta U1, uzgajana pri 30 % osvjetljenju, odnosno 800 lx) do 0,635 mg/mL (sorta Soissons, uzgajana pri 100 % osvjetljenju, odnosno 2000 lx) (Grafikon 94.). Vrijednosti za sadržaj klorofila b su se kretale od 0,111 mg/mL (Divana, uzgajana pri 30 % osvjetljenju (S2)) do 0,198 mg/mL (sorta Srpanjka uzgajana pri 100 % osvjetljenju (S1)) (Grafikon 95.).



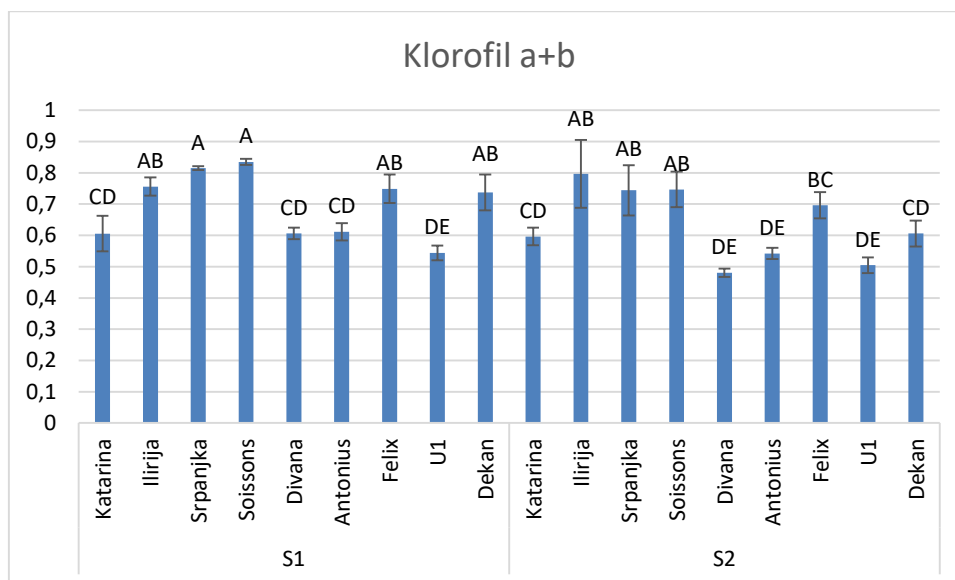
Grafikon 94. Utjecaj sorte i svjetlosnih uvjeta uzgoja (S1, 2000 lx; S2, 800 lx) na sadržaj klorofila a (mg/mL) u soku pšenične trave



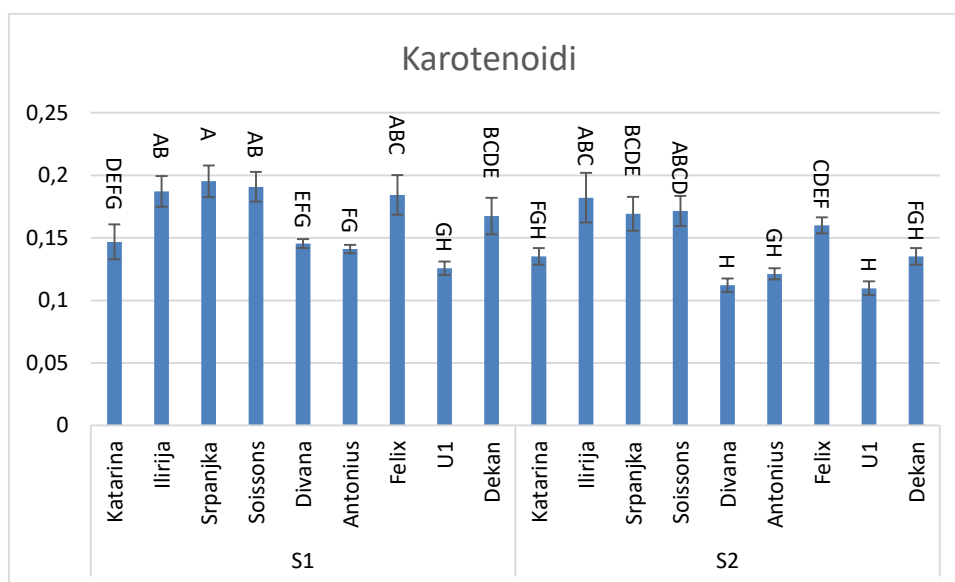
Grafikon 95. Utjecaj sorte i svjetlosnih uvjeta uzgoja (S1, 2000 lx; S2, 800 lx) na sadržaj klorofila b (mg/mL) u soku pšenične trave

Najviše ukupnih klorofila imao je sok pšenične trave sorte Soissons uzgajane pri 100 %

osvjetljenju (S1) (0,835 mg/mL), a u soku pšenične trave sorte Divana uzgajane pri 30 % osvjetljenju (S2) sadržaj ukupnih klorofila iznosio je 0,480 mg/mL (Grafikon 96.). Najviša vrijednost karotenoida je utvrđena u soku pšenične trave sorte Srpanjka koja je uzgajana pri tretmanu S1 (0,195 mg/mL), a najmanje je bilo u soku pšenične trave sorte U1 uzgajane pri tretmanu S2 (0,110 mg/mL) (Grafikon 97.).



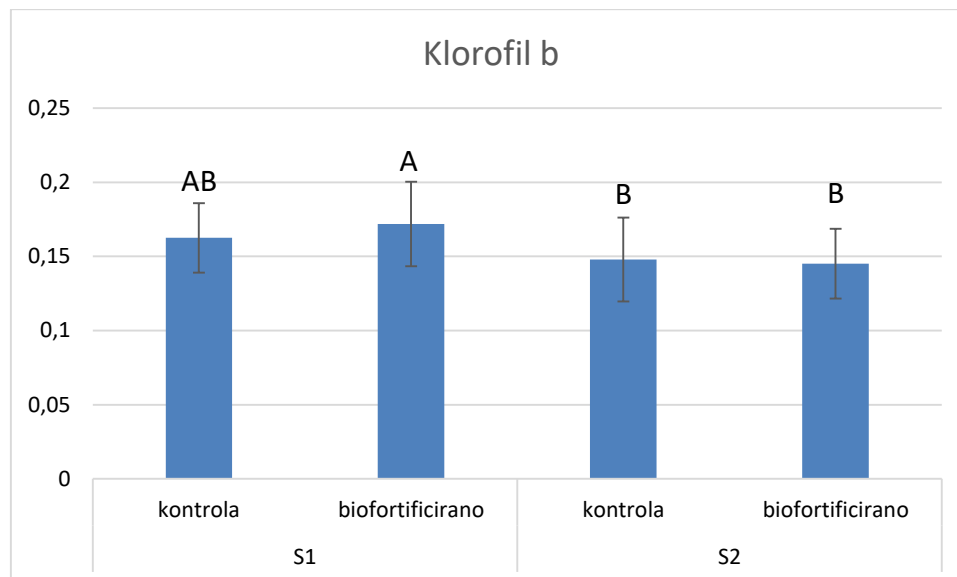
Grafikon 96. Utjecaj sorte i svjetlosnih uvjeta uzgoja (S1, 2000 lx; S2, 800 lx) na sadržaj ukupnih klorofila (mg/mL) u soku pšenične trave



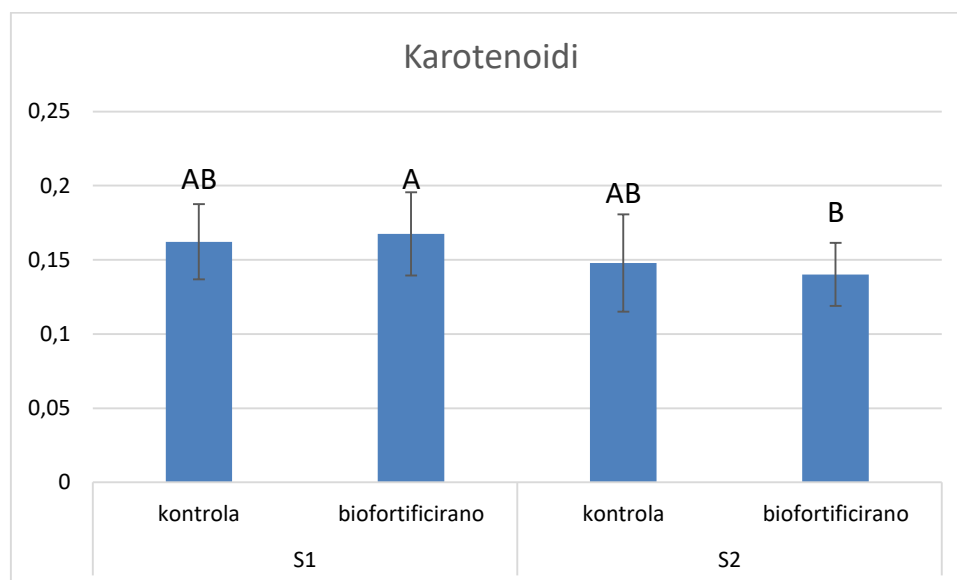
Grafikon 97. Utjecaj sorte i svjetlosnih uvjeta uzgoja (S1, 2000 lx; S2, 800 lx) na sadržaj karotenoida (mg/mL) u soku pšenične trave

Utvrđena je značajna interakcija biofortifikacije Se i Zn i osvjetljenja na sadržaj klorofila b ($F=9,87$; $p=0,0024$) (Grafikon 98.) i karotenoida ($F=13,97$; $p=0,0004$) (Grafikon 99.) u soku pšenične trave. U sokovima pšenične trave koja je biofortificirana Se i Zn i uzgajana je pri

tretmanu S2 utvrđenu su najniže vrijednosti sadržaja klorofila b (0,145 mg/mL) (Grafikon 98.) i karotenoida (0,140 mg/mL) (Grafikon 99.). U sokovima pšenične trave koja je biofortificirana i uzgajana pri tretmanu S1 utvrđene su najviše vrijednosti sadržaja klorofila b (0,172 mg/mL) (Grafikon 98.) i karotenoida (0,168 mg/mL) (Grafikon 99.).

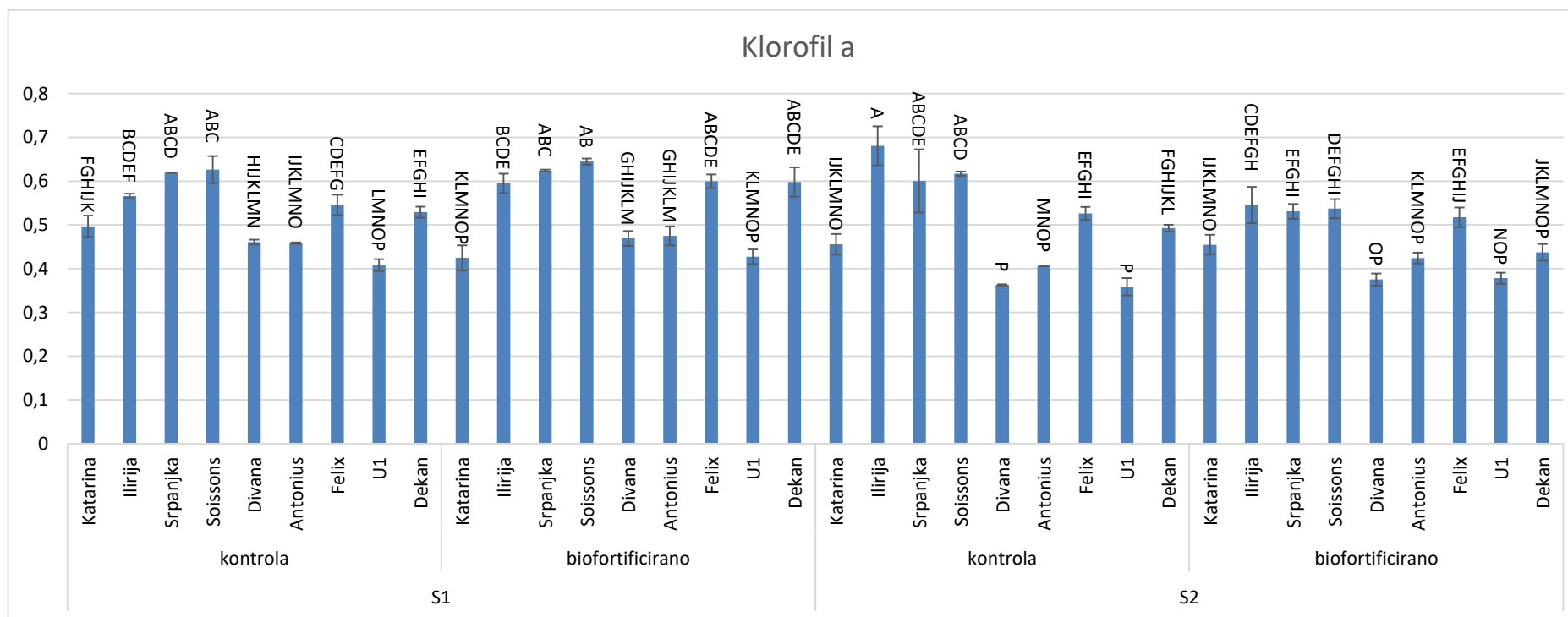


Grafikon 98. Utjecaj svjetlosnih uvjeta uzgoja (S1, 2000 lx; S2, 800 lx) i biofortifikacije Se i Zn na sadržaj klorofila b (mg/mL) u soku pšenične trave



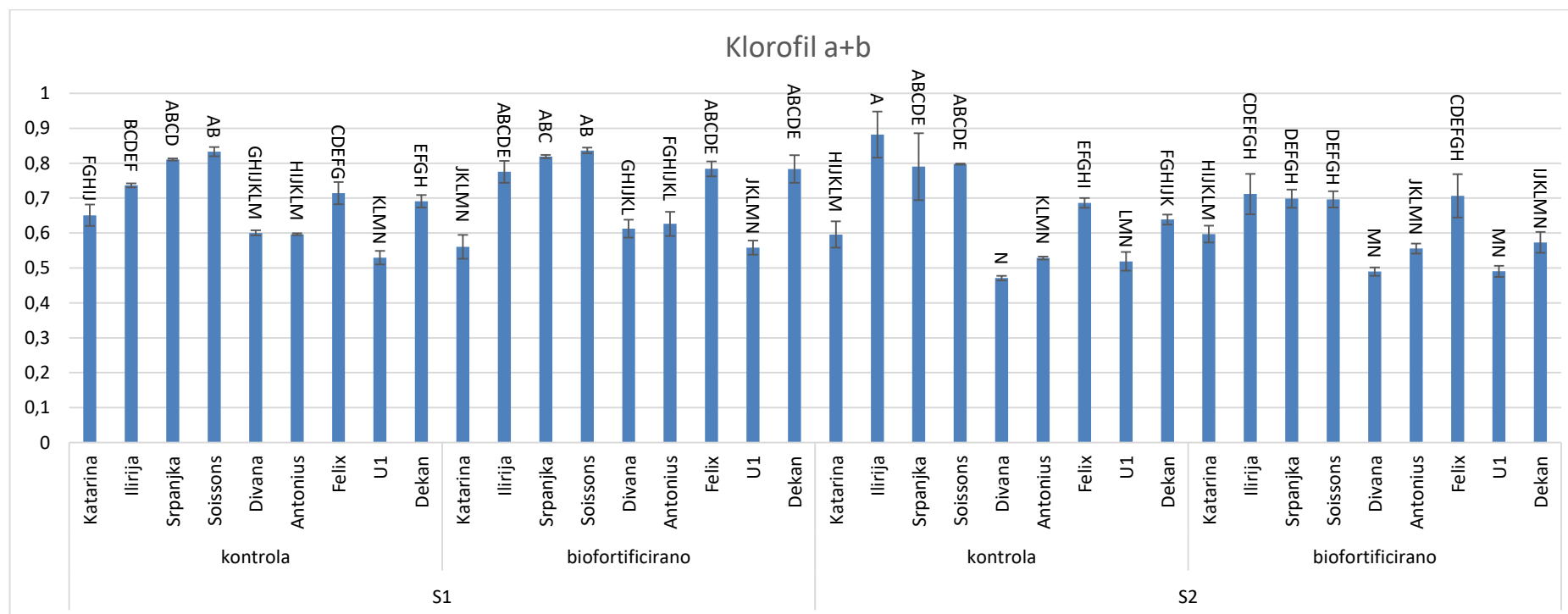
Grafikon 99. Utjecaj svjetlosnih uvjeta uzgoja (S1, 2000 lx; S2, 800 lx) i biofortifikacije Se i Zn na sadržaj karotenoida (mg/mL) u soku pšenične trave

Trosmjernom analizom varijance utvrđen je značajan učinak interakcije sorte, biofortifikacije Se i Zn i osvjetljenja (S1, 2000 lx; S2, 800 lx) pri uzgoju pšenične trave na sadržaj klorofila a ($F=7,87$; $p \leq 0,0001$) (Grafikon 100.) i ukupnih klorofila ($F=6,14$; $p \leq 0,0001$) (Grafikon 101.) u soku pšenične trave. Najniži sadržaj klorofila a je utvrđen u soku pšenične trave sorte U1 koja nije biofortificirana Se i Zn koja je uzgajana pri tretmanu S2 (0,359 mg/mL). U soku pšenične trave sorte Ilirija koja nije biofortificirana Se i Zn i koja je uzgajana pri tretmanu S2 utvrđen je najviši sadržaj klorofila a (0,681 mg/mL) (Grafikon 100.).



Grafikon 100. Utjecaj svjetlosnih uvjeta uzgoja (S1, 2000 lx; S2, 800 lx), biofortifikacije Se i Zn i sorte na sadržaj klorofila a (mg/mL) u soku pšenične trave

Najviša vrijednost sadržaja ukupnih klorofila utvrđena je u soku pšenične trave sorte Ilirija uzgajane pri tretmanu S2 i nebiofortificirane Se i Zn (0,882 mg/mL), a najniža je bila u soku pšenične trave sorte Divana uzgajane pri istim tretmanima, kao i sorta s najvišom vrijednošću (0,471 mg/mL) (Grafikon 101.).



Grafikon 101. Utjecaj svjetlosnih uvjeta (S1, 2000 lx; S2, 800 lx), biofortifikacije Se i Zn i sorte na sadržaj ukupnih klorofila (mg/mL) u soku pšenične trave

Za vrijednosti antioksidativne aktivnosti određene DPPH (μL pri IC50), FRAP (mmol FeSO_4/mL) i ORAC (mmol Trolox/mL) metodom u soku pšenične trave utvrđen je statistički značajan učinak sorte. Prema sve tri metode, sok pšenične trave s najnižom antioksidativnom aktivnošću je sok sorte Antonius, dok je sok sorte Ilirija prema DPPH i FRAP vrijednostima imao najvišu antioksidativnu aktivnost, a prema metodi ORAC najviša vrijednost antioksidativne aktivnosti je utvrđena u soku pšenične trave sorte Katarina. Vrijednost kapaciteta kelatiranja Fe iona se kretala od 8,933 mmol EDTA Na/L (sorta Dekan) do 9,946 mmol EDTA Na/L (sorta Katarina) u soku pšenične trave. Sadržaj vitamina C u soku pšenične trave se kretao od 613,5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ soka (sorta Antonius) do 745,8 $\mu\text{g}/\text{mL}$ soka (sorta Divana) (Tablica 44.).

Tablica 44. Utjecaj sorte na antioksidativnu aktivnost određenu metodom DPPH (μL soka pri IC50), FRAP (mmol FeSO_4/mL soka) i ORAC (mmol Trolox/mL soka), sposobnost kelatiranja Fe iona (mmol EDTA Na/L) i sadržaj vitamina C ($\mu\text{g}/\text{mL}$)

SORTA	DPPH	FRAP	Kelatiranje	ORAC	Vitamin C
Antonius	45,70 \pm 17,92	0,038 \pm 0,005	9,720 \pm 3,771	106,24 \pm 14,508	613,48 \pm 214,60
Dekan	34,69 \pm 8,40	0,044 \pm 0,005	8,933 \pm 3,446	165,79 \pm 20,575	621,72 \pm 243,79
Divana	27,29 \pm 7,47	0,046 \pm 0,006	9,769 \pm 3,693	134,62 \pm 13,264	745,82 \pm 247,67
Felix	24,81 \pm 3,67	0,052 \pm 0,007	9,550 \pm 3,764	158,28 \pm 14,566	662,03 \pm 245,60
Ilirija	17,01 \pm 3,18	0,067 \pm 0,010	9,824 \pm 3,861	163,30 \pm 39,824	718,07 \pm 266,55
Katarina	33,29 \pm 10,92	0,044 \pm 0,007	9,946 \pm 3,894	181,95 \pm 29,129	712,93 \pm 282,93
Soissons	19,93 \pm 5,77	0,066 \pm 0,006	9,876 \pm 3,851	125,21 \pm 17,365	727,62 \pm 262,03
Srpanjka	22,59 \pm 4,81	0,058 \pm 0,008	9,937 \pm 3,921	132,84 \pm 38,258	743,76 \pm 295,91
U1	34,04 \pm 8,21	0,039 \pm 0,003	9,449 \pm 3,656	162,21 \pm 15,690	726,67 \pm 248,87
MSD	13,485	0,0098	5,6988	37,312	389,680
F	101,32	52,87	0,09	31,53	0,47
p	$\leq 0,0001$	$\leq 0,0001$	0,9995	$\leq 0,0001$	0,8717

Biofortifikacija Se i Zn imala je značajan učinak na promjenu vrijednosti antioksidativne aktivnosti određene ORAC metodom u soku pšenične trave. HSD testom na razini značajnosti od 99 % utvrđeno je da sok pšenične trave koja nije biofortificirana Se i Zn ima višu vrijednost antioksidativne aktivnosti u usporedbi sa sokom pšenične trave na kojoj je provedena biofortifikacija (Tablica 45.).

Smanjenje osvjetljenja pri uzgoju pšenične trave imalo je statistički značajan učinak na vrijednosti antioksidativne aktivnosti određene metodom DPPH, kapacitet kelatiranja Fe iona i na sadržaj vitamina C u soku pšenične trave. U soku pšenične trave koja je uzgajana pri tretmanu S2 utvrđen je viši sadržaj vitamina C i veći kapacitet kelatiranja, te značajno veća

vrijednost potrebne količine soka za 50 % inhibicije.

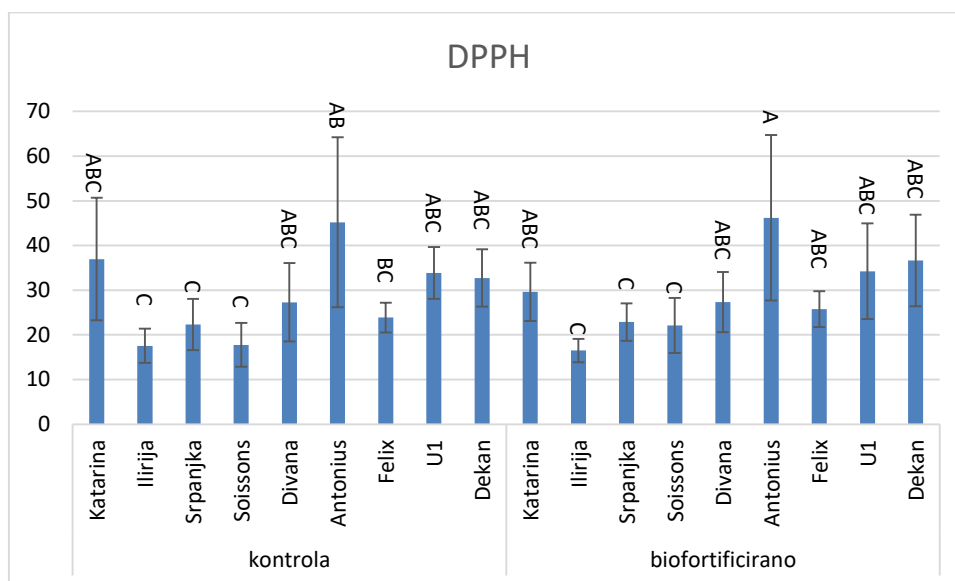
Tablica 45. Utjecaj biofortifikacije Se i Zn na antioksidativnu aktivnost određenu metodom DPPH (μL soka pri IC50), FRAP (mmol FeSO_4/mL soka) i ORAC (mmol Trolox/mL soka), sposobnost kelatiranja Fe iona (mmol EDTA Na/L) i sadržaj vitamina C ($\mu\text{g}/\text{mL}$)

TRETMAN	DPPH	FRAP	Kelatiranje	ORAC	Vitamin C
biofortificirano	29,03 \pm 11,87	0,052 \pm 0,012	9,738 \pm 3,728	135,37 \pm 33,45	688,94 \pm 284,24
kontrola	28,61 \pm 12,35	0,049 \pm 0,012	9,596 \pm 3,571	160,29 \pm 27,57	704,86 \pm 258,40
MSD	6,1155	0,006	1,8426	15,472	127,9
F	36,81	1,68	5673,92	0,01	1567,54
<i>p</i>	$\leq 0,0001$	0,1982	$\leq 0,0001$	0,915	$\leq 0,0001$

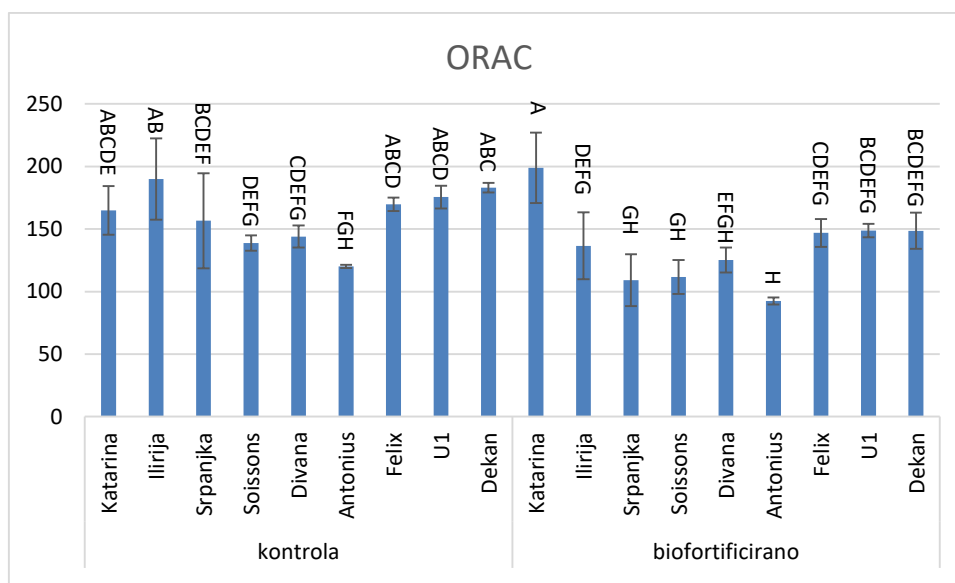
Tablica 46. Utjecaj različitih svjetlosnih uvjeta uzgoja (S1, 2000 lx ;S2, 800 lx) na antioksidativnu aktivnost određenu metodom DPPH (μL soka pri IC50), FRAP (mmol FeSO_4/mL soka) i ORAC (mmol Trolox/mL soka), sposobnost kelatiranja Fe iona (mmol EDTA Na/L) i sadržaj vitamina C ($\mu\text{g}/\text{mL}$)

TRETMAN	DPPH	FRAP	Kelatiranje	ORAC	Vitamin C
S1	22,72 \pm 5,14	0,050 \pm 0,012	6,083 \pm 0,216	148,17 \pm 39	453,84 \pm 48,62
S2	34,91 \pm 13,84	0,050 \pm 0,012	13,251 \pm 0,665	147,49 \pm 25	939,96 \pm 76,01
MSD	5,2695	0,0061	0,2496	16,722	32,204
F	421,87	0,31	13294,6	0,06	13953,9
<i>p</i>	$\leq 0,0001$	0,5816	$\leq 0,0001$	0,8129	$\leq 0,0001$

Dvosmjernom analizom varijance utvrđen je značajan učinak interakcije sorte i biofortifikacije Se i Zn na vrijednosti dobivene DPPH ($F=3,63$; $p=0,0014$) (Grafikon 102.) i ORAC ($F=8,31$; $p\leq 0,0001$) (Grafikon 103.) metodom u soku pšenične trave. Prema utvrđenim DPPH (46,2 μL pri IC50) i ORAC (92,49 mmol Trolox/mL) vrijednostima za sok pšenične trave sorte Antonius biofortificirane Se i Zn, može se zaključiti da spomenuta sorta i tretman biofortifikacije imaju sok s najnižom vrijednošću antioksidativne aktivnosti. Sok pšenične trave sorte Ilirija biofortificirane Se i Zn prema metodi DPPH ima najveću antioksidativnu aktivnost, odnosno potreban je najmanji volumen soka za 50 % inhibicije (16,478) (Grafikon 102.). Najviša vrijednost antioksidativne aktivnosti utvrđena je metodom ORAC u soku pšenične trave sorte Katarina biofortificirane Se i Zn (198,95) (Grafikon 103.). Utvrđena je značajna interakcija sorte i smanjenog osvjetljenja na antioksidativnu aktivnost određenu DPPH ($F=32,78$; $p\leq 0,0001$) (Grafikon 104.), FRAP ($F=2,97$; $p=0,0063$) (Grafikon 105.), ORAC ($F=3,97$; $p=0,0006$) (Grafikon 107.) metodom i na sadržaj vitamina C ($F=14,48$; $p\leq 0,0001$) (Grafikon 106.).

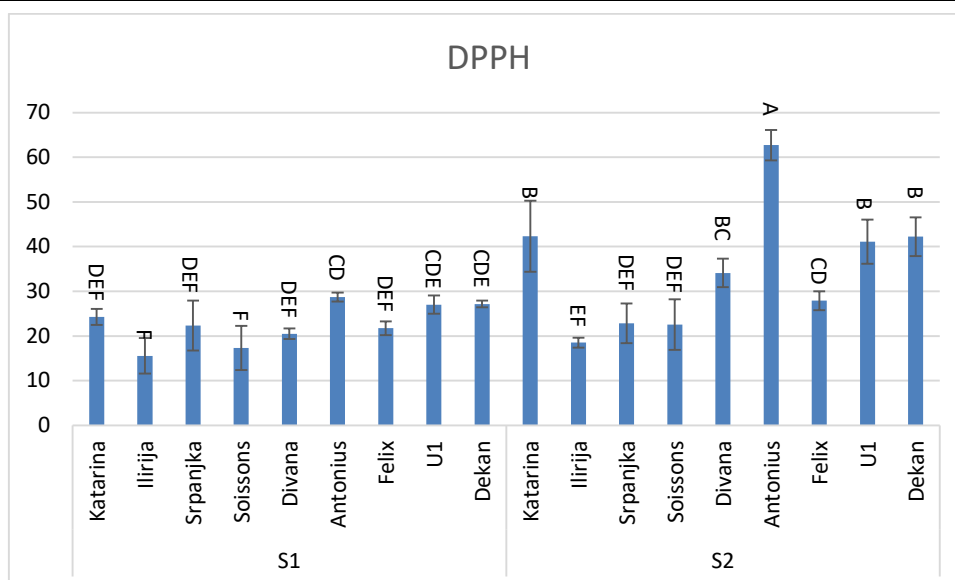


Grafikon 102. Utjecaj biofortifikacije Se i Zn i sorte na antioksidativnu aktivnost utvrđenu metodom DPPH (μL pri IC50) u soku pšenične trave

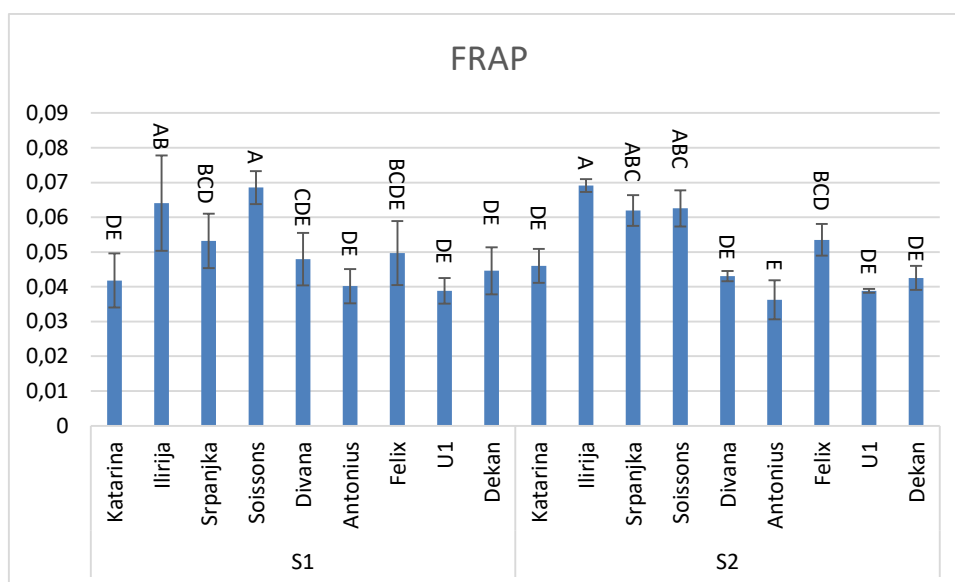


Grafikon 103. Utjecaj biofortifikacije Se i Zn i sorte na antioksidativnu aktivnost utvrđenu metodom ORAC (mmol Trolox/mL) u soku pšenične trave

DPPH vrijednost se kretala od 15,53 μL pri IC50 (Ilirija, S1) do 62,71 μL pri IC50 (Antonius, S2) (Grafikon 104.). Najviša vrijednost antioksidativne aktivnosti utvrđena FRAP metodom utvrđena je u soku pšenične trave sorte Ilirija uzgajane pri S2 (0,069 mmol FeSO_4/mL), a pod istim tretmanom u soku pšenične trave sorte Antonius utvrđena je najniža vrijednost antioksidativne aktivnosti (0,036 mmol FeSO_4/mL) (Grafikon 105.).

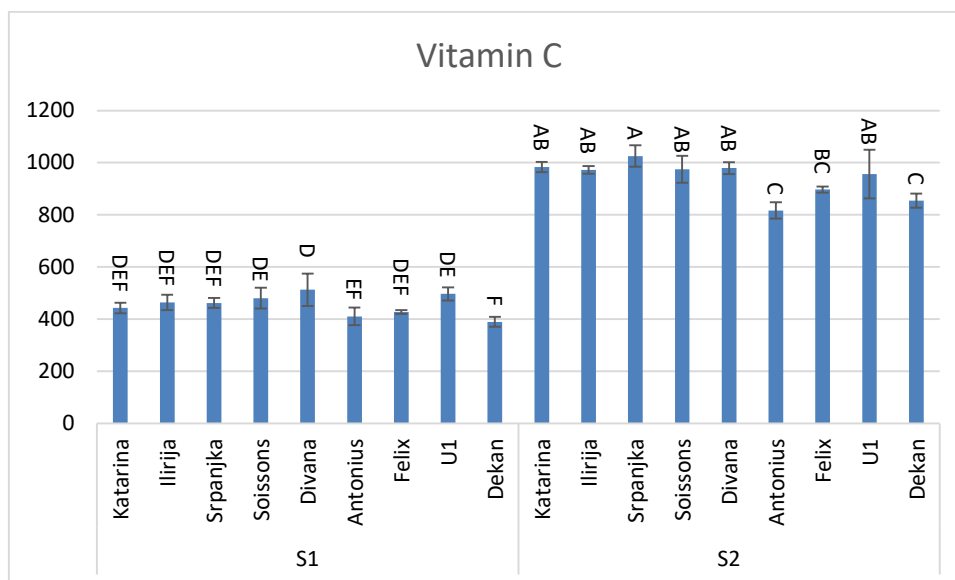


Grafikon 104. Utjecaj sorte i svjetlosnih uvjeta uzgoja (S1, 2000 lx; S2, 800 lx) na antioksidativnu aktivnost određenu metodom DPPH (μL pri IC50) u soku pšenične trave

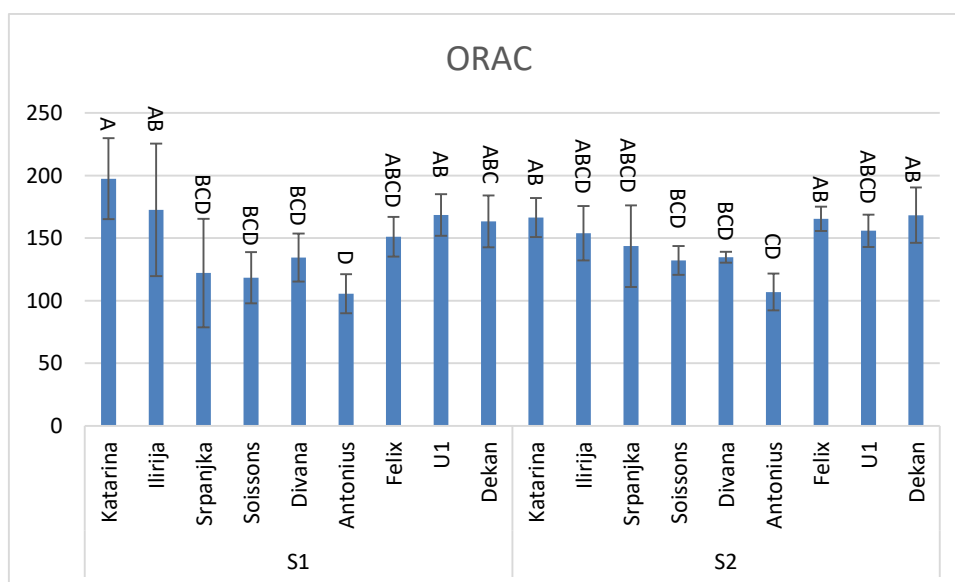


Grafikon 105. Utjecaj sorte i svjetlosnih uvjeta uzgoja (S1, 2000 lx; S2, 800 lx) na antioksidativnu aktivnost određenu metodom FRAP (mmol FeSO_4/mL) u soku pšenične trave

Najniža vrijednost sadržaja vitamina C utvrđena je u soku pšenične trave sorte Dekan uzgajane pri tretmanu S1 (389,3 $\mu\text{g}/\text{mL}$), a u soku pšenične trave sorte Srpanjka uzgajane pri tretmanu S2 utvrđena je najviša vrijednost sadržaja vitamina C (1025,58 $\mu\text{g}/\text{mL}$) (Grafikon 106.). Vrijednosti antioksidativne aktivnosti određene metodom ORAC kretale su se od 105,55 mmol Trolox/mL (sorta Antonius, S1) do 197,50 mmol Trolox/mL (sorta Katarina, S1) (Grafikon 107.).



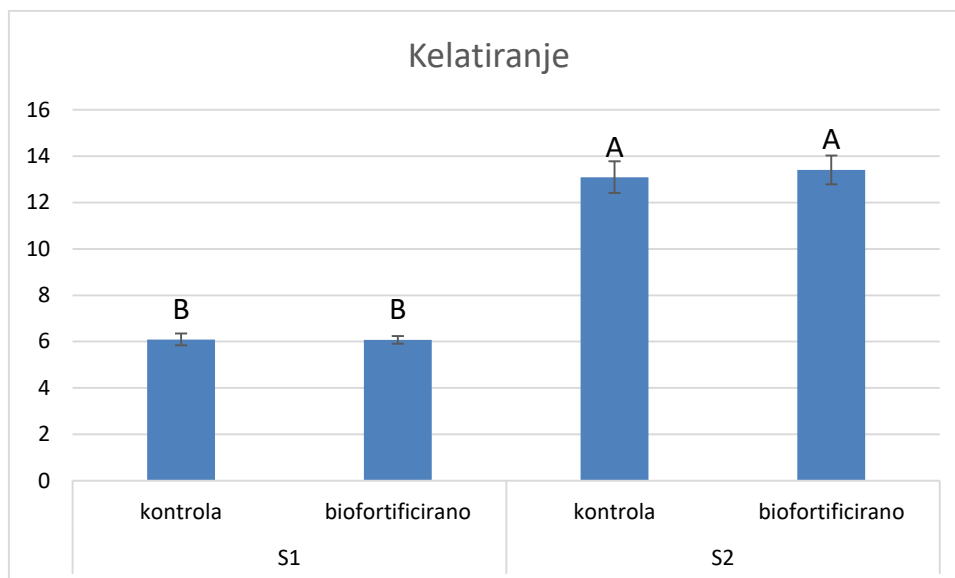
Grafikon 106. Utjecaj sorte i svjetlosnih uvjeta uzgoja (S1, 2000 lx; S2, 800 lx) na sadržaj vitamina C ($\mu\text{g/mL}$) u soku pšenične trave



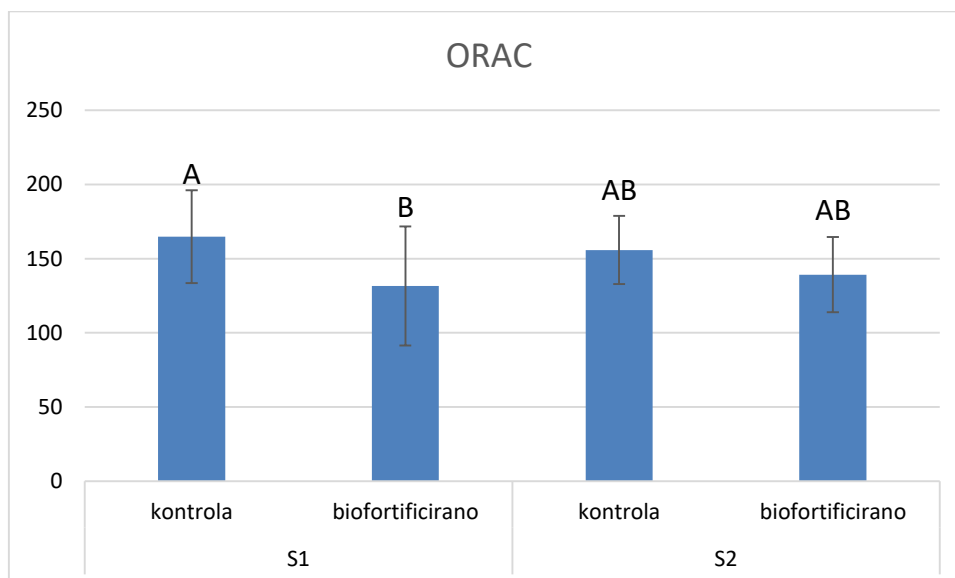
Grafikon 107. Utjecaj sorte i svjetlosnih uvjeta uzgoja (S1, 2000 lx; S2, 800 lx) na antioksidativnu aktivnost utvrđenu metodom ORAC (mmol Trolox/mL) u soku pšenične trave

Dvosmjernom analizom varijance utvrđen je značajan učinak interakcije biofortifikacije Se i Zn i smanjenja osvjetljenja pri uzgoju pšenične trave na vrijednost kapaciteta kelatiranja Fe iona ($F=7,02$; $p=0,0099$) i na antioksidativnu aktivnost utvrđenu metodom ORAC u soku pšenične trave ($F=8,28$; $p=0,0053$). Značajno više vrijednosti kapaciteta kelatiranja Fe iona su utvrđene u soku pšenične trave uzgajane pri tretmanu S2 (13,405 mmol EDTA Na/L za biofortificirane Se i Zn i nebiofortificirane 13,098 mmol EDTA Na/L), a pri 100 % osvjetljenju (S1) kapacitet kelatiranja Fe iona je iznosio 6,0946 mmol EDTA Na/L za nebiofortificirane biljke, odnosno 6,072 mmol EDTA Na/L za biofortificirane. (Grafikon 108.). Najviša ORAC vrijednost je utvrđena u soku pšenične trave na kojoj nije provedena biofortifikacija, a uzgajana

je pri tretmanu S1 (164,76 mmol Trolox/mL), a najniža u soku pšenične trave uzgajane pri već jednakom tretmanu, ali s provedenom biofortifikacijom (131,58 mmol Trolox/mL) (Grafikon 109.).

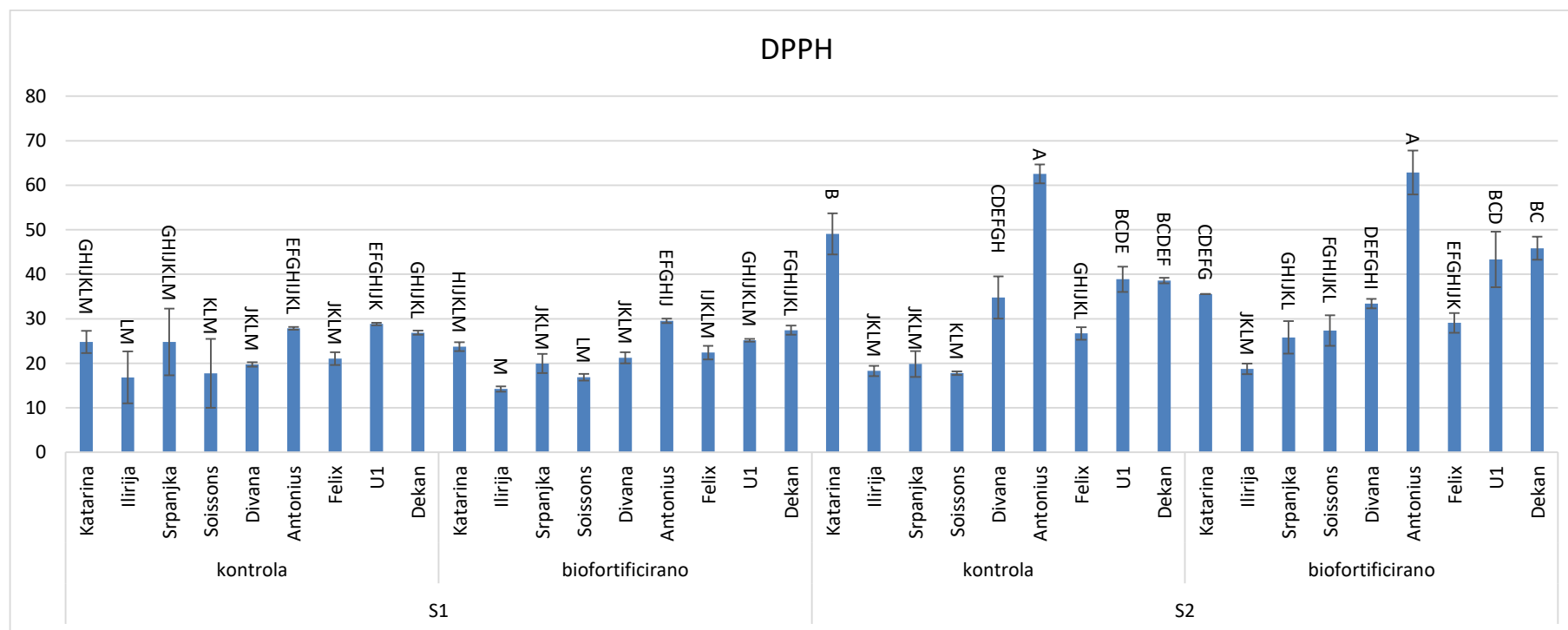


Grafikon 108. Utjecaj svjetlosnih uvjeta uzgoja (S1, 2000 lx; S2, 800 lx) i biofortifikacije Se i Zn na sposobnost kelatiranja Fe iona (mmol EDTA Na/L) u soku pšenične trave



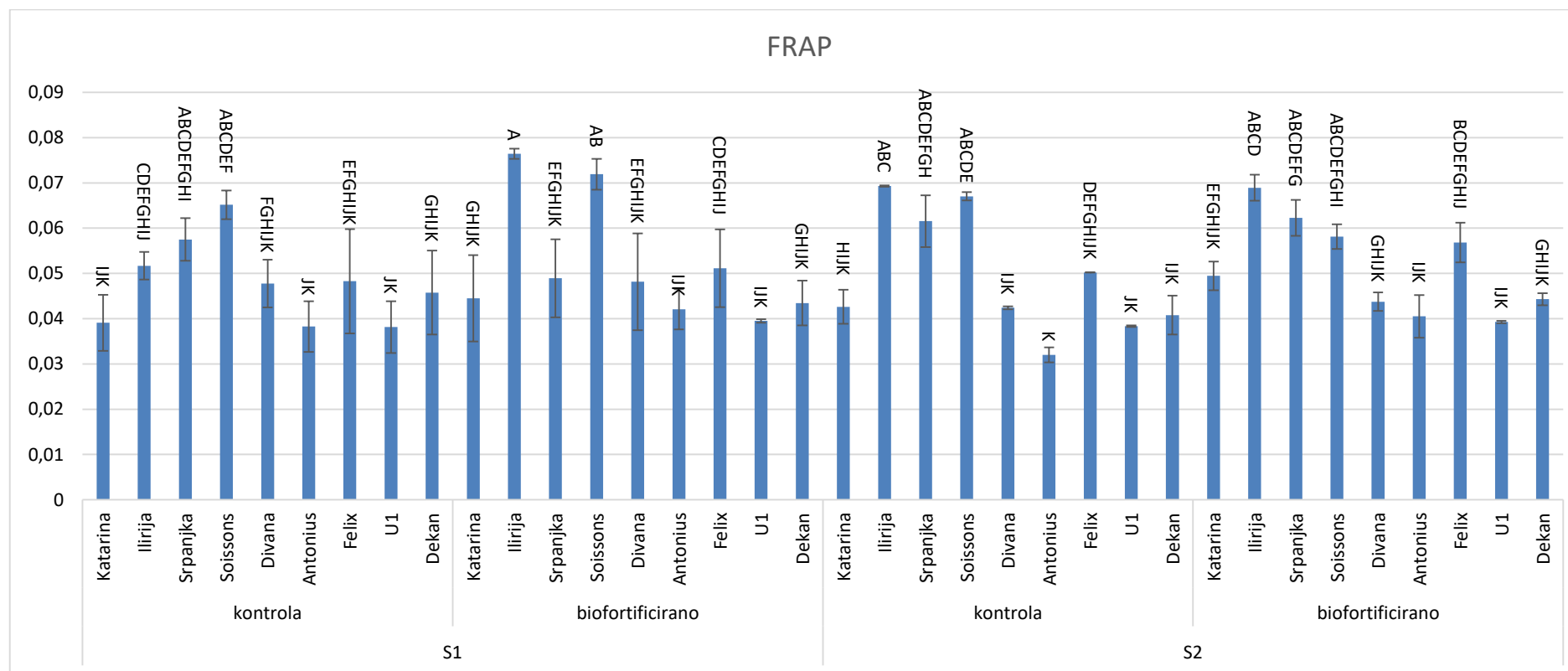
Grafikon 109. Utjecaj svjetlosnih uvjeta uzgoja (S1, 2000 lx; S2, 800 lx) i biofortifikacije Se i Zn na antioksidativnu aktivnost utvrđenu metodom ORAC (mmol Trolox/mL) u soku pšenične trave

Trosmjernom analizom varijance utvrđen je značajan učinak interakcije sorte, biofortifikacije Se i Zn i smanjenog osvjetljenja pri uzgoju pšenične trave (S1, 2000 lx; S2, 800 lx) na vrijednosti antioksidativne aktivnosti određene DPPH metodom ($F=4,46$; $p=0,0002$) (Grafikon 110.), FRAP metodom ($F=3,56$; $p=0,0016$) (Grafikon 111.), sposobnost kelatiranja Fe iona ($F=4,1$; $p=0,0005$) (Grafikon 112.) i sadržaj vitamina C ($F=12,67$; $p\leq 0,0001$) (Grafikon 113.) u soku pšenične trave. Najviša vrijednost potrebne količine soka pšenične trave za 50 % inhibicije utvrđena je u soku pšenične trave sorte Antonius biofortificirane Se i Zn i uzgajane pri manjem osvjetljenju (800 lx) (62,86 μL), a u soku pšenične trave sorte Ilirija biofortificirane Se i Zn i uzgajane pri 100 % osvjetljenju, odnosno pri 2000 lx (14,23 μL) (Grafikon 110.).



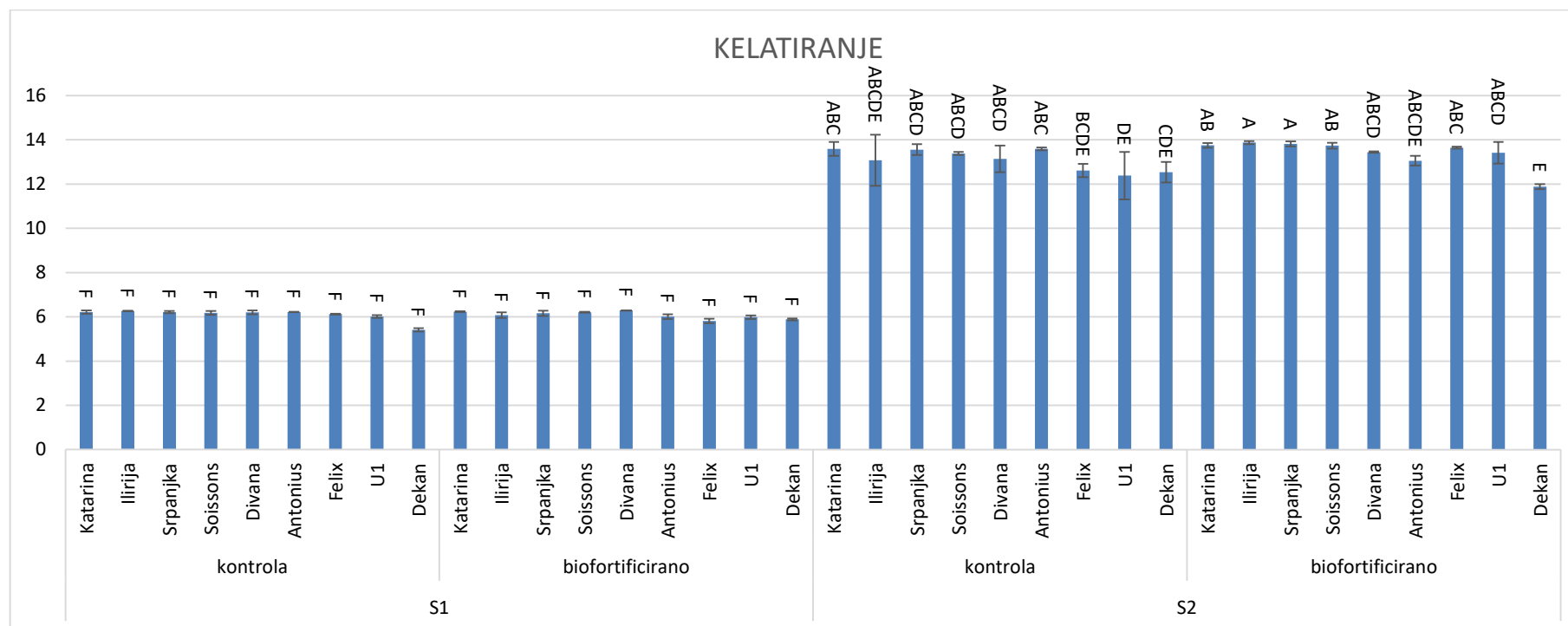
Grafikon 110. Utjecaj sorte, biofortifikacije Se i Zn te svjetlosnih uvjeta uzgoja (S1, 2000 lx; S2, 800 lx) na antioksidativnu aktivnost utvrđenu metodom DPPH (μL pri IC50) u soku pšenične trave

Sok pšenične trave sorte Ilirija biofortificirane Se i Zn i uzgajane pri tretmanu S1 prema FRAP metodi imao je najvišu vrijednost antioksidativne aktivnosti (0,076 mmol FeSO₄/mL), a najniža vrijednost je utvrđena u soku pšenične trave sorte Antonius koja je uzgajana pri tretmanu S2 i na kojoj nije provedena biofortifikacija (0,032 mmol FeSO₄/mL) (Grafikon 111.).



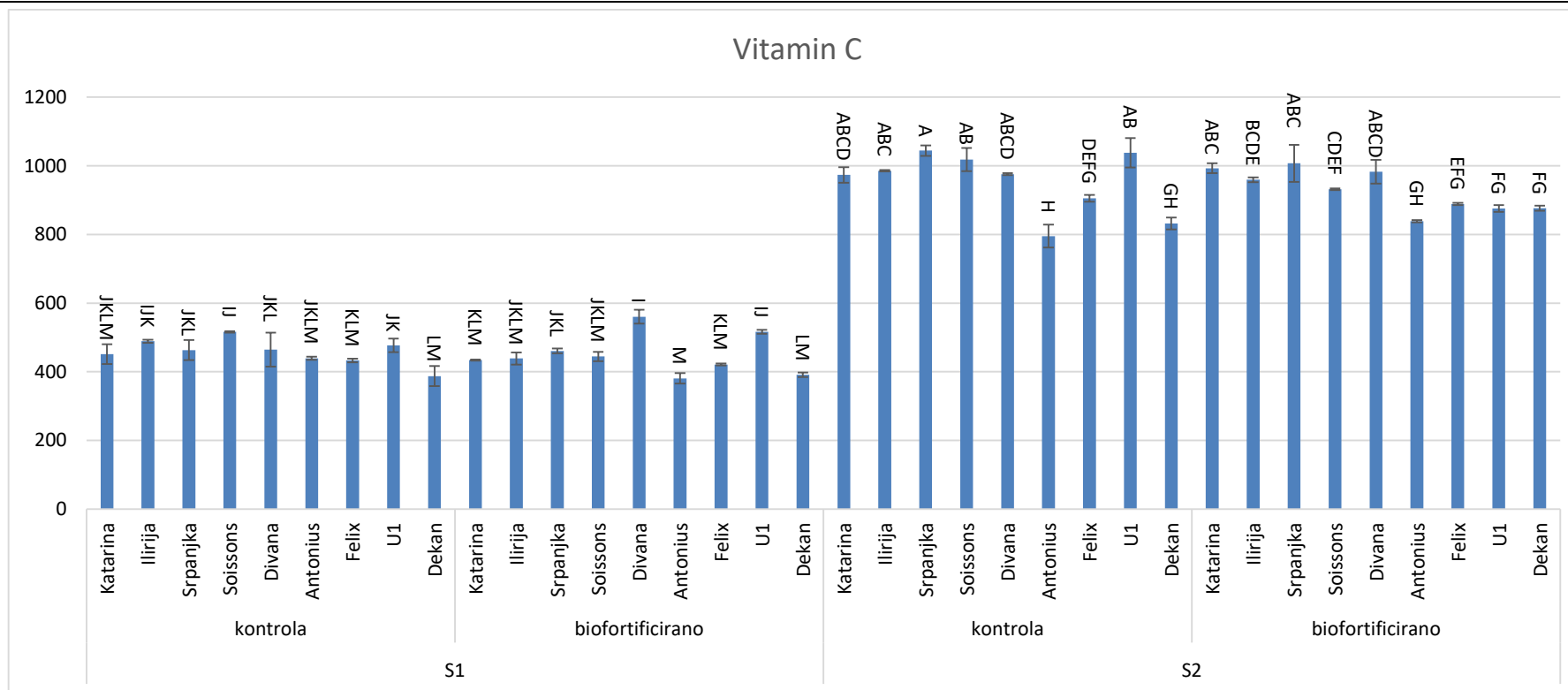
Grafikon 111. Utjecaj sorte, biofortifikacije Se i Zn te svjetlosnih uvjeta uzgoja (S1, 2000 lx; S2, 800 lx) na antioksidativnu aktivnost utvrđenu metodom FRAP (mmol FeSO₄/mL) u soku pšenične trave

Najviša vrijednost kapaciteta kelatiranja Fe iona utvrđena je u soku pšenične trave sorte Ilirija biofortificirane Se i Zn i uzgajane pri tretmanu S2 (13,879 mmol EDTA Na/L), a najniža vrijednost je utvrđena u soku pšenične trave sorte Dekan koja nije biofortificirana i koja je uzgajana pri tretmanu S1 (5,418 mmol EDTA Na/L) (Grafikon 112.).



Grafikon 112. Utjecaj sorte, biofortifikacije Se i Zn te svjetlosnih uvjeta uzgoja (S1, 2000 lx; S2, 800 lx) na sposobnost kelatiranja Fe iona (mmol EDTA Na/L) u soku pšenične trave

Najviša vrijednost sadržaja vitamina C je utvrđena u soku pšenične trave sorte Srpanjka na kojoj nije provedena biofortifikacija i koja je uzgajana pri tretmanu S2 (1044,12 $\mu\text{g/mL}$), a najniža vrijednost je utvrđena u soku pšenične trave sorte Antonius biofortificirane Se i Zn uzgajane pri tretmanu S1 (380,96 $\mu\text{g/mL}$) (Grafikon 113.).



Grafikon 113. Utjecaj sorte, biofortifikacije Se i Zn te svjetlosnih uvjeta uzgoja (S1, 2000 lx; S2, 800 lx) na sadržaj vitamina C ($\mu\text{g/mL}$) u soku pšenične trave

Utvrđen je značajan učinak sorte na sadržaj MDA u soku pšenične trave. U soku pšenične trave sorte Dekan utvrđena je najviša vrijednost sadržaja MDA, a najniža u soku pšenične trave sorte Ilirija. Vrijednosti prolina u soku pšenične trave su se kretale od 0,579 mmol/L (Dekan) do 0,666 mmol/L (Srpanjka) (Tablica 47.). Biofortifikacija Se i Zn imala je značajan učinak na sadržaj MDA u soku pšenične trave. Više vrijednosti MDA su utvrđene u sokovima pšenične trave koja je biofortificirana u odnosu na nebiofortificiranu. Sadržaj prolina bio je viši u sokovima pšenične trave koje nisu biofortificirane, ali statistički značajna razlika nije utvrđena (Tablica 48.). Smanjeno osvjetljenje sa 100 na 30 % pri uzgoju pšenične trave imalo je značajan učinak na sadržaj prolina u soku pšenične trave (Tablica 49.). Viši sadržaj prolina je bio u soku pšenične trave koja je uzgajana pri 100 % osvjetljenju (S1).

Tablica 47. Utjecaj sorte na sadržaj MDA (mmol/L) i prolina (mmol/L) u soku pšenične trave

SORTA	MDA	Prolin
Antonius	10,10 ± 0,83	0,573 ± 0,041
Dekan	12,34 ± 1,05	0,610 ± 0,033
Divana	11,7 ± 1,74	0,623 ± 0,021
Felix	11,69 ± 2,10	0,639 ± 0,093
Ilirija	9,25 ± 0,88	0,628 ± 0,055
Katarina	9,52 ± 1,56	0,661 ± 0,095
Soissons	10,06 ± 1,31	0,617 ± 0,057
Srpanjka	10,93 ± 1,41	0,674 ± 0,120
U1	9,29 ± 0,62	0,592 ± 0,059
MSD	2,0523	0,1072
F	42,74	2,38
<i>p</i>	≤0,0001	0,0216

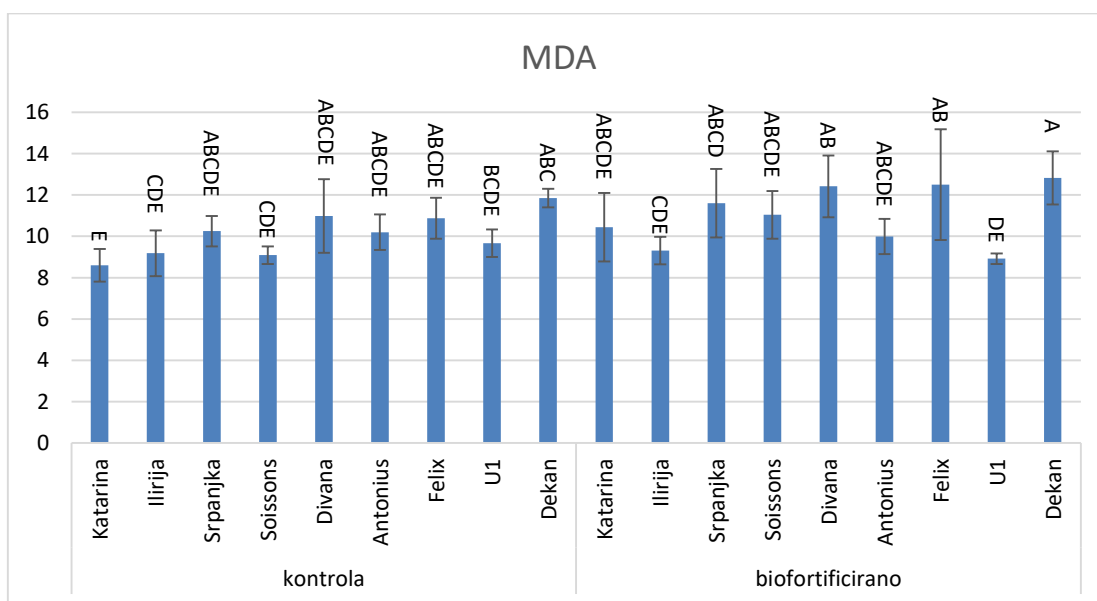
Tablica 48. Utjecaj biofortifikacije Se i Zn na sadržaj MDA (mmol/L) i prolina (mmol/L) u soku pšenične trave

TRETMAN	MDA	Prolin
biofortificirano	11,00 ± 1,92	0,616 ± 0,060
kontrola	10,08 ± 1,32	0,633 ± 0,086
MSD	0,8314	0,0375
F	61,67	3,45
<i>p</i>	≤0,0001	0,0673

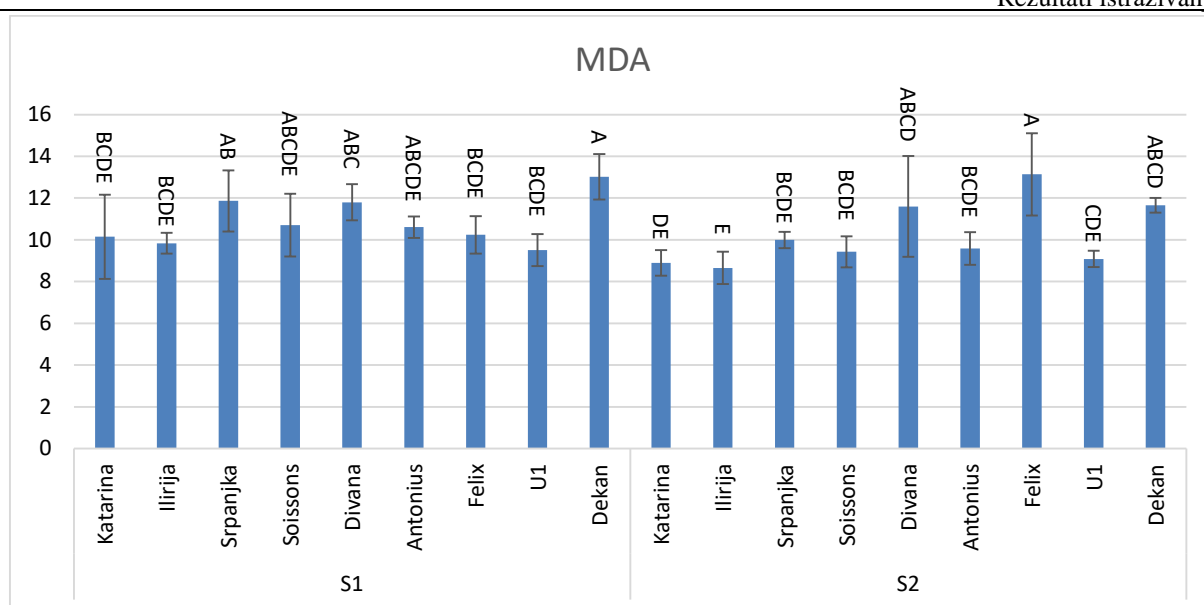
Tablica 49. Utjecaj svjetlosnih uvjeta uzgoja (S1, 2000 lx; S2, 800 lx) na sadržaj MDA i prolina u soku pšenične trave

TRETMAN	MDA	Prolin
S1	10,86 ± 1,53	0,665 ± 0,078
S2	10,22 ± 1,82	0,584 ± 0,042
MSD	0,8492	0,0316
F	3,83	77,74
<i>p</i>	0,053	≤0,0001

Dvosmjernom analizom varijance utvrđen je značajan učinak sorte i biofortifikacije Se i Zn na sadržaj MDA ($F=7,51$; $p\leq 0,0001$) u soku pšenične trave (Grafikon 114.). Najviša vrijednost sadržaja MDA utvrđena je u soku pšenične trave sorte Dekan biofortificirane Se i Zn (12,83 mmol/mL), a u soku pšenične trave sorte Katarina na kojoj nije provedena biofortifikacija Se i Zn utvrđena je najniža vrijednost MDA (8,60 mmol/L) (Grafikon 114.). Utvrđena je značajna interakcija sorte i različite jačine osvjetljenja pri uzgoju na sadržaj MDA u soku pšenične trave ($F=15,94$; $p\leq 0,0001$) (Grafikon 115.). U soku pšenične trave sorte Felix koja je uzgajana pri tretmanu S2 utvrđena je najviša vrijednost sadržaja MDA (13,13 mmol/L), a najniža vrijednost je utvrđena u soku pšenične trave sorte Ilirija koja je uzgajana pri istom osvjetljenju (8,66 mmol/L) (Grafikon 115.)

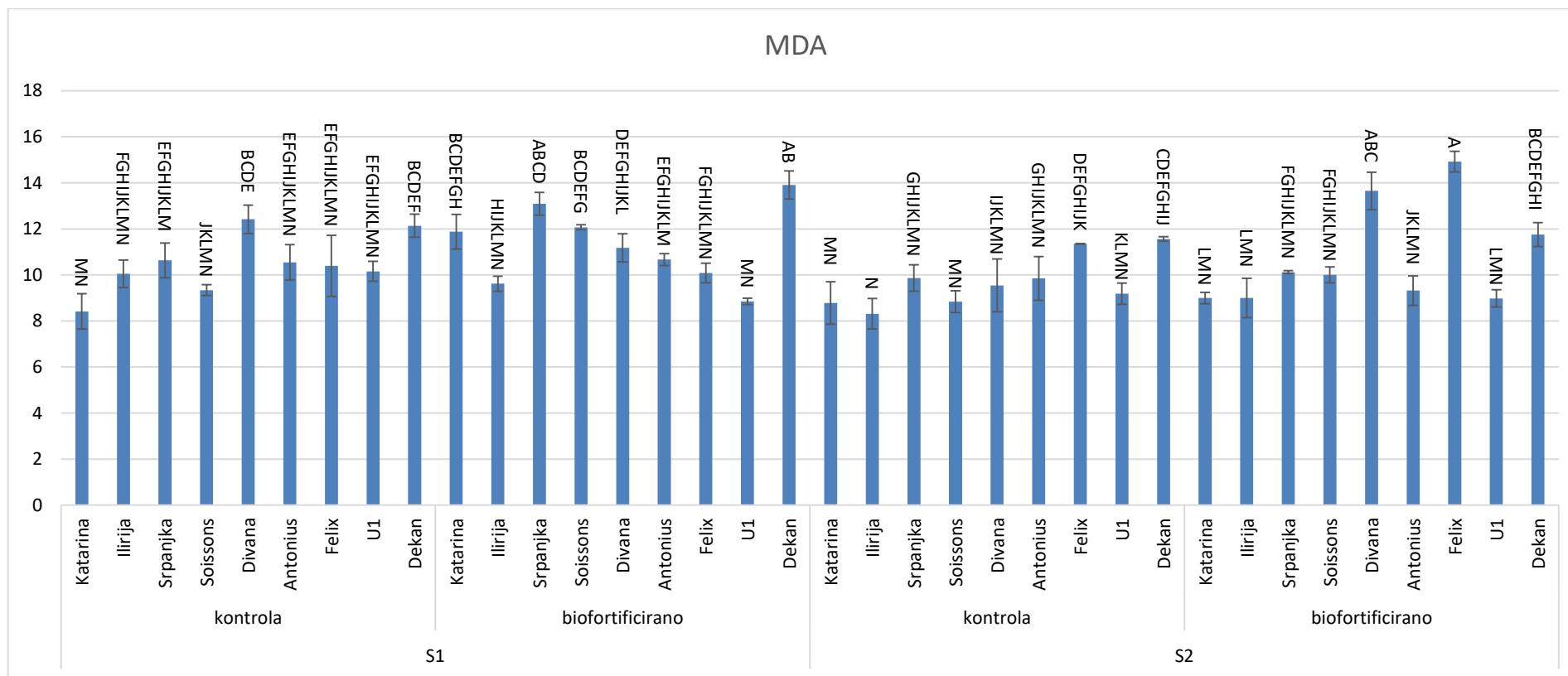


Grafikon 114. Utjecaj sorte i biofortifikacije Se i Zn na sadržaj MDA (mmol/L) u soku pšenične trave



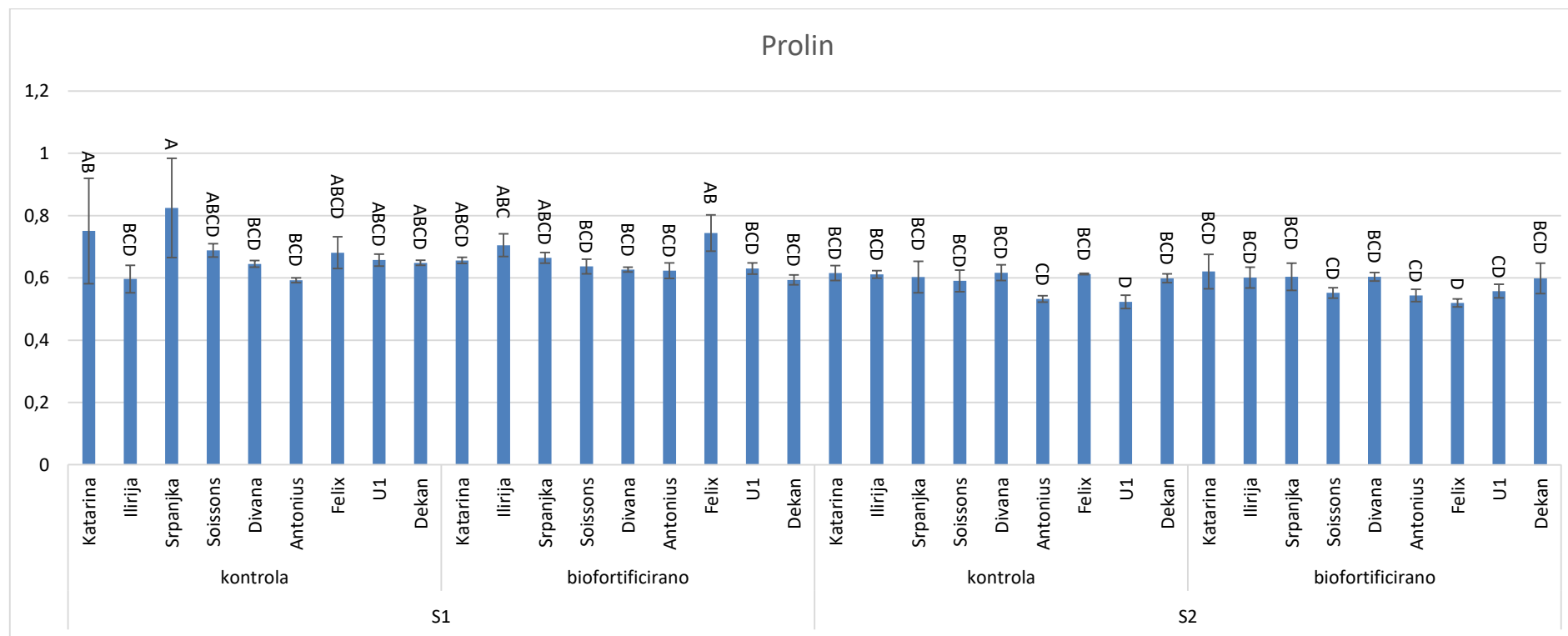
Grafikon 115. Utjecaj sorte i svjetlosnih uvjeta uzgoja (S1, 2000 lx; S2, 800 lx) na sadržaj MDA (mmol/L) u soku pšenične trave

Utvrđena je značajna interakcija sorte, biofortifikacije Se i Zn i osvjetljenja uzgoja na sadržaj MDA ($F=16,47$; $p \leq 0,0001$) i prolina ($F=3,3$; $p=0,0029$) u soku pšenične trave. Najviša vrijednost sadržaja MDA je utvrđena u soku pšenične trave sorte Felix biofortificirane Se i Zn i uzgajane pri tretmanu S2 (14,92 mmol/L) a, u soku pšenične trave sorte Ilirija na kojoj nije provedena biofortifikacija i uzgajana je pri tretmanu S2 utvrđena je najniža vrijednost MDA (8,31 mmol/L) (Grafikon 116.).



Grafikon 116. Utjecaj sorte, biofortifikacije Se i Zn te svjetlosnih uvjeta uzgoja (S1, 2000 lx; S2, 800 lx) na sadržaj MDA (mmol/L) u soku pšenične trave

Najviša vrijednost sadržaja prolina u soku pšenične trave utvrđena je kod sorte Srpanjke na kojoj nije provedena biofortifikacija Se i Zn i koja je uzgajana pri tretmanu S1 (0,825 mmol/L), a u soku pšenične trave sorte Felix, na kojoj je provedena biofortifikacija i koja je uzgajana pri tretmanu S2 utvrđena je najniža vrijednost sadržaja prolina (0,520 mmol/L) (Grafikon 117.).



Grafikon 117. Utjecaj sorte, biofortifikacije Se i Zn te svjetlosnih uvjeta uzgoja (S1, 2000 lx; S2, 800 lx) na sadržaj prolina (mmol/L) u soku pšenične trave

Aritmetičke sredine fenolnih spojeva ispitivanih sorata pšenice uspoređene su Tukeyevim testom na razini značajnosti od 99 %. Utvrđeno je postojanje statistički značajnih razlika između sorata pšenične trave za ukupne fenole, flavonoide, fenolne kiseline i flavanole u soku pšenične trave. Sok pšenične trave sorte Ilirija sadržavao je najviše fenola, flavonoida, fenolnih kiselina i flavanola, a sok pšenične trave sorte Dekan je imao najmanje flavanola. Najniža vrijednost sadržaja fenola, flavonoida i fenolnih kiselina je utvrđena u soku pšenične trave sorte Antonius (Tablica 50.). Biofortifikacija Se i Zn nije imala značajan učinak na sadržaj fenolnih spojeva u soku pšenične trave (Tablica 51.). Smanjenje osvjetljenja sa 100 na 30 % pri uzgoju pšenične trave imalo je značajan učinak na sadržaj ukupnih fenola, fenolnih kiselina i flavanola (Tablica 52.).

Tablica 50. Utjecaj sorte na sadržaj fenola (mg GAE/mL), flavonoida (μg QCE/mL), fenolnih kiselina (mg KE/mL) i flavanola (mg KTE/L) u soku pšenične trave

SORTA	Fenoli	Flavonoidi	Fenolne kiseline	Flavanoli
Antonius	9,74 \pm 0,45	66,29 \pm 7,15	0,829 \pm 0,293	6,83 \pm 0,80
Dekan	10,09 \pm 0,91	78,85 \pm 2,55	1,097 \pm 0,364	6,00 \pm 0,59
Divana	10,90 \pm 1,02	97,16 \pm 11,93	1,117 \pm 0,372	8,32 \pm 0,56
Felix	10,62 \pm 1,25	112,88 \pm 5,33	1,322 \pm 0,468	7,74 \pm 0,46
Ilirija	12,95 \pm 0,89	177,52 \pm 6,80	1,789 \pm 0,494	9,00 \pm 0,80
Katarina	9,85 \pm 1,13	107,47 \pm 5,22	0,992 \pm 0,327	7,18 \pm 1,16
Soissons	12,32 \pm 0,53	143,64 \pm 7,79	1,745 \pm 0,616	8,28 \pm 0,60
Srpanjka	12,01 \pm 1,18	125,92 \pm 11,12	1,393 \pm 0,332	8,08 \pm 0,91
U1	10,31 \pm 0,90	72,66 \pm 6,26	1,240 \pm 0,537	6,11 \pm 0,52
MSD	1,4422	11,566	0,6589	1,125
F	53,54	710,27	53,5	36,28
<i>p</i>	$\leq 0,0001$	$\leq 0,0001$	$\leq 0,0001$	$\leq 0,0001$

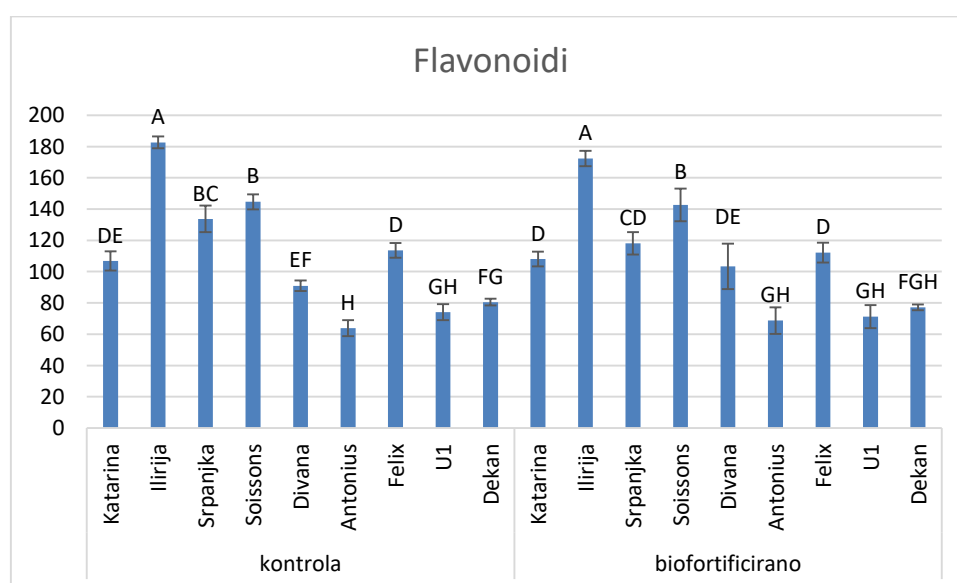
Tablica 51. Utjecaj biofortifikacije Se i Zn na sadržaj fenola (mg GAE/mL), flavonoida (μg QCE/mL), fenolnih kiselina (mg KE/mL) i flavanola (mg KTE/L) u soku pšenične trave

TRETMAN	Fenoli	Flavonoidi	Fenolne kiseline	Flavanoli
biofortificirano	10,99 \pm 1,33	108,20 \pm 33,34	1,348 \pm 0,561	7,47 \pm 1,17
kontrola	10,96 \pm 1,55	110,11 \pm 36,73	1,213 \pm 0,469	7,54 \pm 1,28
MSD	0,729	17,703	0,2609	0,6174
F	0,1	4,49	1,84	0,42
<i>p</i>	0,7525	0,0375	0,1783	0,519

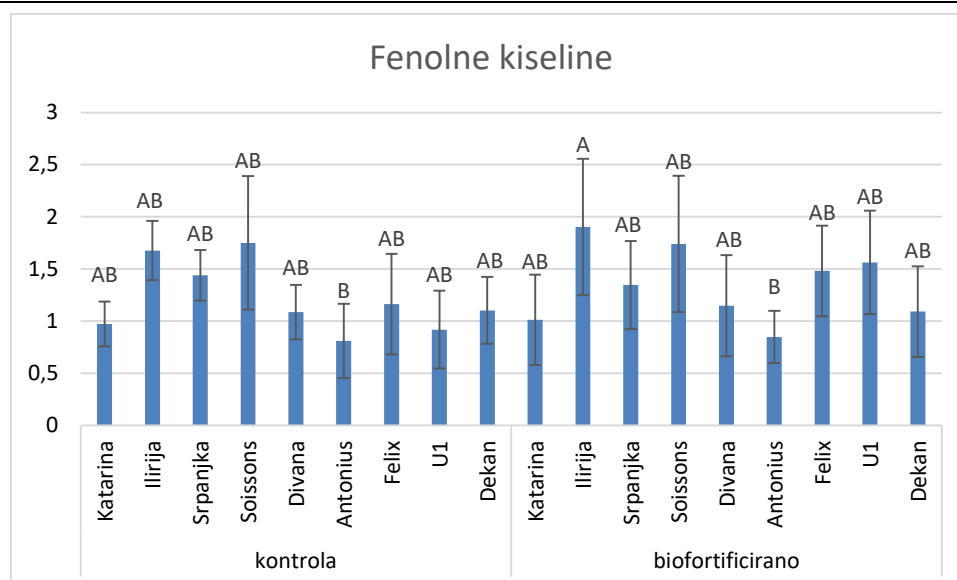
Dvosmjernom analizom varijance utvrđen je učinak interakcije sorte i biofortifikacije Se i Zn na sadržaj flavonoida ($F=8,93$; $p \leq 0,0001$) (Grafikon 118.) i fenolnih kiselina ($F=6,7$; $p \leq 0,0001$) (Grafikon 119.) u soku pšenične trave. U soku pšenične trave sorte Antonius na kojoj nije provedena biofortifikacija Se i Zn utvrđene su najniže vrijednosti sadržaja flavonoida ($63,84 \mu\text{g QCE/mL}$) i fenolnih kiselina ($0,810 \text{ mg KE/mL}$). Najviša vrijednost sadržaja flavonoida je utvrđena u soku pšenične trave sorte Ilirija koja nije biofortificirana ($182,67 \mu\text{g QCE/mL}$), ali se vrijednost nije statistički značajno razlikovala od utvrđene vrijednosti u soku iste sorte biofortificirane Se i Zn ($172,38 \mu\text{g QCE/mL}$). Sok pšenične trave sorte Ilirija biofortificirane Se i Zn je imao najviše fenolnih kiselina ($1,902 \text{ mg KE/mL}$).

Tablica 52. Utjecaj svjetlosnih uvjeta uzgoja (S1, 2000 lx; S2, 800 lx) na sadržaj fenola (mg GAE/mL), flavonoida ($\mu\text{g QCE/mL}$), fenolnih kiselina (mg KE/mL) i flavanola (mg KTE/L) u soku pšenične trave

TRETMAN	Fenoli	Flavonoidi	Fenolne kiseline	Flavanoli
S1	$10,37 \pm 1,36$	$109,24 \pm 32,63$	$1,576 \pm 0,437$	$7,16 \pm 1,25$
S2	$11,59 \pm 1,25$	$109,07 \pm 37,38$	$0,985 \pm 0,418$	$7,85 \pm 1,09$
MSD	0,6591	17,71	0,2159	0,5917
F	131,91	0,03	401,03	36,49
<i>p</i>	$\leq 0,0001$	0,8589	$\leq 0,0001$	$\leq 0,0001$

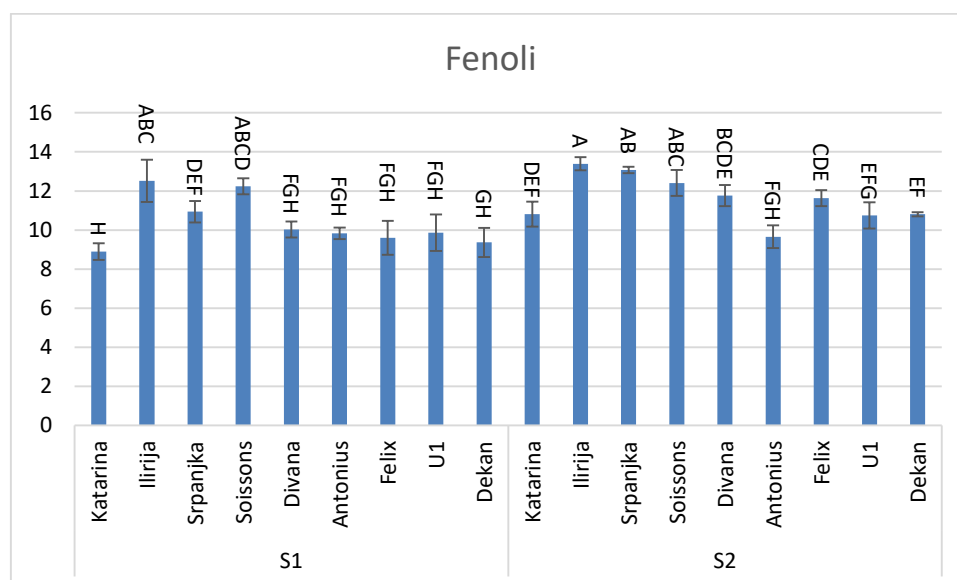


Grafikon 118. Utjecaj biofortifikacije Se i Zn i sorte na sadržaj flavonoida ($\mu\text{g QCE/mL}$) u soku pšenične trave



Grafikon 119. Utjecaj biofortifikacije Se i Zn i sorte na sadržaj fenolne kiseline (mg KE/mL) u soku pšenične trave

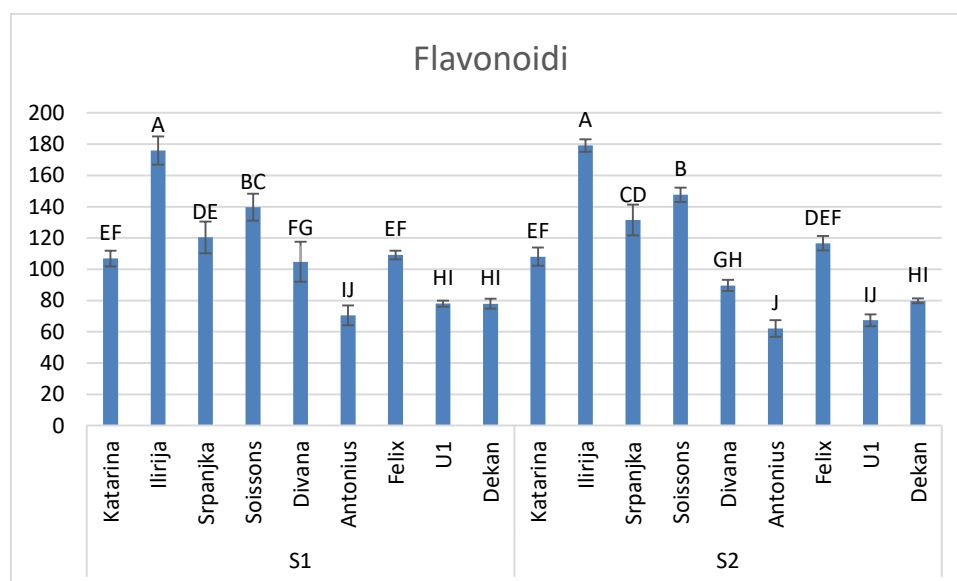
Utvrđena je značajna interakcija sorte i svjetlosnih uvjeta pri uzgoju pšenične trave na sadržaj ukupnih fenola ($F=6,86$; $p \leq 0,0001$) (Grafikon 120.), flavonoida ($F=11,43$; $p \leq 0,0001$) (Grafikon 121.), fenolnih kiselina ($F=14,17$; $p \leq 0,0001$) (Grafikon 122.) i flavanola ($F=2,89$; $p=0,0076$) (Grafikon 123.). Vrijednosti sadržaja fenola u soku pšenične trave su se kretale od 8,89 mg GAE/mL (sorta Katarina, S1) do 13,39 mg GAE/mL (sorta Ilirija, S2) (Grafikon 120.).



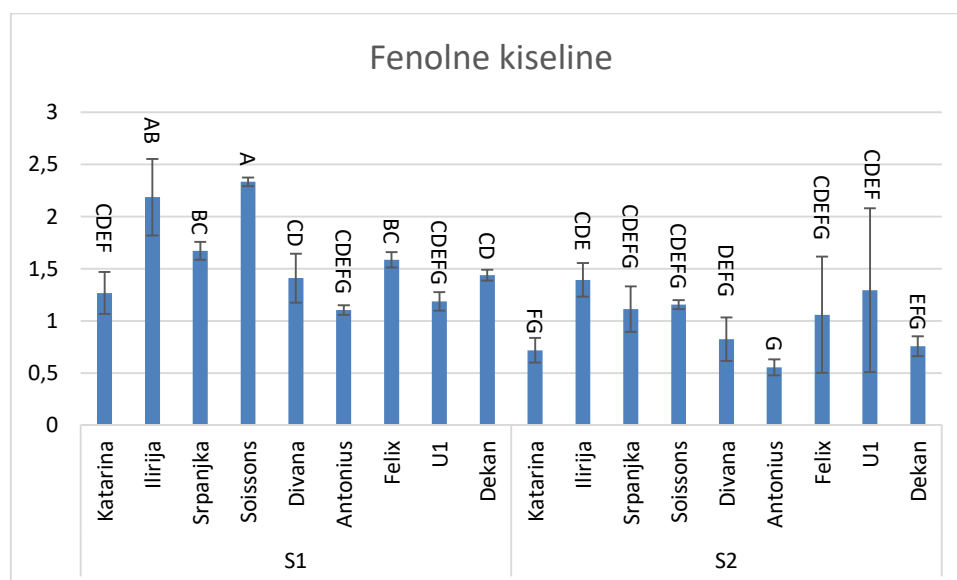
Grafikon 120. Utjecaj sorte i svjetlosnih uvjeta uzgoja (S1, 2000 lx; S2, 800 lx) na sadržaj fenola (mg GAE/mL) u soku pšenične trave

Najviša vrijednost sadržaja flavonoida utvrđena je u soku pšenične trave sorte Ilirija, pri tretmanu S2 (179,12 μg QCE/mL), a u soku pšenične trave sorte Antonius pod jednakim osvjetljenjem utvrđena je najniža vrijednost sadržaja flavonoida (62,08 μg QCE/mL) (Grafikon

121.). Najviši sadržaj fenolnih kiselina je utvrđen u soku pšenične trave sorte Soissons uzgajane pri tretmanu S1 (2,333 mg KE/mL), a najmanji u soku pšenične trave sorte Antonius uzgajane pri tretmanu S2 (0,554 mg KE/mL) (Grafikon 122.).

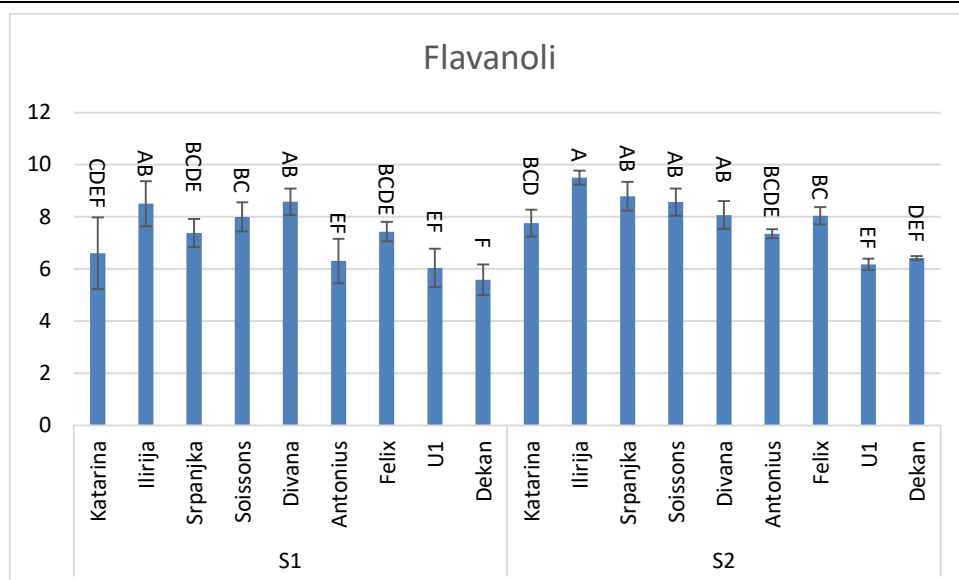


Grafikon 121. Utjecaj sorte i svjetlosnih uvjeta uzgoja (S1, 2000 lx; S2, 800 lx) na sadržaj flavonoida ($\mu\text{g QCE/mL}$) u soku pšenične trave



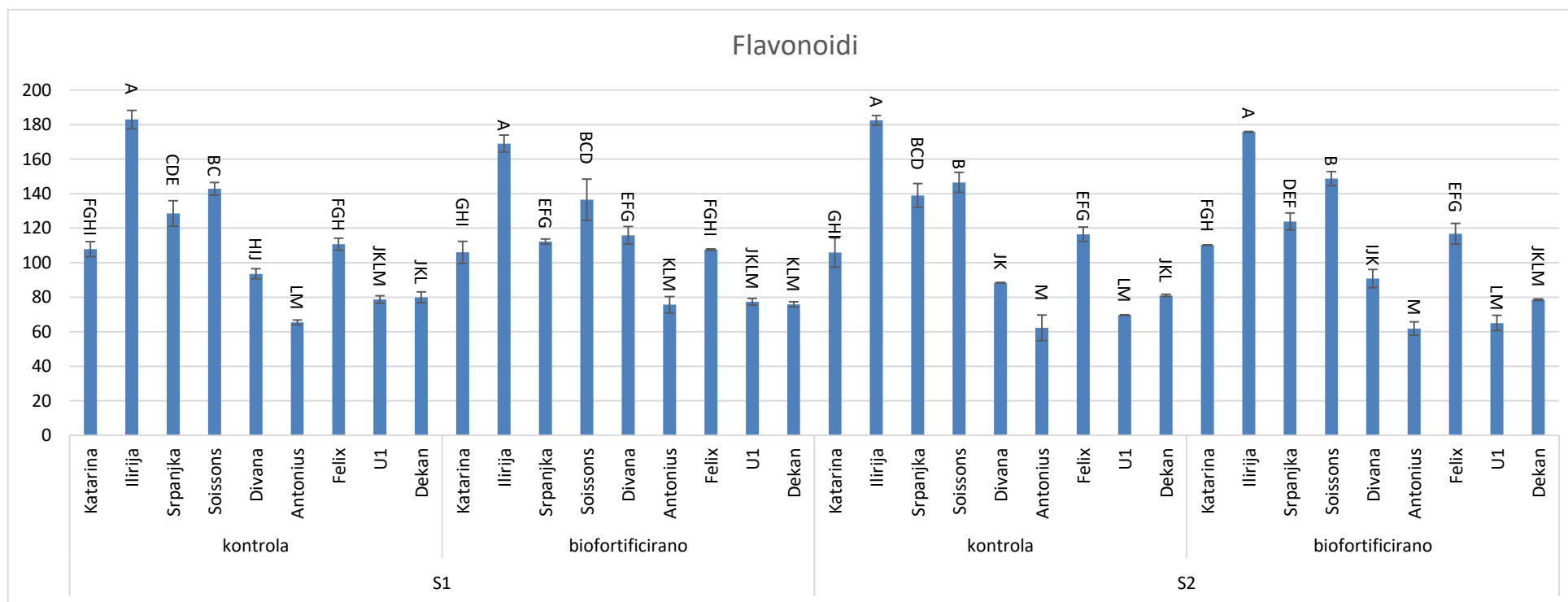
Grafikon 122. Utjecaj sorte i svjetlosnih uvjeta uzgoja (S1, 2000 lx; S2, 800 lx) na sadržaj fenolnih kiselina (mg KE/mL) u soku pšenične trave

Najviša vrijednost sadržaja flavanola je utvrđena u soku pšenične trave sorte Ilirija uzgajane pri tretmanu S2 (9,50 mg KTE/L), a u soku pšenične trave sorte Dekan uzgajane pri tretmanu S1 utvrđena je najniža vrijednost sadržaja flavanola (5,59 mg KTE/L) (Grafikon 123.).



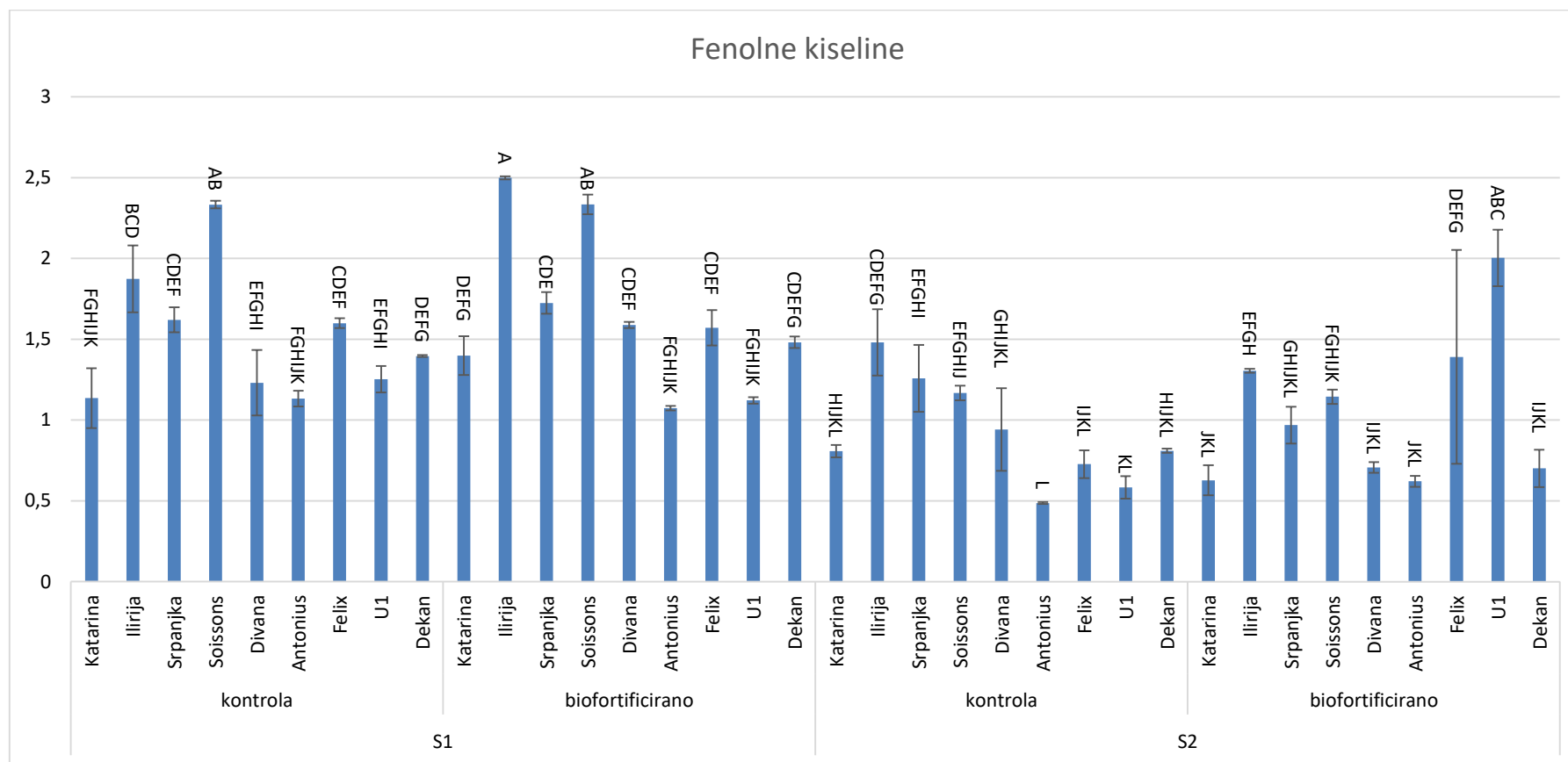
Grafikon 123. Utjecaj sorte i svjetlosnih uvjeta uzgoja (S1, 2000 lx; S2, 800 lx) na sadržaj flavanola (mg KTE/L) u soku pšenične trave

Trosmjernom analizom varijance utvrđen je značajan učinak interakcije sorte, biofortifikacije Se i Zn i smanjenog osvjetljenja pri uzgoju pšenične trave na sadržaj flavonoida ($F=2,98$; $p=0,0062$) (Grafikon 124.) i fenolnih kiselina ($F=17,18$; $p\leq 0,0001$) (Grafikon 125.). U soku pšenične trave statistički značajno najviše vrijednosti sadržaja flavonoida su utvrđene u sokovima sorte Ilirija kod svih tretmana i uvjeta uzgoja, od kojih je najviša vrijednost iznosila 182,89 $\mu\text{g QCE/mL}$ u soku pšenične trave na kojem nije provedena biofortifikacija i koja je uzgajana u uvjetima tretmana S1. Najniža vrijednost je iznosila 61,86 $\mu\text{g QCE/mL}$ i utvrđena je u soku pšenične trave sorte Antonius biofortificirane Se i Zn i uzgajana pri tretmanu S2 (Grafikon 124.).



Grafikon 124. Utjecaj sorte, biofortifikacije Se i Zn te svjetlosnih uvjeta uzgoja (S1, 2000 lx; S2, 800 lx) na sadržaj flavonoida ($\mu\text{g QCE/mL}$) u soku pšenične trave

Najviša vrijednost sadržaja fenolnih kiselina utvrđena je u soku pšenične trave sorte Ilirija biofortificirane Se i Zn i uzgajane pri tretmanu S1 i iznosila je 2,499 mg KE/mL. Sok sorte Antonius na kojem nije provedena biofortifikacija i koji je uzgajan pri tretmanu S2 imao je 0,487 mg KE/mL, što je najniža utvrđena vrijednost u sokovima (Grafikon 125.).



Grafikon 125. Utjecaj sorte, biofortifikacije Se i Zn te svjetlosnih uvjeta uzgoja (S1, 2000 lx; S2, 800 lx) na sadržaj fenolnih kiselina (mg KE/mL) u soku pšenične trave

6. RASPRAVA

6.1. Sortna specifičnost pšenične trave u sadržaju biološki aktivnih komponenti u soku
 Genotip ima vrlo značajnu ulogu u određivanju nutritivne vrijednosti klijanaca žitarica. Veliki je broj istraživanja koja na temelju sadržaja bioaktivnih spojeva grupiraju genotipove žitarica prema određenim sličnostima (Hussain i sur., 2012; Shewry i Hey, 2015; Yilmaz i sur., 2015; Žilić, 2016; Benincasa i sur., 2019; Altuner i sur., 2021; Heo i sur., 2022). Genotip posebno utječe na sve komponente koje određuju tehnološku i prehrambenu kakvoću pšenice te su utvrđeni kodirajući geni za većinu spojeva (Shewry i sur., 2010; Johansson i sur., 2020). Narwal i sur. (2016) su utvrdili značajan učinak genotipa na antioksidativnu aktivnost i sadržaj fenola u ječmu.

U prvom dijelu pokusa, uzgojeno je 100 sorti pšenične trave i 5 divljih srodnika te je u svježe iscijeđenom soku utvrđen sadržaj kloroplastnih pigmenata, fenola, flavonoida te ukupna antioksidativna aktivnost DPPH metodom. Aritmetičke sredine tri ponavljanja ispitivanih svojstava pšenične trave utvrđene su Tukeyvim testom na razini značajnosti od 99 %. Utvrđene su statistički značajne razlike između genotipova pšenice za sva ispitivana svojstva osim za sadržaj klorofila b, omjer klorofila a i b te omjer klorofila i karotenoida, koje upućuju na veliku varijabilnost ispitivanih svojstava u soku pšenične trave kod ispitivanih 100 sorata i 5 divljih srodnika.

U istraživanjima Di Silvestro i sur. (2017), također je utvrđena velika varijabilnost u antioksidativnoj aktivnosti u zrnu ispitivanih genotipova pšenice, dok su Kaur i sur. (2021) utvrdili značajne razlike prethodno navedenog pokazatelja testirajući prah i sokove različitih sorata pšenične trave.

Benincasa i sur. (2015) potvrđuju da je sadržaj fenolnih kiselina u pšeničnoj travi također sortno specifično svojstvo, isto kao i sadržaj fenola te ukupna antioksidativna aktivnost utvrđena DPPH metodom, što također u svojim istraživanjima potvrđuje i Şavşatlı (2020).

Nadalje, u sokovima pšenične trave ispitivanih sorti u istraživanjima Ghumman i sur. (2017), utvrđene su značajne razlike između sorata u sadržaju kloroplastnih pigmenata i pojedinih fenolnih spojeva, međutim antioksidativna aktivnost utvrđena DPPH metodom se nije značajno razlikovala. Chomchan i sur. (2016) su ispitivali kvalitetu nutritivnog sastava soka pšenične i rižine trave te utvrdili značajne razlike u sadržaju kloroplastnih pigmenata, vitamina C i

antioksidativne aktivnosti utvrđene FRAP metodom.

Značajan utjecaj sorte na sadržaj fenola, flavonoida i kloroplastnih pigmenata u sokovima pšenične trave, potvrdili su i Özköse i sur. (2016), ističući važnost utjecaja genotipa na biološki aktivne komponente u sastavu mladih klijanaca pšenice.

Bez obzira što se radi o mladim klijanacima i početnom porastu biljaka, već u najranijim fazama postoje značajne razlike u nutritivnoj kvaliteti soka, što upućuje na važan utjecaj genotipa na sadržaj biološki aktivnih komponenti. Na osnovu klaster analize varijabilnosti ispitivanih svojstava, za daljnje pokuse je odabrano 9 najvarijabilnijih sorata pšenice koje su posijane u polje te biofortificirane selenom i cinkom. Utjecaj genotipa je vidljiv u prvom dijelu pokusa ali i u svima daljnjim fazama provedenih istraživanja u kojima je ispitivana kvaliteta nutritivnog sastava soka pšenične trave kod 9 sorti uzgajanih u kontroliranim uvjetima iz sjemena biofortificirane pšenice.

6.2. Utjecaj dana otkosa i biofortifikacije Se i Zn na sadržaj biološki aktivnih komponenti u soku pšenične trave

U trećem dijelu pokusa 9 sorti pšenične trave je uzgajano u kontroliranim uvjetima te je testiran utjecaj sorte, biofortifikacije i dana otkosa na sadržaj biološki aktivnih komponenti te antioksidativni kapacitet soka pšenične trave. U prosjeku za sve sorte i varijante biofortifikacije, najviše vrijednosti sadržaja klorofila b i ukupnih klorofila, utvrđene su u soku pšenične trave dobivenom iz biljaka starih 8 dana (Tablica 9.). Svi ostali mjereni parametri, sadržaj klorofila a, karotenoida, vitamina C, fenola, flavonoida te vrijednosti antioksidativne aktivnosti utvrđenih DPPH i FRAP metodom, bili su najviši u soku pšenične trave iz otkosa obavljenog 6 dana nakon sjetve.

Nasuprot visokom sadržaju klorofila u soku biljaka starih 8 dana, utvrđene su najniže vrijednosti sadržaja fenola i flavonoida te karotenoida, što se posljedično reflektiralo na najviši omjer klorofila i karotenoida. Antioksidativni potencijal soka pšenične trave utvrđen DPPH metodom, nije se značajno razlikovao kod biljaka iz 8. i 10. dana otkosa a isto tako nisu utvrđene ni značajne razlike u sadržaju fenola, koji prema (Vertuani i sur., 2004; Huang i sur., 2005; Gülcin, 2012; Minatel i sur., 2017), imaju značajnu ulogu u ukupnom antioksidativnom potencijalu, značajniju od vitamina C (Tablica 12.).

Slične rezultate je dobila Kaushal (2017), koja je proučavala utjecaj starosti klijanaca pšenične trave na sadržaj flavonoida i antioksidativnu aktivnost u soku. Otkos je obavljen svaki dan od

prvog do petnaestog dana nakon sjetve te je analiziran sadržaj spomenutih biološki aktivnih komponenti u svježe pripremljenom soku. Vrijednosti za oba mjerena pokazatelja su rasle do 9. dana starosti, kada su utvrđeni maksimumi, a u svim otkosima do 15. dana, primijećen je pad vrijednosti sadržaja flavonoida kao i antioksidativne aktivnosti. Autorica zaključuje kako bi se za pripremu soka najkvalitetnijeg nutritivnog sastava trebale koristiti biljke stare do tjedan dana od nakon sjetve.

Također, Jančić i sur. (2022) su ispitivali utjecaj dana otkosa na kvalitetu soka pirove trave te utvrdili najveće vrijednosti antioksidativne aktivnosti određene FRAP metodom (101,4 μM Te/g) i najviši sadržaj ukupnih fenola u vodenim ekstraktima (107,1 mg GAE/g), kod otkosa obavljenog 9. dan nakon sjetve. Autori također potvrđuju da starošću klijanaca nutritivna kvaliteta soka pirove trave opada jer su utvrđene niže vrijednosti navedenih pokazatelja u soku pripremljenom iz otkosa obavljenog 11. i 12. dan nakon sjetve.

Suprotno prethodno navedenom istraživanju, Skoczylas i sur. (2017) su u 15. danu otkosa, u soku pšenične trave utvrdili više vrijednosti sadržaja klorofila a (423,2 mg/L), klorofila b (141,8 mg/L), ukupnih klorofila (565,0 mg/L), karotenoida (105,0 mg/L) u usporedbi sa sokom koji je pripremljen iz pšenične trave stare 10 dana. Osim navedenog, utvrđene su i veće vrijednosti sadržaja flavonoida (553,6 mg/L) i antioksidativne aktivnosti određene DPPH metodom (9,07 μM Trolox/mL). U soku pšenične trave koja je uzgaja u zimskom periodu, više vrijednosti su utvrđene na 10. dan otkosa za sadržaj klorofila a (214,8 mg/L), klorofila b (55,6 mg/L), ukupnih klorofila (270,4 mg/L), karotenoida (59,4 mg/L), ukupnih polifenola (932,6 mg/L), flavonoida (443,4 mg/L) i antioksidativnu aktivnost (10,99 μM Trolox/mL). Niroula i sur. (2019b) su uzgajali mikrozelenje pšenice do 16. dana starosti te utvrdili najviši sadržaj kloroplastnih pigmenata u ekstraktima pripremljenim iz biljaka starih između 7. i 10. dana.

Kulkarni i sur. (2006) su dokazali rast vrijednosti sadržaja fenola i flavonoida u vodenim i etanolnim ekstraktima pšenične trave, iz otkosa obavljenih od 6. do 15. dana od dana sjetve. Biljke su uzgajane u sljedećim uvjetima uzgoja: (1) uzgoj u vodi, (2) uzgoj u vodi s nutrijentima, (3) uzgoj u tlu te zalijevano s vodom i (4) uzgoj u tlu, zalijevano s hranjivom otopinom. Antioksidativna aktivnost prema metodi FRAP je bila najniža u ekstraktima biljaka starih 6 dana, a najviša u ekstraktima biljaka starih 15 dana, odnosno 7. dana pri uzgoju u vodi s nutrijentima, što se razlikuje od navedenih rezultata u našem istraživanju. Akcan Kardaş i Durucasu (2014) su svoja istraživanja utjecaja starosti pšenične trave na nutritivnu kvalitetu

provodili na starijim biljkama, u usporedbi sa istraživanjima gore navedenih autora. Otkosi pšenične trave obavljani su 15., 30. i 40. dan nakon sjetve te je zabilježen opadajući trend sadržaja fenola i antioksidativne aktivnosti određene metodom DPPH, kod kasnijih otkosa. Nasuprot tome, ali pri ranijim danima otkosa, Parit i sur. (2018) su određivali antioksidativnu aktivnost pšenične trave na dan klijanja te 8. i 16. dan nakon klijanja te utvrdili najviše vrijednosti kod biljaka starih 16 dana.

Şavşatlı (2020) je za razliku od ostalih autora, ispitivao utjecaj visine biljke na nutritivnu kvalitetu pšenične trave. U prosjeku za sve sorte, najviša vrijednost antioksidativne aktivnosti je utvrđena kod pšenične trave visine od 8 do 12 cm, a najviši sadržaj ukupnih fenola je utvrđen kod pšenične trave visine 11 - 12 cm (36,4 mg GAE/g sv.t.). Adhikari i sur. (2021) su također određivali optimalno vrijeme otkosa pšenične trave s obzirom na njezin fitokemijski sadržaj. Određivali su sadržaj klorofila, fenola, flavonoida i razinu antioksidativne aktivnosti u ekstraktu pšenične trave DPPH metodom na 6., 7., 8., 9., 12. i 15. dan od dana sjetve. Vrijednosti sadržaja klorofila, flavonoida i antioksidativnog potencijala, dostigle su svoj maksimum na 9. dan otkosa te je starenjem biljaka zabilježen pad izmjerenih vrijednosti. Sadržaj ukupnih fenola rastao je proporcionalno starošću klijanaca te je najveća vrijednost utvrđena na 15. dan otkosa.

Usporedimo li dobivene rezultate našeg istraživanja s rezultatima navedenih autora, možemo zaključiti da ne postoji optimalna starost biljke odnosno dan otkosa koji bi bio optimalan u pogledu maksimalnog sadržaja svih mjerenih biološki aktivnih komponenti odnosno za pojedini pokazatelj nutritivne kvalitete pšenične trave. Osim toga, ne možemo zanemariti značajan utjecaj genotipa na optimalni dan otkosa, s obzirom da ispitivani genotipovi pokazuju razlike u sadržaju biološki aktivnih komponenti na dan kada je izvršen otkos. Nadalje, razlike sadržaja pojedinih fitokemikalija naročito u ranim fazama početnog porasta, su pod vrlo značajnim utjecajem ekoloških uvjeta uzgoja o kojima također ovisi usporedivost dobivenih rezultata. U našem istraživanju, na osnovu dobivenih rezultata, možemo zaključiti da je 6. dan otkosa u prosjeku za sve varijante biofortifikacije, najoptimalniji s obzirom na prosječni sadržaj nutritivno važnih bioaktivnih komponenti. Ukoliko obratimo pozornost na utjecaj dana otkosa u interakciji sa sortom na pojedine pokazatelje, kod većine ispitivanih sorata, sadržaj kloroplastnih pigmenata je rastao s porastom pšenične trave, odnosno pri kasnijem danu otkosa je utvrđen viši sadržaj kloroplastnih pigmenata, međutim ovaj trend ne prate sve ispitivane sorte (Grafikon 2.; Grafikon 3.; Grafikon 4.; Grafikon 5.). Ispitivanjem učinka interakcije dana

otkosa i sorte na antioksidativnu aktivnost određenu DPPH metodom u soku pšenične trave, utvrđeno je da je pri kasnijem otkosu bila potrebna veća količina uzorka za 50 % inhibicije reakcije, odnosno antioksidativna aktivnost je najniža u soku pšenične trave na 10. dan od dana sjetve, osim kod sorata Ilirija, Katarina i Soissons koje su imale najnižu antioksidativnu aktivnost na 8. dan otkosa (Grafikon 13.). Na Grafikonu 14. vidljiv je opadajući trend sadržaja fenola u soku pšenične trave kod kasnijih otkosa, kod svih ispitivanih sorata, što je suprotno od rezultata koje navodi Adhikari i sur. (2021), gdje je sadržaj fenola rastao proporcionalno starošću klijanaca. Neujednačeni sadržaj flavonoida kod ispitivanih dana otkosa, bio je pod značajnim utjecajem sorte, slično kao što je to utvrđeno i za sadržaj fenola (Grafikon 15.).

Agronomska biofortifikacija je jedna od glavnih strategija u borbi protiv nedostatka Se. Biofortifikacija Se prvenstveno, ima za cilj obogatiti usjeve Se i time indirektno djelovati na povećanje sinteze i akumulacije antioksidativnih komponenti s pozitivnim utjecajem na prehranu i zdravlje ljudi (Schiavon i sur., 2020).

Biofortifikacija Se i Zn, nije imala statistički značajan utjecaj na sadržaj kloroplastnih pigmenata u soku pšenične trave u prosjeku za sve ispitivane sorte (Tablica 10.). Mezeyová i sur. (2022) su dobili slične rezultate te nisu utvrdili značajan učinak biofortifikacije Se na sadržaj kloroplastnih pigmenata u mikrozelenju bosiljka, mizune, kres salate, rukole i rotkvice. Biofortifikacija Se i Zn je rezultirala povećanjem sadržaja ukupnih klorofila (Grafikon 9.) i karotenoida (Grafikon 10.) u soku pšenične trave kod sorata Felix, Ilirija, Katarina, Soissons, Srpanjka, U1, dok je kod sorata Antonius, Dekan, Divana rezultirala smanjenjem sadržaja navedenih fitokemikalija. Biofortifikacija Se i Zn, značajno je utjecala na sadržaj vitamina C i sadržaj flavonoida. U prosjeku za sve ispitivane sorte pšenične trave, biofortifikacija Se i Zn je rezultirala smanjenjem sadržaja vitamina C i flavonoida. Međutim, bez obzira što je biofortifikacija utjecala na sadržaj navedenih fitokemikalija sa značajnim antioksidativnim djelovanjem, utjecaj na povećanje ukupne antioksidativne aktivnosti utvrđene FRAP i DPPH metodom je izostao (Tablica 13.). Obratimo li pozornost na učinak biofortifikacije Se i Zn na sadržaj vitamina C kod sorata Felix, Katarina i U1, vidljiv je njegov značajan porast u usporedbi sa sadržajem utvrđenim u soku pšenične trave dobivenim iz klijanaca uzgojenih iz zrna nebiofortificiranih biljaka (Grafikon 16.). Također u prosjeku za sve dane otkosa, biofortifikacija je rezultirala povećanjem antioksidativne aktivnosti utvrđene FRAP metodom kod sorata Divana, Felix i Katarina (Grafikon 17.). Sadržaj flavonoida je povećan biofortifikacijom u soku pšenične trave kod sorata Antonius, Divana i U1, dok je kod preostalih

sorata došlo do pada sadržaja flavonoida (Grafikon 19.).

Islam i sur. (2020) su također utvrdili pozitivan učinak biofortifikacije Se na sadržaj klorofila i karotenoida, fenola, flavonoida, vitamina C i antioksidativne aktivnosti utvrđene metodom DPPH u ekstraktima mikrozelenja pšenice. Jednako tako, Pannico i sur. (2020) su zaključili da biofortifikacija Se utječe na porast biološki aktivnih komponenti, posebice fenola i karotenoida u mikrozelenju korijandera, dvije vrste bosiljka i tatsoija (*Brassica rapa* var. *narinosa*) Biofortifikacija selenom kod biljaka bosiljka (*Ocimum basilicum* L.) (Skrypnik i sur., 2019) i miloduha (*Hyssopus officinalis* L.) povećala je sadržaj fenolnih spojeva i antioksidativno djelovanje (Skrypnik i sur., 2022).

Interakcija sorte, dana otkosa i biofortifikacija Se i Zn imala je statistički značajan učinak na antioksidativnu aktivnost utvrđenu metodom DPPH (Grafikon 21.). Iz Grafikona 21., vidljiva je velika varijabilnost između sorata u navedenom pokazatelju, što objašnjava izostanak značajnog učinka biofortifikacije na ukupnu antioksidativnu aktivnost, u prosjeku za sve sorte. Također, vidljiv je različit utjecaj biofortifikacije na antioksidativni potencijal soka pšenične trave, ovisno o danu otkosa. Ukoliko obratimo pozornost na sortu Ilirija, na 6. dan otkosa, biofortifikacija Se i Zn je rezultirala povećanjem antioksidativne aktivnosti u soku, u usporedbi sa sokovima dobivenim 8. i 10. dan otkosa, gdje takav učinak nije utvrđen. U soku pšenične trave sorte U1, na 8. i 10. dan otkosa vidljivo je povećanje antioksidativne aktivnosti pri biofortifikaciji Se i Zn u fazi cvatnje i mliječne zriobe (Bio 2), dok je na 6. dan otkosa vidljivo smanjenje antioksidativne aktivnosti pri tretmanu biofortifikacije Se i Zn.

D'Amato i sur. (2018) su zaključili da biofortifikacija Se povećava sadržaj fenolnih kiselina u rižinim klicama koje su uzgajane u plastičnim pliticama, napunjenim destiliranom vodom, odnosno otopinama natrijevog selenita i natrijevog selenata. Deng i sur. (2017) su biofortificirali rižu u fazi vlatanja i klasanja te utvrdili značajno povećanje sadržaja Se u zrnu riže koja je biofortificirana u fazi klasanja u usporedbi s onom koja je biofortificirana u fazi vlatanja (Deng i sur., 2017). Huang i sur. (2018) su utvrdili najviše koncentracije sadržaja Se u izdancima biljaka riže koja je uzgajana u tlu obogaćenom selenom u fazi vlatanja. Chu i sur. (2013) su utvrdili statistički značajno viši sadržaj klorofila kod pšenice biofortificirane otopinama selena (10, 20, 30 i 50 mg Se/L) u razdoblju između faza razvoja klasanje - cvatnja. Primjena selena (50 Se mg/L) u fazi vlatanje - klasanje i u fazi klasanje - cvatnja rezultirala je manjim sadržajem MDA. U fazama klasanje - cvatnja i vlatanje - klasanje (osim za najvišu koncentraciju otopine Se) sve koncentracije otopine Se su izazvale povećanje sadržaja prolina.

U fazi cvatnja - nalijevanje zrna jedino je otopina Se koncentracije 30 mg Se/L utjecala na značajan porast sadržaja prolina. Biofortifikacija Se rezultirala je višim sadržajem prolina u fazama vlatanje - klasanje i klasanje - cvatnja u usporedbi sa pšenicom koja je biofortificirana Se u fazama busanje - vlatanje i cvatnje - nalijevanje zrna. Autori zaključuju da biofortifikacija Se u fenofazi klasanje - cvatnja ima najizraženiji pozitivni učinak na prinos i akumulaciju Se, a najučinkovitije koncentracije otopina kreću se između 20 i 30 mg Se/L.

6.3. Utjecaj uvjeta uzgoja na sadržaj biološki aktivnih komponenti u soku pšenične trave uzgajane u kontroliranim uvjetima

Biotski i abiotski čimbenici utječu na sekundarni metabolizam biljaka i imaju potencijal povećati sintezu korisnih fitokemikalija poput polifenola, karotenoida, vitamina E itd. (Akula i Ravishankar, 2011; Johansson i sur., 2020). Prilagodba biljke na abiotske tipove stresa, zahtjeva aktivaciju različitih zaštitnih mehanizama temeljenih na strukturnim ili biokemijskim odgovorima, koji se ponajviše odnose na povećanje sinteze i akumulacije fenolnih kiselina i flavonoida, dvije važne skupine sekundarnih metabolita koji imaju ključnu ulogu u obrani u nepovoljnim uvjetima okoline. Biosinteza fenolnih kiselina i flavonoida se može znatno povećati u uvjetima ekstremnih temperatura i suše, zbog njihove važnosti u modeliranju strukture stanične stijenke i antioksidativnim svojstvima koja smanjuju štetne učinke reaktivnih kisikovih spojeva (Nigro i sur., 2020). Biotski i abiotski čimbenici stimulatивно utječu na sintezu fitokemikalija kao produkata sekundarnog metabolizma u biljci (Akula i Ravishankar, 2011) te promjena uvjeta okoline prilikom uzgoja predstavlja značajan potencijal pri proizvodnji funkcionalne hrane. Također, postoji veliki interes za istraživanje uloge Se u prevenciji i smanjenju negativnih učinaka različitih tipova abiotskog stresa u biljkama. Tijekom proteklih 30 godina postignut je značajan napredak u razumijevanju uloge i funkcije Se u biljkama uključujući usvajanje, asimilaciju, translokaciju, distribuciju, toksičnost i toleranciju. Međutim, mehanizmi utjecaja Se na smanjenje štetnog utjecaja stresa, slabo su istraženi.

Kada su biljke izložene okolišnom stresu, često dolazi do oštećenja kloroplastnih pigmenata, što se reflektira kroz poremećaj fotosinteze i posljedično utječe na asimilaciju organske tvari. Međutim, aplikacija odgovarajućih razina Se može donekle smanjiti oštećenja kloroplasta i time povećati sadržaj klorofila te smanjiti negativan utjecaj stresa (Bekheta i sur., 2008; Filek, 2010; Wang, 2011; Yao 2011; Malik, 2012). U nepovoljnim uvjetima, biofortifikacija selenom se može koristiti za povećanje prinosa usjeva, istovremeno ublažavajući negativne učinke takve okoline na fiziologiju bilja, čime se povećavaju antioksidativna svojstva biljaka i sadržaj fitokemikalija (Schiavon i sur., 2020).

U prosjeku za sve sorte i obje varijante zalijevanja pšenične trave pri uzgoju, utvrđeno je značajno povećanje karotenoida u soku biljaka uzgojenih iz sjemena biofortificirane pšenice, dok se vrijednosti klorofila a, klorofila b, ukupnih klorofila nisu značajno razlikovale (Tablica 18.). Kod sorte Divana, primijećen je negativan utjecaj biofortifikacije Se i Zn pri zalijevanju pšenične trave svakih 48 sati (V2), te je sadržaj klorofila b (Grafikon 31.) i karotenoida (Grafikon 34.) u soku bio značajno smanjen u usporedbi sa sokom pšenične trave čije sjeme nije biofortificirano. Kod smanjene količine pristupačne vode, utvrđene su više vrijednosti sadržaja ukupnih klorofila (Grafikon I.), karotenoida (Grafikon II.), fenola (Grafikon XII.), flavonoida (Grafikon XI.), flavanola (Grafikon X.) te antioksidativne aktivnosti utvrđene metodom FRAP (Grafikon IV.), u usporedbi sa kontrolom. Prema tome, smanjena količina pristupačne vode u varijanti u kojoj je pšenična trava zalijevana svakog drugog dana, stimulirala je sintezu i akumulaciju prethodno navedenih nutritivno vrijednih fitokemikalija. Također, pri smanjenoj količini pristupačne vode, vidljiv je različit odgovor sorte na učinak biofortifikacije Se i Zn te je kod sorte Ilirija i U1 biofortifikacija rezultirala povećanjem sadržaja fenolnih kiselina (Grafikon XIII.). Očekivano, vrijednost sadržaja prolina u soku pšenične trave bila je statistički značajno viša u varijanti sa smanjenom količinom pristupačne vode kod biljaka uzgojenih iz sjemena nebiofortificirane pšenice i to kod sorata Antonius, Divana i U1 (Grafikon IX.), koje su ujedno imale i nižu antioksidativnu aktivnost u prethodnim varijantama pokusa (Poglavlje 5.2.). Kod sorata koje su imale visoku antioksidativnu aktivnost u uvjetima smanjene količine pristupačne vode, (Ilirija, Soissons, Srpanjka), sadržaj prolina nije značajno porastao (Grafikon IX.), a antioksidativna aktivnost utvrđena metodom DPPH kod tih sorti se nije značajno razlikovala (Grafikon III.), bez obzira na promjenu ekoloških uvjeta uzgoja, odnosno količine pristupačne vode. Sokovi pšenične trave koja je uzgojena u uvjetima smanjene količine pristupačne vode, sadržavali su značajno više ukupnih klorofila i karotenoida (Grafikon I., Grafikon II.). Kod sorata Srpanjka i U1, biofortifikacija Se i Zn rezultirala je statistički značajno višim vrijednostima sadržaja ukupnih klorofila u soku pšenične trave.

U soku pšenične trave kod većine sorata antioksidativna aktivnost utvrđena metodom DPPH je ostala na jednakoj razini bez obzira jesu li biljke uzgojene iz biofortificiranog ili nebiofortificiranog sjemena te uzgajane uz punu odnosno smanjenu količinu pristupačne vode (Grafikon III.). Međutim, kod sorte U1, smanjena količina pristupačne vode tijekom uzgoja, rezultirala je povećanjem antioksidativne aktivnosti i kod kontrolnih biljaka i kod biljaka uzgojenih iz sjemena biofortificirane pšenice te se one nisu statistički značajno razlikovale.

Potpuno suprotni učinak vidljiv je kod sorte Antonius, gdje je smanjena količina pristupačne vode ujedno rezultirala i smanjenjem antioksidativne aktivnosti u soku pšenične trave. Međutim, kod utvrđivanja antioksidativne aktivnosti metodom FRAP, Felix je jedina testirana sorta kod koje nisu utvrđene značajne razlike između varijanti biofortifikacije i varijanti zalijevanja biljaka (Grafikon IV.). Kod preostalih sorti utvrđeno je povećanje antioksidativne aktivnosti i kod obje varijante biofortifikacije, kod biljaka uzgajanih pri smanjenoj količini pristupačne vode. Nadalje, u soku pšenične trave sorte Ilirija utvrđena je značajno viša antioksidativna aktivnost kod biljaka uzgojenih iz sjemena biofortificirane pšenične trave. Mogući razlozi različitih rezultata za antioksidativnu aktivnost utvrđenu metodama DPPH i FRAP jesu to što metodom FRAP možemo mjeriti samo hidrofilne antioksidanse, a metoda DPPH je primjenjiva samo na hidrofobne sustave. Uz to, vrijeme reakcije je također, važan parametar. Antioksidansi koji imaju sporo kinetičko ponašanje možda neće biti potpuno oksidirani unutar vremena protokola određenih testova (FRAP). Boja uzorka može uzrokovati prekide apsorbancije koji rezultiraju sa štetnim posljedicama više u reakcijama blijeđenja boje (DPPH), nego u reakcijama formiranja boje (FRAP) (Capanoglu i sur., 2018).

Slično kao i kod prethodno navedene dvije metode utvrđivanja antioksidativne aktivnosti, smanjena količina pristupačne vode pri uzgoju rezultirala je povećanjem kapaciteta kelatiranja Fe iona u soku pšenične trave. Pri smanjenoj količini pristupačne vode pri uzgoju, utvrđeno je za sorte Felix, Katarina i Srpanjka da je vitamin C stabilnije svojstvo, odnosno sadržaj vitamina C se nije statistički značajno mijenjao za istu sortu između svih tretmana (Grafikon VI.).

Metodom ORAC utvrđen je pozitivan učinak biofortifikacije na antioksidativnu aktivnost pšenične trave. Jedino kod sorte Katarina nije vidljivo povećanje antioksidativne aktivnosti pri biofortifikaciji Se i Zn. Također, deficit vode pri uzgoju pšenične trave je rezultirao višom antioksidativnom aktivnošću (Grafikon VII.).

Kod sokova pšenične trave koja je pri uzgoju zalijevana svaki drugi dan, utvrđen je viši sadržaj malondialdehida, osim kod sorte Soissons i Srpanjke. Kod sorte Dekan utvrđeno je značajno povećanje razine malondialdehida u soku pšenične trave dobivenom od biljaka uzgojenih iz sjemena biofortificirane pšenice, uzgajanih pri deficitu vode pod tretmanom V2 (Grafikon VIII.).

Sadržaj prolina je povišen u soku pšenične trave koja je pri uzgoju zalijevana svaki drugi dan. Pri nepovoljnim uvjetima, u biljkama dolazi do nakupljanja prolina zbog kataboličkih reakcija koje su učestalije u nepovoljnim uvjetima te su ujedno važan dio metaboličkog sustava za

obranu (Szabados i sur., 2011; Hildebrandt i sur., 2015). Pojačana akumulacija slobodnog prolina utječe na održavanje volumena i turgora biljnih stanica. Njegovom sintezom i transportom u druge dijelove biljke te posljedičnom akumulacijom u stanicama snižava se vodni potencijal stanica te se sprječava izlazak vode iz stanica i potiče daljnji ulazak što je vrlo bitna osmotska prilagodba stanica, naročito u uvjetima kada je smanjena količina pristupačne vode (Mattioli i sur., 2009; Kaur i Asthir, 2015; Dar i sur., 2016; Siddique i sur., 2018). U sokovima pšenične trave sorata Antonius, Divana i U1 deficit vode tijekom uzgoja pšenične trave rezultirao je povećanjem sadržaja prolina kod biljaka uzgojenih iz sjemena nebiofortificirane pšenice. Pri spomenutim uvjetima i pri biofortifikaciji Se i Zn, kod sorata Antonius i Divana je utvrđen statistički značajno niži sadržaj prolina, iz čega možemo zaključiti kako je biofortifikacija Se i Zn smanjila akumulaciju prolina (Grafikon IX.).

Kod svih ispitivanih sorata došlo je do povećanja sadržaja flavanola u soku pšenične trave kod biljaka uzgajanih u uvjetima smanjene količine pristupačne vode (tretman V2). Kod pojedinih sorata pri tretmanu V2, biofortifikacija Se i Zn je rezultirala povećanjem sadržaja flavanola (Ilirija, U1), a kod pojedinih smanjenjem (Divana, Katarina) (Grafikon X.).

U soku pšenične trave koja je zalijevana svaki drugi dan, zabilježen je povećan sadržaj flavonoida (Grafikon XI.) i fenola (Grafikon XII). Slične rezultate dobili su de Abreu i Mazzafera (2005) kod uzgoja pljuskavice pri nedostatku vode. Biofortifikacija Se i Zn značajno je povećala sadržaj flavonoida u soku pšenične trave sorte Srpanjka (Grafikon XI.). Kod sorata Soissons, Srpanjka i U1, sadržaj fenola u soku pšenične trave se povećao pod tretmanom biofortifikacije i uzgoju pri smanjenoj količini pristupačne vode (Grafikon XII.).

Biofortifikacija Se i Zn i smanjena količina pristupačne vode, značajno su utjecali na sadržaj fenolnih kiselina u soku pšenične trave sorata Divana, Ilirija, i U1 (Grafikon XIII.). Kod spomenutih sorata vidljiv je povećan sadržaj fenolnih kiselina pri smanjenju pristupačne vode pri uzgoju. Kod Ilirije i U1, biofortifikacija Se i Zn je značajno utjecala na povećan sadržaj fenolnih kiselina u soku (Grafikon XIII.).

Sieprawska i sur. (2015) su zaključili kako primjena Se ima blagotvorni učinak na povećanje otpornosti biljaka na čimbenike stresa. Selen se, kao element koji je odgovoran za aktivaciju antioksidativnog sustava u biljnim stanicama, počeo sve više primjenjivati kao neutralizator negativnog utjecaja okolišnih stresova (sušni stres, stres izazvan teškim metalima, UV stres, niske odnosno visoke temperature). Autori sugeriraju da pozitivan učinak Se ovisi o njegovim dozama i odabranim genotipovima biljaka te je uglavnom povezan s aktivacijom

antioksidativne obrane u biljnim stanicama. Samim time, povećava se i ukupna antioksidativna aktivnost. Pojačana akumulacija fenolnih spojeva u biljnim tkivima smatra se prilagodbom na nepovoljne uvjete okoliša. Promjena ekoloških uvjeta tijekom rasta reflektira se u modifikaciji sekundarnog metabolizma, kao mehanizma prilagodbe na promjenu, a takva strategija je ujedno i mehanizam prilagodbe i preživljavanja u uvjetima stresa (Naikoo i sur., 2019). Ove tvrdnje potkrepljuju i rezultati dobiveni u našim istraživanjima. Uslijed niže temperature uzgoja (tretman T2) utvrđene su više vrijednosti sadržaja ukupnih klorofila (Grafikon XIV.), karotenoida kod sorte Antonius (Grafikon XV.), antioksidativna aktivnost utvrđena metodom FRAP kod sorte Ilirija (Grafikon XVII.), vitamin C, kod sorata Dekan, Antonius, Divana, Soissons i U1 (Grafikon XVIII.), flavanola (Grafikon XXII.), flavonoida (Grafikon XXIII.), ukupnih fenola (XXIV.). U Grafikonu XXV. su prikazane vrijednosti sadržaja fenolnih kiselina u soku pri tretmanima T1 i T2, a koji se odnose na temperaturne uvjete uzgoja pšenične trave. Udio fenolnih kiselina u ukupnim fenolima se smanjio, a razlog može biti njihova smanjena sinteza pri nižoj temperaturi.

Kim i sur. (2022) su ispitivali učinak niskih temperatura ($<4^{\circ}\text{C}$) na antioksidativni status klica pšenice. Utvrdili su da niske temperature u trajanju do 4 dana rezultiraju višim sadržajem polifenola, flavonoida i antioksidativnom aktivnošću utvrđenu DPPH metodom. Shamloo i sur. (2017) su utvrdili da povišene temperature značajno utječu na rast sadržaja fenolnih kiselina i flavonoida kod pšenice. Također je potvrđen učinak interakcije genotipa i različite temperature na biosintezu fenolnih spojeva u biljkama, što je u skladu i s drugim istraživanjima (Adom i sur., 2003; Martini i sur., 2014; Martini i sur., 2015; Shamloo i sur., 2017). Liu i sur. (2018) su utvrdili značajan učinak interakcije genotipa i vodnog stresa na sadržaj fenolnih spojeva kod pšenice, te je kod otpornijih sorata došlo do povećanja sadržaja fenola uslijed smanjene količine pristupačne vode tijekom uzgoja. Shahid i sur. (2017) su utvrdili značajan učinak interakcije genotipa i povišenih temperatura na sadržaj prolina, MDA i fenola kod pšenice te je kod sorata otpornijih na temperaturni stres utvrđeno značajnije povećanje sadržaja fenola.

Yao i sur. (2009) su opisali učinak opskrbe tla selenom na rast i fiziološka svojstva klijanaca pšenice izloženih manjku vode tijekom rasta. Tretmani sa selenom u koncentracijama 1, 2 i 3 mg Se/kg supstrata rezultirali su sa značajno višim sadržajem ukupnih klorofila u izdancima pšenice od kojih je najviši sadržaj klorofila utvrđen kod tretmana 2 mg Se/kg supstrata (1,156). Najviši sadržaj karotenoida u izdancima pšenice je utvrđen kod tretmana sa 3 mg Se/kg (0,119). Dodatak selena je rezultirao porastom sadržaja prolina u izdancima pšenice te je njegova

najveća akumulacija utvrđena pri tretmanu s 2 mg Se/kg, a ujedno je došlo do smanjenja sadržaja MDA kod sve tri korištene koncentracije.

Jančić i sur. (2022) su proučavali tijekom dvije godine učinak različitih okolišnih uvjeta na sadržaj biološki aktivnih komponenti i antioksidativnu aktivnost u ekstraktima pirove trave (*Triticum spelta* L.). Temperatura pri uzgoju je iznosila 21 °C, a biljke su navodnjavane svakih 6, 8 i 12 sati, dok je dnevno noćni režim bio 24/0 h, 16/8 h i 6/6/6/6 h. Najniže vrijednosti klorofila b su utvrđene kod pira uzgajanog u uvjetima najviše opskrbljenosti vodom uz dnevno noćni režim 6/6/6/6 (8830 µg/100 g sv.t.), a najviše klorofila b je sadržavao ekstrakt pirove trave koja je uzgajana pri 24 satnoj svjetlosti i navodnjavana svakih 12 sati (24 766 µg/100 g sv.t.). Najmanje flavonoida je sadržavao vodeni ekstrakt pirove trave koja je pri uzgoju najviše opskrbljena vodom i uzgajano pri dnevno noćnom režimu 6/6/6/6 h (35,3 mg KTE/g), a najviša vrijednost flavonoida je utvrđena u vodenom ekstraktu pirove trave koja je uzgajana pri 24 h osvjetljenju uz najnižu količinu pristupačne vode (129,0 mg KTE/g). Kod pirove trave uzgajane pri dnevno noćnom režimu 6/6/6/6 i pri najvišoj opskrbljenosti vodom utvrđene su najniže vrijednosti antioksidativnog kapaciteta metodom FRAP (71,9 µM Trolox/g) i metodom DPPH (623,2 µM Trolox/g). Najviša vrijednost antioksidativnog kapaciteta prema metodi FRAP utvrđena je u ekstraktu pirove trave uzgajane pri 24 h osvjetljenju uz najmanju opskrbljenost vodom (123,5 µM Trolox/g), dok je metodom DPPH najviša vrijednost utvrđena kod pirove trave uzgajane pri 24 satnom osvjetljenju i irigaciji svakih 6 sati (967,0 µM Trolox/g). Smanjena pristupačnost vode pri uzgoju pirove trave rezultirala je povećanjem sadržaja klorofila b, flavonoida i antioksidativne aktivnosti utvrđene metodom FRAP, a povećana pristupačnost imala suprotni učinak na vrijednost spomenutih parametara.

Hasanuzzaman i sur. (2020) navode kako Se pri niskim koncentracijama djeluje blagotvorno na rast i razvoj biljaka. Povećava otpornost na različite abiotičke tipove stresa uključujući salinitet, sušu, ekstremne temperature i stres uzrokovan prisustvom teških metala. Također Se ima ulogu u poboljšanju efektivnosti antioksidativnog obrambenog sustava s ciljem neutralizacije i smanjenja akumulacije reaktivnih kisikovih jedinki (ROS), što rezultira povećanjem otpornosti na oksidacijski stres.

Chauhan i sur. (2017) su zaključili da primjena Se u tlu zagađenom arsenom, značajno povećava sadržaj fenolnih spojeva u korijenu i izdancima riže, što je rezultiralo smanjenjem razine lipidne peroksidacije.

Pri manjem intenzitetu osvjetljenja utvrđene su niže vrijednosti sadržaja ukupnih klorofila (Grafikon XXVII.) i karotenoida (Grafikon XXVIII.) u soku pšenične trave svih ispitivanih sorata.

Također ispitivane sorte su pri osvjetljenju 2000 lx imale veću antioksidativnu aktivnost mjerenu metodom DPPH. U varijanti sa slabijim osvjetljenjem kod sorte Katarina je utvrđen pozitivan utjecaj biofortifikacije Se i Zn na antioksidativnu aktivnost. Pri osvjetljenju od 2000 lx biofortifikacija nije imala utjecaja na razinu antioksidativne aktivnosti, osim kod sorte U1 kod koje je utvrđeno povećanje navedenog pokazatelja (Grafikon XXIX.). Također je vidljivo iz Grafikona XXIX. kako se antioksidativna aktivnost utvrđena metodom DPPH nije statistički značajno mijenjala kod sorata Ilirija, Soissons i Srpanjka, a one su ujedno sorte s najvišim sadržajem flavonoida (Grafikon XXXVIII.).

Utvrđen je značajan učinak interakcije biofortifikacija x svjetlosni uvjeti uzgoja na antioksidativnu aktivnost utvrđenu FRAP metodom u soku pšenične trave kod sorata Ilirija i Soissons (Grafikon XXX.).

Kapaciteta kelatiranja Fe iona bio je značajno niži u soku pšenične trave uzgajane pri osvjetljenju od 2000 lx, u usporedbi s onom koja je uzgajana pri nižoj razini osvjetljenja od 800 lx (Grafikon 31.).

Kod ispitivanih sorata, interakcija biofortifikacija x osvjetljenje je značajno utjecala na sadržaj vitamina C u soku pšenične trave. Značajno više vrijednosti navedenog antioksidansa, utvrđene su u soku pšenične trave koja je uzgajana pri manjem osvjetljenju. Kod oba tretmana osvjetljenja, biofortifikacija Se i Zn rezultirala je smanjenjem sadržaja vitamina C u soku pšenične trave (Grafikon XXXII.).

Viša ORAC vrijednost označava manju antioksidativnu aktivnost te je kod soka pšenične trave sorte Katarina vidljivo smanjenje antioksidativne aktivnosti kod tretmana biofortifikacije Se i Zn. Kod sokova pšenične trave preostalih sorata vidljiv je pozitivan utjecaj biofortifikacije Se i Zn kroz povećanje antioksidativne aktivnosti u soku pšenične trave uzgojene iz zrna prethodno biofortificiranih biljaka (Grafikon 103.).

Interakcija biofortifikacije i osvjetljenja tijekom uzgoja je značajno utjecala na sadržaj malondialdehida u soku pšenične trave kod sorata Dekan, Divana, Felix, Katarina, Soissons i Srpanjka. Sorte Dekan, Katarina, Soissons i Srpanjka su imale statistički nižu vrijednost sadržaja malondialdehida pri slabijem osvjetljenju. U tretmanima slabijeg osvjetljenja i

biofortifikacije Se i Zn, sorte Divana i Felix su imale značajno najveći sadržaj MDA, što upućuje na intenziviranje procesa lipidne peroksidacije (Grafikon 116.). Interakcija biofortifikacija x osvjetljenje je također značajno utjecala na sadržaj prolina u soku pšenične trave kod sorata Antonius, Felix, Soissons i U1. Pri smanjenom osvjetljenju zabilježen je pad sadržaja prolina u soku, a kod pojedinih sorti, (Felix, Soissons), biofortifikacija je dodatno smanjila sadržaj navedenog osmoregulatora (Grafikon XXXV.).

Biofortifikacija i tretman osvjetljenja pri uzgoju pšenične trave su značajno utjecali na sadržaj flavanola u soku pšenične trave kod sorte Srpanjka. Više vrijednosti su utvrđene pri manjem osvjetljenju dok je tretman biofortifikacije Se i Zn, rezultirao smanjenjem sadržaja flavanola u soku (Grafikon XXXVI.). Interakcija biofortifikacija x osvjetljenje je značajno utjecala na sadržaj fenola (Grafikon XXXVII.), flavonoida (Grafikon XXXVIII.) i fenolnih kiselina (Grafikon XXXIX.). Smanjeno osvjetljenje pridonijelo je povećanju sadržaja fenola u soku pšenične trave. Biofortifikacija Se i Zn je značajno utjecala na sadržaj fenola u soku pšenične trave sorte Katarina te je najviši sadržaj utvrđen pri slabijem osvjetljenju i biofortifikaciji Se i Zn (Grafikon XXXVII.).

Interakcija biofortifikacija x osvjetljenje pri uzgoju pšenične trave utjecala je značajno na sadržaj flavonoida u soku sorata Divana, Ilirija, Srpanjka i U1 (Grafikon XXXVIII.). Veća razina osvjetljenja pri uzgoju pšenične trave rezultirala je višim sadržajem fenolnih kiselina u soku. U soku pšenične trave sorata Felix i U1, zabilježen je porast vrijednosti sadržaja fenolnih kiselina pri slabijem osvjetljenju, kod biljaka uzgojenih iz sjemena biofortificirane pšenice (Grafikon XXXIX.).

7. ZAKLJUČCI

Utvrđena je značajna sortna specifičnost pšenične trave u sadržaju kloroplastnih pigmenata, fenola, flavonoida te antioksidativne aktivnosti u 100 sorti i 5 divljih srodnika pšenične trave. Također je utvrđena sortna specifičnost 9 sorti pšenične trave koje su uzgajane na polju, biofortificirane Se i Zn, te ponovno uzgajane iz biofortificiranog zrna. Od 9 sorata, sorte Ilirija, Soissons i Srpanjka su se isticale najvišim sadržajem biološki aktivnih komponenti u soku pšenične trave, a sorte Antonius i U1 su se isticale najnižim vrijednostima sadržaja biološki aktivnih komponenti.

Utvrđen je značajan učinak biofortifikacije Se i Zn na sadržaj kloroplastnih pigmenata, fenola, flavonoida, vitamina C te antioksidativne aktivnosti određene DPPH i FRAP metodom u sokovima pšenične trave. Biofortifikacije Se i Zn su djelovale, u fazi cvatnje (Bio 1) i u fazi cvatnje i mliječne zriobe (Bio 2), različito na mjerene parametre u 9 ispitivanih sorata. Također, biofortifikacija Se i Zn značajno je djelovala na ispitivane biološke komponente u soku pšenične trave koja je uzgajana u različitim okolišnim uvjetima.

Utvrđen je značajan učinak različitih okolišnih uvjeta na sadržaj kloroplastnih pigmenata, fenola, flavonoida, fenolnih kiselina, flavanola, vitamina C, prolina, malondialdehida i antioksidativne aktivnosti određene metodama DPPH, FRAP i ORAC te kapacitet kelatiranja Fe iona. Pri zalijevanju, pšenične trave, svakih 48 sati, utvrđeno je povećanje kloroplastnih pigmenata, fenola, flavonoida, fenolnih kiselina, flavanola i antioksidativne aktivnosti metodom FRAP. Pri nižoj temperaturi, u soku su određene više vrijednosti kloroplastnih pigmenata, fenola, flavonoida, flavanola i kapaciteta kelatiranja Fe iona. Pri manjem osvjetljenju, sadržaj kloroplastnih pigmenata i fenolnih kiselina je statistički značajno niži, a vrijednost sadržaja fenola i flavanola je značajno viša.

8. LITERATURA

1. Adhikari, B., Joshi, S., & Maskey, B. (2021.): Effects of Harvesting Period on Phytochemicals of Wheatgrass (*Triticum aestivum*, WK 1204 Variety). *Caraka Tani: Journal of Sustainable Agriculture*, 37(1): 36-47. doi: 10.20961/carakatani.v37i1.52076
2. Adom, K. K., Sorrells, M. E., & Liu, R. H. (2003.): Phytochemical profiles and antioxidant activity of wheat varieties. *Journal of agricultural and food chemistry*, 51(26): 7825-7834. doi: 10.1021/jf0304041
3. Agrawal A., Ena G., Reena C. (2015.): Determination of Minerals and Antioxidant Activities at Different Levels of Jointing Stage in Juice of Wheat Grass -The Green Wonder. *Indian Journal of Pure and Applied Biosciences*. 3(2): 311-316.
4. Akcan Kardas T, Durucasu I. (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. doi:10.5053/ekoloji.2014.909
5. Akula, R., & Ravishankar, G. A. (2011.): Influence of abiotic stress signals on secondary metabolites in plants. *Plant signaling & behavior*, 6(11): 1720-1731. doi: 10.4161/psb.6.11.17613
6. Altemimi, A., Lakhssassi, N., Baharlouei, A., Watson, D. G., & Lightfoot, D. A. (2017.): Phytochemicals: Extraction, isolation, and identification of bioactive compounds from plant extracts. *Plants*, 6(4): 42. doi: 10.3390/plants6040042
7. Altuner, F., Tuncturk, R., Oral, E., & Tuncturk, M. (2021.): Evaluation of pigment, antioxidant capacity and bioactive compounds in microgreens of wheat landraces and cereals. *Chilean journal of agricultural research*, 81(4): 643-654. doi: 10.4067/S0718-58392021000400643
8. 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. *Turkish Journal Of Medical Sciences*. 41(4): 657-663. doi: 10.3906/sag-0912-425
9. Banwo, K., Olojede, A. O., Adesulu-Dahunsi, A. T., Verma, D. K., Thakur, M., Tripathy, S., Singh, S., Patel, A. R., Gupta, A.K., Aguilar, C.N. & Utama, G. L. (2021.): Functional importance of bioactive compounds of foods with Potential Health Benefits: A review on recent trends. *Food Bioscience*, 43: 101320. doi: 10.1016/j.fbio.2021.101320
10. Bekheta, M. A., Abbas, S., El-Kobisy, O. S., & Mahgoub, M. H. (2008.): Influence of selenium and paclobutrazole on growth, metabolic activities and anatomical characters of *Gebera Jasmonii* L. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*, 2(4): 1284-1297.
11. Benincasa P., Galieni A., Manetta A.N., Pace R., Guiducci M., Pisante M., Stagnari F. (2015.): Phenolic Compounds In Grains, Sprouts And Wheatgrass Of Hulled And Non-Hulled Wheat Species. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 95: 1795-1803. doi: 10.1002/jsfa.6877
12. Benincasa, P., Falcinelli, B., Lutts, S., Stagnari, F., & Galieni, A. (2019.): Sprouted grains: A comprehensive review. *Nutrients*, 11(2): 421. doi: 10.3390/nu11020421
13. Benzie, I. F., & Strain, J. J. (1996.): The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay. *Analytical biochemistry*, 239(1): 70-76. doi: 10.1006/abio.1996.0292
14. Biesalski, H.K. (2013.): First International Conference on Hidden Hunger, Hohenheim, Stuttgart, Germany March 6 – 9, 2013. *Food Sec.* 5: 457–473. doi: 10.1007/s12571-013-0267-7
15. Birch, C. S., & Bonwick, G. A. (2019.): Ensuring the future of functional foods. *International Journal of Food Science & Technology*, 54(5): 1467-1485. doi: 10.1111/ijfs.14060

16. Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., Berset, C. (1995.): Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity, *LWT - Food Science and Technology*, 28(1): 25-30. doi: 10.1016/S0023-6438(95)80008-5
17. Brown K.M., Arthur J. R. (2001.): Selenium, Selenoproteins And Human Health: A Review. *Public Health Nutrition*. 4(2B): 593-599. doi: 10.1079/PHN2001143
18. Cao, G., Alessio, H. M., & Cutler, R. G. (1993.): Oxygen-radical absorbance capacity assay for antioxidants. *Free radical biology and medicine*, 14(3): 303-311. doi: 10.1016/0891-5849(93)90027-R
19. Capanoglu, E., Kamiloglu, S., Ozkan, G., & Apak, R. (2018.): Evaluation of antioxidant activity/capacity measurement methods for food products. Measurement of antioxidant activity & capacity: Recent trends and applications, 273-286. doi: 10.1002/9781119135388.ch13
20. Carillo, P., & Gibon, Y. (2011.): PROTOCOL: Extraction and Determination of Proline. *PrometheusWiki*, 1-5
21. Chabosseau, P., Rutter, G.A. (2016.): Zinc And Diabetes, *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 611: 79-85. doi: 10.1016/j.abb.2016.05.022.
22. Chasapis, T. C., Loutsidou A. C., Spiliopoulou C. A., Stefanidou M. E. (2012.): Zinc And Human Health: An Update. *Archives of Toxicology*. 86: 521–534. doi: 10.1007/s00204-011-0775-1
23. Chauhan, M. (2014.): A Pilot Study On Wheat Grass Juice For Its Phytochemical, Nutritional And Therapeutic Potential On Chronic Diseases. *International Journal of Chemical Studies*. 2 (4),: 27-34.
24. Chauhan, R., Awasthi, S., Tripathi, P., Mishra, S., Dwivedi, S., Niranjana, A., Mallick, S., Tripathi, P., Pande, V. & Tripathi, R. D. (2017.): Selenite modulates the level of phenolics and nutrient element to alleviate the toxicity of arsenite in rice (*Oryza sativa* L.). *Ecotoxicology and environmental safety*, 138: 47-55. doi: 10.1016/j.ecoenv.2016.11.015
25. Chomchan R., Sunisa S., Panupong P., Rungtip R. (2016.): Investigation Of Phytochemical Constituents, Phenolic Profiles And Antioxidant Activities Of Ricegrass Juice Compared To Wheatgrass Juice. *Functional Foods in Health and Disease*. 6(12): 822-835. doi: 10.31989/ffhd.v6i12.290
26. Chu J., Xiaoqin Y., Zhuona Z. (2010.): Responses of Wheat Seedlings to Exogenous Selenium Supply Under Cold Stress. *Biological Trace Element Research*. 136: 355–363. doi: 10.1007/s12011-009-8542-3
27. Chu, J., Yao, X., Yue, Z., Li, J., & Zhao, J. (2013.): The effects of selenium on physiological traits, grain selenium content and yield of winter wheat at different development stages. *Biological trace element research*, 151(3): 434-440. doi: 10.1007/s12011-012-9575-6
28. Cömert, E. D., & Gökmen, V. (2018.): Evolution of food antioxidants as a core topic of food science for a century. *Food Research International*, 105: 76-93. doi: 10.1016/j.foodres.2017.10.056
29. D'Amato, R., Fontanella, M. C., Falcinelli, B., Beone, G. M., Bravi, E., Marconi, O., Benincasa, P. & Businelli, D. (2018.): Selenium biofortification in rice (*Oryza sativa* L.) sprouting: effects on Se yield and nutritional traits with focus on phenolic acid profile. *Journal of agricultural and food chemistry*. 66(16): 4082-4090. doi: 10.1021/acs.jafc.8b00127
30. D'Amato, R., Regni, L., Falcinelli, B., Mattioli, S., Benincasa, P., Dal Bosco, A., Pacheco, P., Proietti, P., Troni, E., Santi, C. & Businelli, D. (2020.): Current knowledge on selenium biofortification to improve the nutraceutical profile of food: A comprehensive review. *Journal of agricultural and food chemistry*, 68(14): 4075-4097. doi: 10.1021/acs.jafc.0c00172
31. Dable-Tupas, G., Otero, M.C.B., Bernolo, L. (2020.): Functional Foods and Health Benefits.

-
- In: Egbuna, C., Dable Tupas, G. (eds) *Functional Foods and Nutraceuticals: Bioactive Components, Formulations and Innovations*. Springer, Cham. 1-11. doi: 10.1007/978-3-030-42319-3_1
32. Dar, M. I., Naikoo, M. I., Rehman, F., Naushin, F., & Khan, F. A. (2016.): Proline accumulation in plants: roles in stress tolerance and plant development. In *Osmolytes and plants acclimation to changing environment: emerging omics technologies*. Springer, New Delhi. 155-166. doi: 10.1007/978-81-322-2616-1_9
 33. Das, S., Green, A. (2016.): Zinc in Crops and Human Health. In *Biofortification of Food Crops*. Springer New Delhi Heidelberg New York Dordrecht London. 31-40. doi: 10.1007/978-81-322-2716-8_3
 34. de Abreu, I. N., & Mazzafera, P. (2005.): Effect of water and temperature stress on the content of active constituents of *Hypericum brasiliense* Choisy. *Plant Physiology and Biochemistry*, 43(3): 241-248. doi: 10.1016/j.plaphy.2005.01.020
 35. Deng, X., Liu, K., Li, M., Zhang, W., Zhao, X., Zhao, Z., & Liu, X. (2017.): Difference of selenium uptake and distribution in the plant and selenium form in the grains of rice with foliar spray of selenite or selenate at different stages. *Field Crops Research*, 211: 165-171. doi: 10.1016/j.fcr.2017.06.008
 36. Desai T.R., Solanki J.K., Buch P., Goyal R.K. (2008.): *Triticum aestivum* L. (Wheatgrass) Formulation: An Alternate Treatment For The Patients With Thalassemia. *Oriental Pharmacy and Experimental Medicine*. 7(5): 466-476. doi: 10.3742/OPEM.2008.7.5.466
 37. Devi A., Chennakesavulu S., Suresh C., Reddy B. M. A. (2018.): Nutraceuticals and Their Role in Human Health and Disease. In *Functional Food and Human Health*. Springer Nature Singapore Pte Ltd. 375-403. doi: 10.1007/978-981-13-1123-9
 38. Di Silvestro, R., Di Loreto, A., Bosi, S., Bregola, V., Marotti, I., Benedettelli, S., Segura-Carretero, A. & Dinelli, G. (2017.). Environment and genotype effects on antioxidant properties of organically grown wheat varieties: a 3-year study. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 97(2): 641-649. doi: 10.1002/jsfa.7782
 39. Di, X., Qin, X., Zhao, L., Liang, X., Xu, Y., Sun, Y., & Huang, Q. (2023.): Selenium distribution, translocation and speciation in wheat (*Triticum aestivum* L.) after foliar spraying selenite and selenate. *Food chemistry*, 400: 134077. doi: 10.1016/j.foodchem.2022.134077
 40. Dixit S., Rajni S., Yogesh Kumar S. (2018.): Biofortification of Plant Nutrients: Present Scenario. In *Plant Nutrients and Abiotic Stress Tolerance*. Springer Nature Singapore Pte Ltd. 119-136. doi:10.1007/978-981-10-9044-8
 41. Duborská, E., Šebesta, M., Matulová, M., Zvěřina, O., & Urík, M. (2022.): Current Strategies for Selenium and Iodine Biofortification in Crop Plants. *Nutrients*, 14(22): 4717. doi: 10.3390/nu14224717
 42. Elayath, N., Iyer, U. (2012.): Wheatgrass (*Triticum Aestivum* l.) as functional food—bridging the translational research gap in nutrition. *Energy (Kcal)*. 354: 0-3.
 43. Ellis, R. D., Salt D. E. (2003.): Plants, selenium and human health. *Current Opinion in Plant Biology*. 6: 273–279. doi: 10.1016/S1369-5266(03)00030-X
 44. *European Pharmacopoeia*. 4th ed. Council of Europe; Strasbourg, France: 2004. pp. 2377–2378.
 45. Feng, R., Wei, C., Tu, S. (2013.): The roles of selenium in protecting plants against abiotic stresses. *Environmental and experimental botany*, 87: 58-68. doi: 10.1016/j.envexpbot.2012.09.002
 46. Filek, M., Gzyl-Malcher, B., Zembala, M., Bednarska, E., Lagner, P., & Kriechbaum, M. (2010.): Effect of selenium on characteristics of rape chloroplasts modified by cadmium.
-

- Journal of plant physiology, 167(1): 28-33. doi: 10.1016/j.jplph.2009.07.003
47. Friganović E., Čalić, S., Maleš V., Mustapić A. (2011.): Funkcionalna hrana i potrošači. Praktični menadžment: stručni časopis za teoriju i praksu menadžmenta. 2 (2): 51-57.
 48. Germ, M., & Stibilj, V. (2007.): Selenium and plants. Acta Agriculturae Slovenica, 89(1): 65-71. doi: 10.2478/v10014-007-0008-8
 49. Ghumman, A., Singh, N., & Kaur, A. (2017.): Chemical, nutritional and phenolic composition of wheatgrass and pulse shoots. International journal of food science & technology, 52(10): 2191-2200. doi: 10.1111/ijfs.13498
 50. Gore R. D., Sangeeta J. P., Anirudha R. B. (2017.): Wheatgrass: Green Blood can Help to Fight Cancer. Journal of Clinical and Diagnostic Research. 11(6): 40-42. doi: 10.7860/JCDR/2017/26316.10057
 51. Granato, D., Barba, F. J., Bursać Kovačević, D., Lorenzo, J. M., Cruz, A. G., & Putnik, P. (2020.): Functional foods: Product development, technological trends, efficacy testing, and safety. Annual review of food science and technology, 11: 93-118. doi: 10.1146/annurev-food-032519-051708
 52. Grubišić S., Orkić V., Guberac S., Petrović S., Lisjak M., Kristić M., Rebekić A. (2019.): Optimalan način sjetve pšenice (*Triticum aestivum* L.) za uzgoj pšenične trave. Poljoprivreda (Osijek). 25(2): 31-37 doi: 10.18047/poljo.25.2.5
 53. Gülcin, I. (2012.): Antioxidant activity of food constituents: an overview. Archives of toxicology, 86(3): 345-391. doi: 10.1007/s00204-011-0774-2
 54. Gupta, D. (2015.): Methods for determination of antioxidant capacity: A review. International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research, 6(2): 546. doi: 10.13040/IJPSR.0975-8232.6(2).546-66
 55. Hardy, G. (2000.): Nutraceuticals and Functional Foods: Introduction and Meaning. Nutrition (Burbank, Los Angeles County, Calif.). 16(7-8): 688-697. doi: 10.1016/s0899-9007(00)00332-4
 56. Hasanuzzaman, M., Bhuyan, M. B., Raza, A., Hawrylak-Nowak, B., Matraszek-Gawron, R., Al Mahmud, J., Nahar, K. & Fujita, M. (2020.): Selenium in plants: Boon or bane?. Environmental and Experimental Botany, 178: 104170. doi: 10.1016/j.envexpbot.2020.104170
 57. Hatfield L., D., Berry M. J., Gladyshev V. N. (2012.): Selenium Its Molecular Biology and Role in Human Health. Third Edition. Springer New York Dordrecht Heidelberg London doi: 10.1007/978-1-4614-1025-6
 58. Hatfield L., Schweizer U., Tsuji P. A., Gladyshev V. N. (2016.): Selenium Its Molecular Biology and Role in Human Health. Fourth Edition Springer Science Business Media, LLC 2001, 2006, 2012, 2016. doi: 10.1007/978-3-319-41283-2.
 59. Hawrylak-Nowak B., Hasanuzzaman M., Matraszek-Gawron R. (2018.): Mechanisms of Selenium-Induced Enhancement of Abiotic Stress Tolerance in Plants. In Plant Nutrients and Abiotic Stress Tolerance. Springer Nature Singapore Pte Ltd. doi: 10.1007/978-981-10-9044-8
 60. Heath, R.L., Packer, L. (1968.): Photoperoxidation in isolated chloroplasts. I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. Archives in Biochemistry and Biophysics, 125: 189-198. doi: 10.1016/0003-9861(68)90654-1
 61. Heo, H., Lee, H., Park, J., Kim, K. H., Jeong, H. S., & Lee, J. (2022.): Antioxidant and Cytoprotective Capacities of Various Wheat (*Triticum aestivum* L.) Cultivars in Korea. Foods, 11(15): 2338. doi: 10.3390/foods11152338
 62. Hildebrandt, T. M., Nesi, A. N., Araújo, W. L., & Braun, H. P. (2015.): Amino acid catabolism in plants. Molecular plant, 8(11): 1563-1579. doi: 10.1016/j.molp.2015.09.005

-
63. Holm, G. (1954.): Chlorophyll mutations in barley *Acta Agriculturae Scandinavica* 4(1): 457-461. doi: 10.1080/00015125409439955
64. Huang, D., Ou, B., & Prior, R. L. (2005.): The chemistry behind antioxidant capacity assays. *Journal of agricultural and food chemistry*, 53(6): 1841-1856. doi: 10.1021/jf030723c
65. Huang, G., Ding, C., Yu, X., Yang, Z., Zhang, T., & Wang, X. (2018.): Characteristics of Time-Dependent Selenium Biofortification of Rice (*Oryza sativa* L.). *Journal of agricultural and food chemistry*, 66(47): 12490–12497. doi: 10.1021/acs.jafc.8b04502
66. Hussain, A., Larsson, H., Kuktaite, R., & Johansson, E. (2012.): Healthy food from organic wheat: Choice of genotypes for production and breeding. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 92(14): 2826-2832. doi: 10.1002/jsfa.5665
67. Islam, M. Z., Park, B. J., Kang, H. M., & Lee, Y. T. (2020.): Influence of selenium biofortification on the bioactive compounds and antioxidant activity of wheat microgreen extract. *Food chemistry*, 309: 125763. doi: 10.1016/j.foodchem.2019.125763
68. Jančić, D., Šuković, D., Rešetar, J., Delić, L., & Nikolić, M. (2022.): Nutritional composition, biologically active substances and antioxidant activity of young spelt grass extract. *JSFA Reports*, 2(8): 385-397. doi: 10.1002/jsf2.73
69. Johansson, E., Branlard, G., Cuniberti, M., Flagella, Z., Hüsken, A., Nurit, E., Peña, R.J., Sissons, M. & Vazquez, D. (2020.): Genotypic and environmental effects on wheat technological and nutritional quality. *Wheat quality for improving processing and human health* 171-204. doi: 10.1007/978-3-030-34163-3_8
70. Karthika K. S., Rashmi I., Parvathi M. S. (2018.): Biological Functions, Uptake and Transport of Essential Nutrients in Relation to Plant Growth. In *Plant Nutrients and Abiotic Stress Tolerance*. Springer Nature Singapore Pte Ltd. doi:10.1007/978-981-10-9044-8
71. Kaur N., Shuchi S., Simranjeet K., Harsh N. (2014.): Selenium In Agriculture: A Nutrient Or Contaminant For Crops? *Archives of Agronomy and Soil Science*. 60(12): 1593–1624, doi:10.1080/03650340.2014.918258
72. Kaur, G., & Asthir, B. J. B. P. (2015.): Proline: a key player in plant abiotic stress tolerance. *Biologia plantarum*, 59(4): 609-619. doi: 10.1007/s10535-015-0549-3
73. Kaur, N., Singh, B., Kaur, A., Yadav, M. P., Singh, N., Ahlawat, A. K., & Singh, A. M. (2021.): Effect of growing conditions on proximate, mineral, amino acid, phenolic composition and antioxidant properties of wheatgrass from different wheat (*Triticum aestivum* L.) varieties. *Food Chemistry*, 341: 128201. doi: 10.1016/j.foodchem.2020.128201
74. Kaushal V. S. (2017.): Time dependent antioxidant activity in wheatgrass (*Triticum aestivum*). *European Journal of pharmaceutical and medical research*, 4(9): 347-349.
75. Khan M., Ahmad, R., Khan, M. D., Rizwan, M., Ali, S., Khan, M. J., Azam, M., Irum, G., Ahmad, M. N., Zhu, S. (2018.): Trace Elements in Abiotic Stress Tolerance. *Plant Nutrients and Abiotic Stress Tolerance*. 137-151. doi:10.1007/978-981-10-9044-8
76. Kim, M., Park, J., Kim, K. M., Kim, Y., Kang, C. S., Son, J., Ko, J. & Kim, K. H. (2022.): Low-Temperature Effects on the Growth and Phytochemical Properties of Wheat Sprouts. *Agriculture*, 12(6): 745. doi:10.3390/agriculture12060745
77. Kulkarni, S. D., Tilak, J. C., Acharya, R., Rajurkar, N. S., Devasagayam, T. P. A., & Reddy, A. V. R. (2006.): Evaluation of the antioxidant activity of wheatgrass (*Triticum aestivum* L.) as a function of growth under different conditions. *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives*, 20(3): 218-227. doi: 10.1002/ptr.1838
78. Kumar A., Choudhary, A. K., Pooniya, V., Suri, V.K., Singh, U. (2016.): Soil Factors Associated with Micronutrient Acquisition in Crops- Biofortification Perspective.
-

- Biofortification of Food Crops, 159-176. doi: 10.1007/978-81-322-2716-8_13
79. Kumar N., Uma I. (2017.): Impact of Wheatgrass (*Triticum aestivum* L.) Supplementation on Atherogenic Lipoproteins and Menopausal Symptoms in Hyperlipidemic South Asian Women – A Randomized Controlled Study. *Journal of Dietary Supplements*, 14(5): 503-513, doi: 10.1080/19390211.2016.1267063
 80. Kumar S. N., Megha M., Anju M. N., Arun S. N. (2016.): Green Blood Therapy of Wheat Grass - Nature's Finest Medicine' - A Literature Review. *Journal of Pharmacy and Biological Sciences*. 11(2): 57-64 doi: 10.9790/3008-1102045764
 81. Kusznierevicz, B., Bartoszek, A., Wolska, L., Drzewiecki, J., Gorinstein, S., & Namieśnik, J. (2008.): Partial characterization of white cabbages (*Brassica oleracea* var. *capitata* f. *alba*) from different regions by glucosinolates, bioactive compounds, total antioxidant activities and proteins. *LWT-Food Science and Technology*, 41(1): 1-9. doi: 10.1016/j.lwt.2007.02.007
 82. Li, X., Sun, J., Li, W., Gong, Z., Jia, C., & Li, P. (2022.): Effect of foliar application of the selenium-rich nutrient solution on the selenium accumulation in grains of Foxtail millet (Zhangzagu 10). *Environmental Science and Pollution Research*, 29(4): 5569-5576. doi: 10.1007/s11356-021-16013-8
 83. Liu, H., Bruce, D. R., Sissons, M., Able, A. J., & Able, J. A. (2018.): Genotype-dependent changes in the phenolic content of durum under water-deficit stress. *Cereal Chemistry*, 95(1): 59-78. doi: 10.1002/cche.10007
 84. Lyons M. P., Papazyan T. T., Surai P. F. (2007.): Selenium in Food Chain and Animal Nutrition: Lessons from Nature -Review. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*. 20 (7): 1135 – 1155. doi: 10.5713/ajas.2007.1135
 85. Malik, J. A., Goel, S., Kaur, N., Sharma, S., Singh, I., & Nayyar, H. (2012.): Selenium antagonises the toxic effects of arsenic on mungbean (*Phaseolus aureus* Roxb.) plants by restricting its uptake and enhancing the antioxidative and detoxification mechanisms. *Environmental and Experimental Botany*, 77: 242-248. doi: 10.1016/j.envexbot.2011.12.001
 86. Marreiro D. do N., Kyria J. C. C., Jennifer B. S. M., Jéssica B. B., Juliana S. S., Ana Raquel S. de O. (2017.): Zinc and Oxidative Stress: Current Mechanisms. *Antioxidants*. 6: 24. doi: 10.3390/antiox6020024
 87. Martini, D., Taddei, F., Ciccoritti, R., Pasquini, M., Nicoletti, I., Corradini, D., & D'Egidio, M. G. (2015.): Variation of total antioxidant activity and of phenolic acid, total phenolics and yellow coloured pigments in durum wheat (*Triticum turgidum* L. var. *durum*) as a function of genotype, crop year and growing area. *Journal of Cereal Science*, 65: 175-185. doi: 10.1016/j.jcs.2015.06.012
 88. Martini, D., Taddei, F., Nicoletti, I., Ciccoritti, R., Corradini, D., & D'Egidio, M. G. (2014.): Effects of genotype and environment on phenolic acids content and total antioxidant capacity in durum wheat. *Cereal Chemistry*, 91(4): 310-317. doi: 10.1094/CCHEM-09-13-0201-CESI
 89. Mattioli, R., Costantino, P., & Trovato, M. (2009.): Proline accumulation in plants: not only stress. *Plant signaling & behavior*, 4(11): 1016-1018. doi: 10.4161/psb.4.11.9797
 90. Meyerowitz, S. (1999.): *Wheatgrass: Nature'S Finest Medicine: The Complete Guide To Using Grasses To Revitalize Your Health* (6th ed.). Po Box 99, Summertown. USA: Sproutman Publications.
 91. Mezeyová, I., Hegedúsová, A., Golian, M., Andrejiová, A., Šlosár, M., & Mezey, J. (2022.): Influence of Microgreens Biofortification with Selenium on Their Quantitative and Qualitative Parameters. *Agronomy*, 12(5): 1096. doi: 10.3390/agronomy12051096
 92. Minatel, I. O., Borges, C. V., Ferreira, M. I., Gomez, H. A. G., Chen, C. Y. O., & Lima, G. P. P. (2017.): Phenolic compounds: Functional properties, impact of processing and

- bioavailability. *Phenolic Compounds: Biological Activity*, 8: 1-24. doi: 10.5772/66368
93. Minocha, N., Sharma, N., & Pandey, P. (2022.): Wheatgrass: An Epitome of Nutritional Value. *Current Nutrition & Food Science*, 18(1): 22-30. doi: 10.2174/1573401317666210906140834
94. Mujoriya R., Ramesh B. B. (2011.): A Study On Wheat Grass And Its Nutritional Value. *Food Science and Quality Management*, 2: 1-8.
95. Naikoo, M. I., Dar, M. I., Raghieb, F., Jaleel, H., Ahmad, B., Raina, A., Khan, F. A. & Naushin, F. (2019.): Role and regulation of plants phenolics in abiotic stress tolerance: An overview. *Plant signaling molecules*, 157-168. doi: 10.1016/B978-0-12-816451-8.00009-5
96. Narwal, S., Kumar, D., & Verma, R. P. S. (2016.): Effect of genotype, environment and malting on the antioxidant activity and phenolic content of Indian barley. *Journal of Food Biochemistry*, 40(1): 91-99. doi: 10.1111/jfbc.12198
97. Nielsen, H. F. (2012.): History of Zinc in Agriculture. American Society for Nutrition. *Advances in Nutrition*. 3: 783–789. doi:10.3945/an.112.002881
98. Nigro, D., Grausgruber, H., Guzmán, C., & Laddomada, B. (2020.): Phenolic Compounds in Wheat Kernels: Genetic and Genomic Studies of Biosynthesis and Regulations. *Wheat Quality For Improving Processing And Human Health*, 225-253. doi: 10.1007/978-3-030-34163-3_10
99. Niroula, A., Khatri, S., Timilsina, R., Khadka, D., Khadka, A., & Ojha, P. (2019.b): Profile of chlorophylls and carotenoids of wheat (*Triticum aestivum* L.) and barley (*Hordeum vulgare* L.) microgreens. *Journal of food science and technology*, 56(5): 2758-2763. doi: 10.1007/s13197-019-03768-9
100. Niroula, A., Sagar K., Dinesh K., Rashika T. (2019.): Total Phenolic Contents And Antioxidant Activity Profile Of Selected Cereal Sprouts And Grasses. *International Journal Of Food Properties*. 22 (1): 427–437 doi:10.1080/10942912.2019.1588297
101. Ogawa Y., Manao K., Shinji S., Tatsuyoshi K. (2018.): Zinc and Skin Disorders. *Nutrients*. 10(2): 199 doi:10.3390/nu10020199
102. Ogutu F.O., Shadrack I. M., Christine W. M., Daniel L., Gertrude O., Susan L. (2017.): Wheat Grass: A Functional Food. *Food Science and Quality Management*. 65: 33-38.
103. Ordonez A. A. L., Gomez J. D., Vattuone M. A., Isla M. I. (2006.): Antioxidant activities of *Sechium edule* (Jacq.) Swart extracts. *Food Chemistry* 97(3): 452–458. doi: 10.1016/j.foodchem.2005.05.024
104. Özen, A. E., del Mar Bibiloni, M., Pons, A., & Tur, J. A. (2014.): Consumption of functional foods in Europe; a systematic review. *Nutricion hospitalaria*, 29(3): 470-478. doi: 10.3305/NH.2014.29.3.7148
105. Özköse, A., Arslan, D., & Aysenur, A. C. A. R. (2016.): The comparison of the chemical composition, sensory, phenolic and antioxidant properties of juices from different wheatgrass and turfgrass species. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 44(2): 499-507. doi: 10.15835/nbha44210405
106. Padalia S., Drabu, S., Raheja, I., Gupta, A., Dhamija, M. (2010.): Multitude potential of wheatgrass juice (Green Blood): An overview. *Chronicles of Young Scientists*. 1(2): 23-28.
107. Pandey, K. B., & Rizvi, S. I. (2009.): Plant polyphenols as dietary antioxidants in human health and disease. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2(5): 270-278. doi: 10.4161/oxim.2.5.9498
108. Pannico, A., El-Nakhel, C., Graziani, G., Kyriacou, M. C., Giordano, M., Soteriou, G. A., Zarrelli, A., Ritieni, A., Pascale, S.D., & Roupheal, Y. (2020.): Selenium biofortification impacts the nutritive value, polyphenolic content, and bioactive constitution of variable microgreens genotypes. *Antioxidants*, 9(4): 272. doi: 10.3390/antiox9040272
109. Parit, S. B., Dawkar, V. V., Tanpure, R. S., Pai, S. R., & Chougale, A. D. (2018.): Nutritional

- quality and antioxidant activity of wheatgrass (*Triticum aestivum*) un-wrap by proteome profiling and DPPH and FRAP assays. *Journal of food science*, 83(8): 2127-2139. doi: 10.1111/1750-3841.14224
110. Paulraj S., Kumar S. (2016.): Selenium Bioavailability Through Microbes. *Biofortification of Food Crops*. Springer New Delhi Heidelberg New York Dordrecht London. 303-316. doi: 10.1007/978-81-322-2716-8
111. Payal C., Kaur D. S., Kaur G., Shah G., Chawla A., Dhawan R. K. (2015.): Wheat Grass: A Review On Pharmacognosy And Pharmacological Aspects. *International Journal of Phytopharmacology*. 6(2): 80-85.
112. Prasad S. A., Frances W. J. B. , Diane C. S., Omer K. (2009.): Zinc in Cancer Prevention, *Nutrition and Cancer*, 61(6): 879-887. doi:10.1080/01635580903285122
113. Prasad, S. A. (2008.): Zinc in Human Health: Effect of Zinc on Immune Cells. *MOLMED*. 14(5-6): 353-357. doi: 10.2119/2008-00033.Prasad
114. Ram, S., & Govindan, V. (2020.): Improving wheat nutritional quality through biofortification. *Wheat quality for improving processing and human health*, 205-224. Springer, Cham. doi: 10.1007/978-3-030-34163-3_9
115. Rani V., Arora A., Ruba P. H., Jain A. (2018.): *Composition of Functional Food in World Diet. Functional Food and Human Health*. Springer Nature Singapore Pte Ltd. 3-14. doi:10.1007/978-981-13-1123-9
116. Rayman, P. M. (2000.): The importance of selenium to human health. *The Lancet*. 356: 233–241. doi: 10.1016/S0140-6736(00)02490-9
117. Rayman, P. M. (2012.): Selenium and human health. *The Lancet*. 379: 1256–1268. doi:10.1016/S0140-6736(11)61452-9
118. Rebekić, A., Grubišić, S., Orkić, V., Guberac, S., Lisjak, M., & Mišković Špoljarić, K. (2019.): Wheatgrass (*Triticum aestivum* L.)—natural food supplement. In *Proceedings of 54th Croatian & 14th international symposium on agriculture*, 209-213.
119. Reilly, C. (2006.): *Selenium in Food and Health*, Second Edition. Springer Science Business Media, LLC. doi: 10.1007/978-0-387-33244-4_5
120. Roberfroid, M. B. (2002.): Global view on functional foods: European perspectives. *British Journal of Nutrition*, 88(S2): S133-S138. doi: 10.1079/BJN2002677
121. Roe H. Joseph & Kuether A. Carl (1943.): The Determination Of Ascorbic Acid In Whole Blood And Urine Through The 2,4-Dinitrophenylhydrazine Derivative Of Dehydroascorbic Acid. *The Journal of Biological Chemistry*. 147: 399-407.
122. Roy, B. (2022.): Bio-Fortification; Future Challenges Toward Nutritional Security: Mini Review. *Plant Archives*, 22(1): 231-237.
123. Sadeghzadeh, B. (2013.): A Review Of Zinc Nutrition And Plant Breeding. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*. 13(4): 905-927. doi: 10.4067/S0718-95162013005000072
124. Saper R. B., Rash R. (2009.): Zinc: An Essential Micronutrient. *American family physician*. 79 (9): 768-772.
125. Şavşatlı, Y. (2020.): The effects of wheatgrass length on antioxidant activity and total phenolic content in wheatgrass (*Triticum spp.*). *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 44(3): 271-277. doi: 10.3906/tar-1811-33
126. Schiavon, M., Nardi, S., Dalla Vecchia, F., & Ertani, A. (2020.): Selenium biofortification in the 21st century: Status and challenges for healthy human nutrition. *Plant and Soil*, 453(1): 245-270. doi: 10.1007/s11104-020-04635-9
127. Shahid, M., Saleem, M. F., Anjum, S. A., Shahid, M., & Afzal, I. (2017.): Effect of terminal heat stress on proline, secondary metabolites and yield components of wheat (*Triticum aestivum*

- L.) genotypes. *The Philippine Agricultural Scientist*, 100(3): 278-286.
128. Shamloo, M., Babawale, E. A., Furtado, A., Henry, R. J., Eck, P. K., & Jones, P. J. (2017.): Effects of genotype and temperature on accumulation of plant secondary metabolites in Canadian and Australian wheat grown under controlled environments. *Scientific Reports*, 7(1): 1-13. doi: 10.1038/s41598-017-09681-5
129. Shewry, P. R., & Hey, S. (2015.): Do “ancient” wheat species differ from modern bread wheat in their contents of bioactive components? *Journal of Cereal Science*, 65: 236-243. doi: 10.1016/j.jcs.2015.07.014
130. Shewry, P. R., Pironen, V., Lampi, A. M., Edelmann, M., Kariluoto, S., Nurmi, T., Fernandez-Orozco, R., Ravel, C., Charmet, G., Andersson, A.A.M., Åman, P., Boros, D., Gebruers, K., Dornez, E., Courtin, C.M., Delcour, J.A., Rakszegi, M., Bedo, Z. & Ward, J. L. (2010.): The HEALTHGRAIN wheat diversity screen: effects of genotype and environment on phytochemicals and dietary fiber components. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(17): 9291-9298. doi: 10.1021/jf100039b
131. Siddique, A., Kandpal, G., & Kumar, P. (2018.): Proline accumulation and its defensive role under diverse stress condition in plants: An overview. *Journal of Pure and Applied Microbiology*, 12(3): 1655-1659. doi: 10.22207/JPAM.12.3.73
132. Singh N., Verma P., Pandey B. R (2012.): Therapeutic Potential of Organic *Triticum aestivum* Linn. (Wheat Grass) in Prevention and Treatment of Chronic Diseases: An Overview. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Drug Research*. 4(1): 10-14
133. Singh U., Praharaj C.S., Chaturvedi S.K., Bohra A. (2016.): Biofortification: Introduction, Approaches, Limitations, and Challenges. *Biofortification of Food Crops*. Springer New Delhi Heidelberg New York Dordrecht London. 3-18. doi: 10.1007/978-81-322-2716-8
134. Singleton, V.L. & Rossi, J.A. (1965.): Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagent. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16: 144-158.
135. Skoczylas, Ł., Korus, A., Tabaszewska, M., Gędoś, K., & Szczepańska, E. (2018.): Evaluation of the quality of fresh and frozen wheatgrass juices depending on the time of grass harvest. *Journal of Food Processing and Preservation*, 42(1): e13401. doi: 10.1111/jfpp.13401
136. Skrypnik, L., Feduraev, P., Styran, T., Golovin, A., Katsarov, D., Nebreeva, S., & Maslennikov, P. (2022.): Biomass, Phenolic Compounds, Essential Oil Content, and Antioxidant Properties of Hyssop (*Hyssopus officinalis* L.) Grown in Hydroponics as Affected by Treatment Type and Selenium Concentration. *Horticulturae*, 8(11): 1037. doi: 10.3390/horticulturae8111037
137. Skrypnik, L., Novikova, A., & Tokupova, E. (2019.): Improvement of phenolic compounds, essential oil content and antioxidant properties of sweet basil (*Ocimum basilicum* L.) depending on type and concentration of selenium application. *Plants*, 8(11): 458. doi: 10.3390/plants8110458
138. Suriyavathana, M., Roopavathi I., Vinu V. (2016.): Phytochemical Characterization of *Triticum Aestivum* (Wheat Grass). *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*. 5(1): 283-286
139. Sutar-kapashikar P.S., Gawali T. R., Koli S. R., Khot A. S., Dehankar S. P., Patil P. D. (2018.): Phenolic Content in *Triticum Aestivum*: A Review. *International Journal of New Technology and Research*. 4(12): 01-02.
140. Szabados, L., Kovács, H., Zilberstein, A., & Bouchereau, A. (2011.): Plants in extreme environments: importance of protective compounds in stress tolerance. In *Advances in Botanical Research Academic Press* 57: 105-150. doi: 10.1016/B987/-0-12-387692-8.00004-7
141. Szerement, J., Szatanik-Kloc, A., Mokrzycki, J., & Mierzwa-Hersztek, M. (2022.): Agronomic biofortification with Se, Zn, and Fe: an effective strategy to enhance crop nutritional quality and stress defense—a review. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 1129-1159. doi:

- 10.1007/s42729-021-00719-2
142. Tandon S., Amrita A., Sonali S., Jitender M., Shagun A. (2011.): Antioxidant Profiling of *Triticum aestivum* (wheatgrass) and its Antiproliferative Activity In MCF-7 Breast Cancer Cell Line. *Journal of Pharmacy Research*. 4(12): 4601-4604.
143. Thammana M., Seshamma S., Sailaja N. (2016.): A Mini Review on Wheatgrass *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*. 4(3): 13-19.
144. Tsonev, T., Cebola Lidon, F. J. (2012.): Zinc in plants - An overview. *Emirates Journal of Food and Agriculture*. 24(4): 322-333.
145. Ulhassan Z., Shafaqat A., Muhammad R., Afzal H., Zaheer A., Nasir R., Faraht A. (2017.): Role of Zinc in Alleviating Heavy Metal Stress. In *Essential Plant Nutrients Uptake, Use Efficiency, and Management*. Springer International Publishing. 351-366. doi: 10.1007/978-3-319-58841-4_14
146. Urbonavičiūtė, A., Samuolienė G., Brazaitytė A., Duchovskis P., Ruzgas V., Žukauskas A. (2009.): The Effect Of Variety And Lighting Quality of Wheatgrass Antioxidant Properties. *Zemdirbyste-Agriculture*. 96(3): 119–128.
147. Vertuani, S., Angusti, A., & Manfredini, S. (2004.): The antioxidants and pro-antioxidants network: an overview. *Current pharmaceutical design*, 10(14): 1677-1694. doi: 10.2174/1381612043384655
148. Vukadinović V., Lončarić Z. (1998.): *Ishrana bilja*. Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Poljoprivredni fakultet Osijek
149. Vukadinović V., Vukadinović V. (2011.): *Ishrana bilja*. Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Poljoprivredni fakultet u Osijeku
150. Wang M., Fayaz A., Mengke W., Quang T. D., Fei Z., Gary S. B., Dongli L. (2020.): Understanding boosting selenium accumulation in Wheat (*Triticum aestivum* L.) following foliar selenium application at different stages, forms, and doses. *Environmental Science and Pollution Research*, 27: 717-728. doi: 10.1007/s11356-019-06914-0
151. Wang, C. Q. (2011.): Water-stress mitigation by selenium in *Trifolium repens* L. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 174(2): 276-282. doi: 10.1002/jpln.200900011
152. Wettstein, D. (1957.): Chlorophyll – letale und der submikroskopische Formwechsel der Plastiden *Exp. Cell Res.* 12: 427–487. doi: 10.1016/0014-4827(57)90165-9
153. Wigmore, A. (1985.): *The Wheatgrass Book*. USA: Hippocrates Health Institute, Inc.
154. Yao, X., Chu, J., & Wang, G. (2009.): Effects of selenium on wheat seedlings under drought stress. *Biological Trace Element Research*, 130(3): 283-290. doi: 10.1007/s12011-009-8328-7
155. Yao, X., Chu, J., He, X., & Ba, C. (2011.): Protective role of selenium in wheat seedlings subjected to enhanced UV-B radiation. *Russian Journal of Plant Physiology*, 58(2): 283-289. doi:10.1134/S1021443711020257
156. Yen, G. C., Duh, P. D., & Chuang, D. Y. (2000.): Antioxidant activity of anthraquinones and anthrone. *Food chemistry*, 70(4): 437-441. doi: 10.1016/S0308-8146(00)00108-4
157. Yilmaz, V. A., Brandolini, A., & Hidalgo, A. (2015.): Phenolic acids and antioxidant activity of wild, feral and domesticated diploid wheats. *Journal of Cereal Science*, 64: 168-175. doi: 10.1016/j.jcs.2015.05.005
158. Yin X., Linxi Y., Ying L., Zhiqing L. (2012.): Phytoremediation and Biofortification: Two Sides of One Coin. In *Phytoremediation and Biofortification*. Springer Dordrecht Heidelberg New York London. doi:10.1007/978-94-007-1439-7
159. Žilić, S. (2016.): Phenolic compounds of wheat. Their content, antioxidant capacity and bioaccessibility. *MOJ Food Processing & Technology*, 2(3): 00037. doi: 10.15406/mojfpt.2016.02.00037

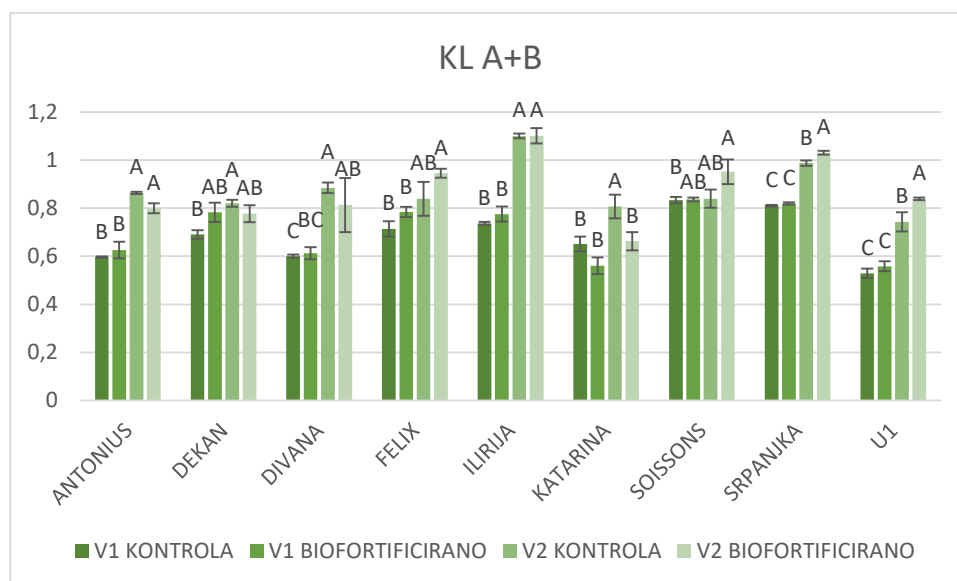
9. SAŽETAK

Istraživanja su provedena s ciljem utvrđivanja hranidbene vrijednosti soka pšenične trave kao prirodnog dodatka prehrani. Ispitana je genetska specifičnost u sadržaju biološki aktivnih komponenti u soku pšenične trave kod 100 sorata pšenice euroazijskog oplemenjivačkog porijekla i 5 divljih srodnika, uzgajanih u klima komori. Na temelju dobivenih podataka odabrano je 9 sorti na kojima je ispitan utjecaj biofortifikacije pšenice selenom i cinkom u poljskom pokusu i dana otkosa pšenične trave uzgojene iz sjemena biofortificiranih biljaka, na sadržaj biološki aktivnih komponenti u soku. Poseban naglasak stavljen je na utjecaj ekoloških uvjeta uzgoja pšenične trave na antioksidativnu aktivnost i sadržaj nutritivno vrijednih fitokemikalija u soku. U uzorcima prikupljenih iz serija postavljenih pokusa utvrđen je sadržaj kloroplastnih pigmenata, fenola, flavonoida, flavanola, fenolnih kiselina, vitamina C, prolina i malondialdehida. Ukupna antioksidativna aktivnost u soku pšenične utvrđena je pomoću DPPH, FRAP i ORAC metoda te je određen kapacitet kelatiranja Fe iona. Rezultati upućuju na značajan utjecaj genotipa i ekoloških uvjeta uzgoja na nutritivnu kvalitetu soka pšenične trave. Također, utvrđeno je da odmak ekoloških uvjeta izvan granica optimuma za pšeničnu travu uzgajanu u kontroliranim uvjetima, a koji se odnose na smanjenje količine pristupačne vode, manji intenzitet osvjetljenja te niže temperature, povećavaju nutritivnu kvalitetu soka pšenične trave kroz stimulaciju sinteze i akumulaciju produkata sekundarnog metabolizma. Također, biofortifikacija Se i Zn je kod nekih sorata negativno utjecala na sadržaj vitamina C i flavonoida, kao važnih komponenti antioksidativnog statusa biljke, međutim kod nekih je sorata ovaj negativan utjecaj bio značajno manje izražen. Poznavanje specifičnosti kultivara i fiziološkog odgovora pšenične trave na različite uvjete uzgoja, omogućuje nam odabir sorti kod kojih je moguće agronomskom biofortifikacijom povećati koncentraciju i bioraspoloživost Se i Zn, bez negativnog utjecaja na važne komponente nutritivne kvalitete soka pšenične trave.

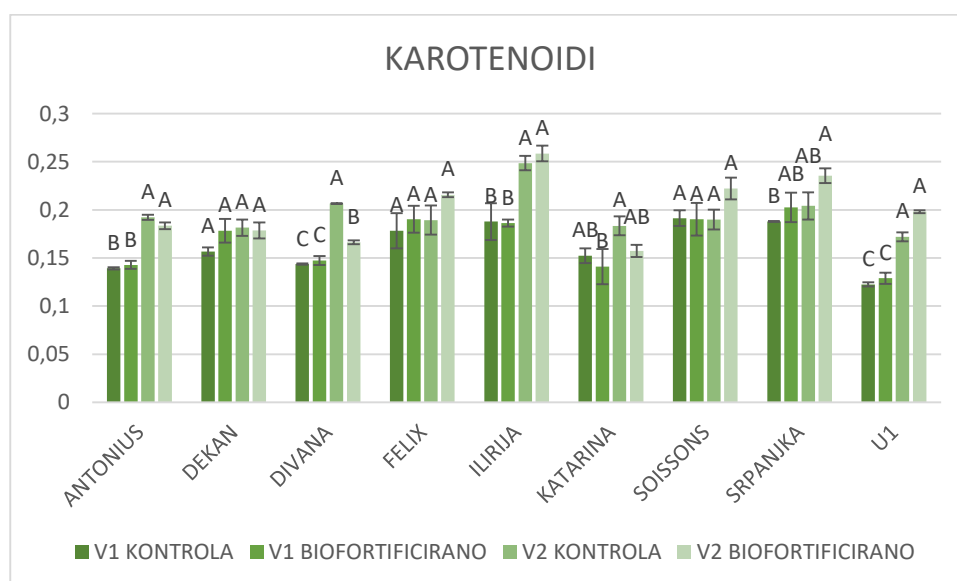
10. SUMMARY

Research was conducted with the aim of determining the nutritional value of wheatgrass juice as a natural food supplement. Genetic specificity in the content of biologically active components in wheatgrass juice, was tested in 100 varieties of wheat of Eurasian breeding origin and 5 wild relatives, grown in a climate chamber. Based on the obtained data, 9 varieties were selected, on which the impact of biofortification of wheat with selenium and zinc was tested in a field experiment and on the content of biologically active components in the juice. Special emphasis is placed on the influence of the ecological growth conditions on the antioxidant activity and the content of nutritionally valuable phytochemicals in the wheatgrass juice. The content of chloroplast pigments, phenols, flavonoids, flavanols, phenolic acids, vitamin C, proline and malondialdehyde was determined in the samples collected from the set of the experiments. Total antioxidant activity in wheatgrass juice was determined using DPPH, FRAP and ORAC methods, and Fe ion chelating capacity was determined. The results indicate a significant influence of the genotype and the ecological conditions of cultivation on the nutritional quality of wheatgrass juice. Also, it was determined that the ecological conditions beyond the optimum for wheatgrass grown in controlled conditions, related to the reduction of the amount of accessible water, lower intensity of lighting and lower temperatures, increase the nutritional quality of wheatgrass juice through the stimulation of synthesis and the accumulation of products of secondary metabolism. Also, the biofortification with Se and Zn had a negative effect on the content of vitamin C and flavonoids, as important components of the plant's antioxidant status, however in some cultivars this negative influence was significantly less pronounced. Knowing the specificity of cultivars and the physiological response of wheatgrass to different growing conditions, allows us to select varieties where it is possible to increase the concentration and bioavailability of Se and Zn through agronomic biofortification, without negatively affecting the important components of the nutritional quality of wheatgrass juice.

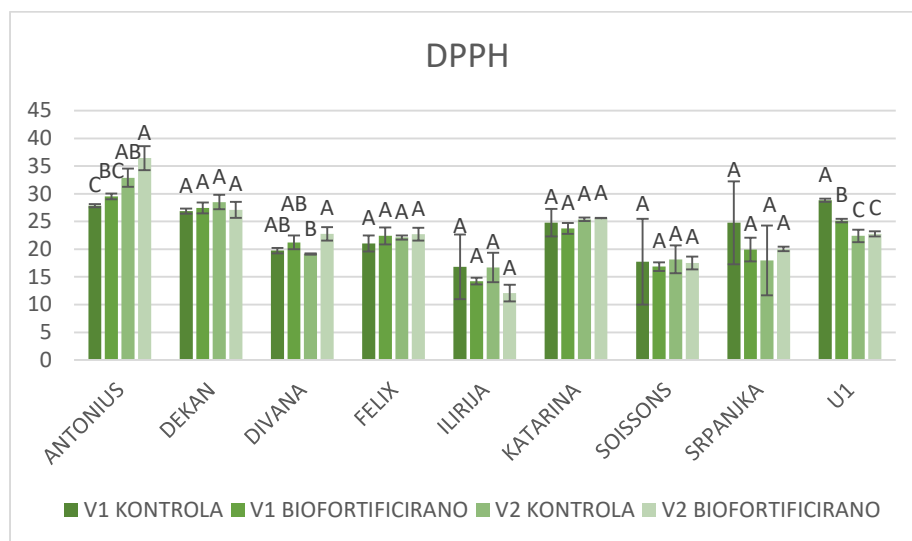
11. PRILOG



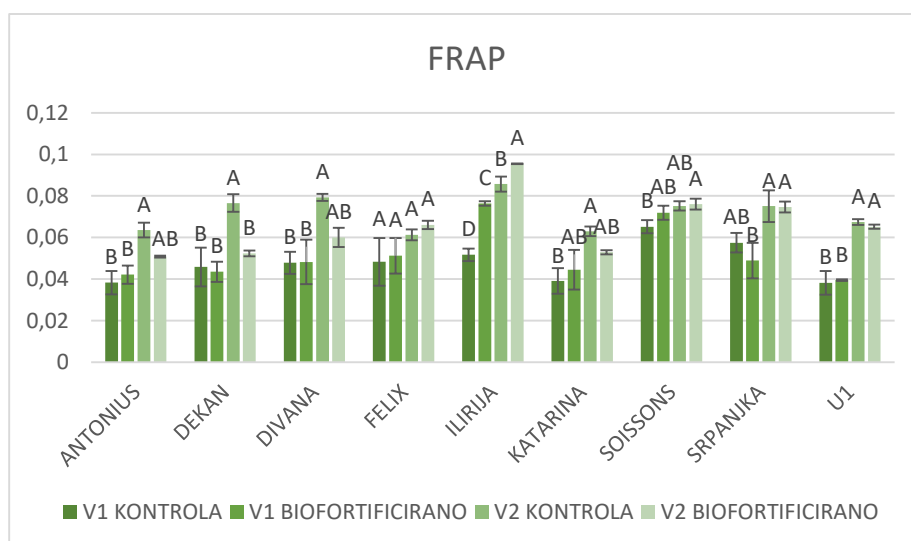
Grafikon I. Utjecaj biofortifikacije Se i Zn i količine pristupačne vode na sadržaj ukupnih klorofila u soku pšenične trave ispitivanih sorata



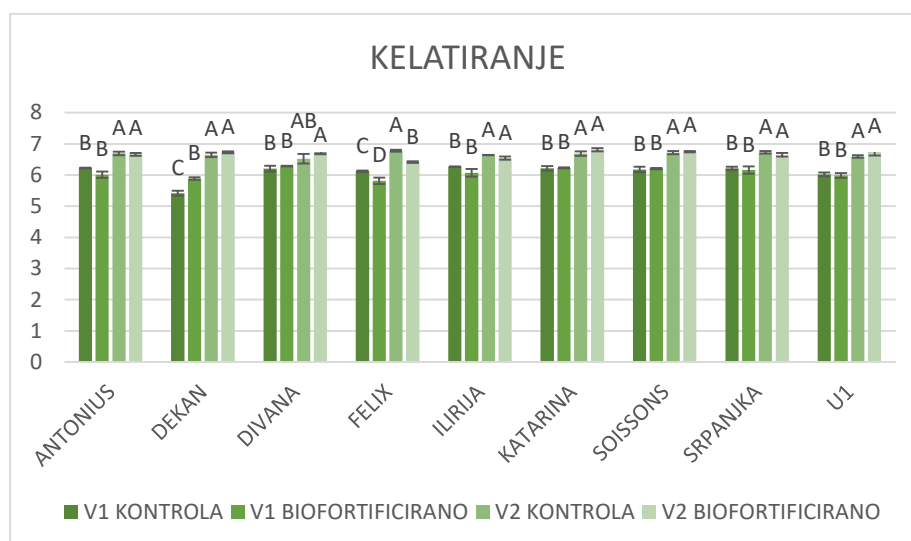
Grafikon II. Utjecaj biofortifikacije Se i Zn i količine pristupačne vode na sadržaj karotenoida u soku pšenične trave ispitivanih sorata



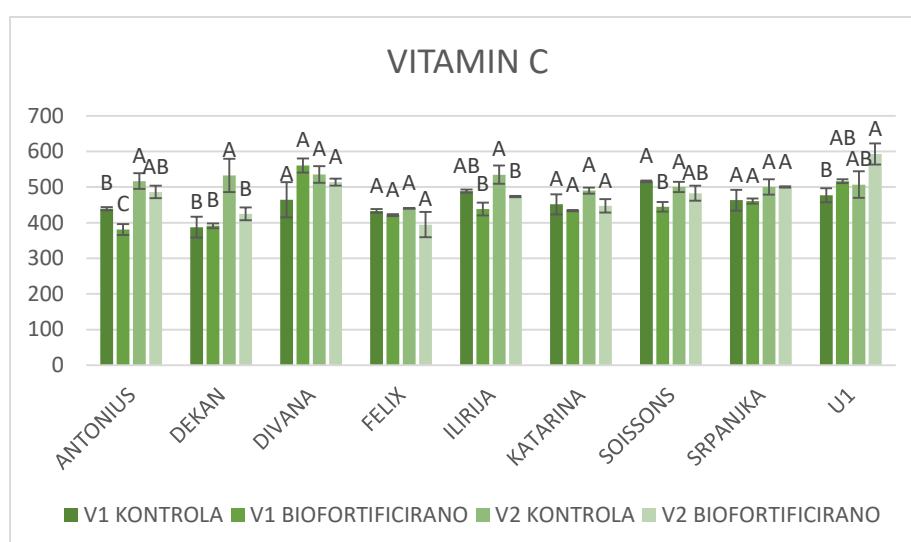
Grafikon III. Utjecaj biofortifikacije Se i Zn i količine pristupačne vode na antioksidativnu aktivnost u soku pšenične trave ispitivanih sorata



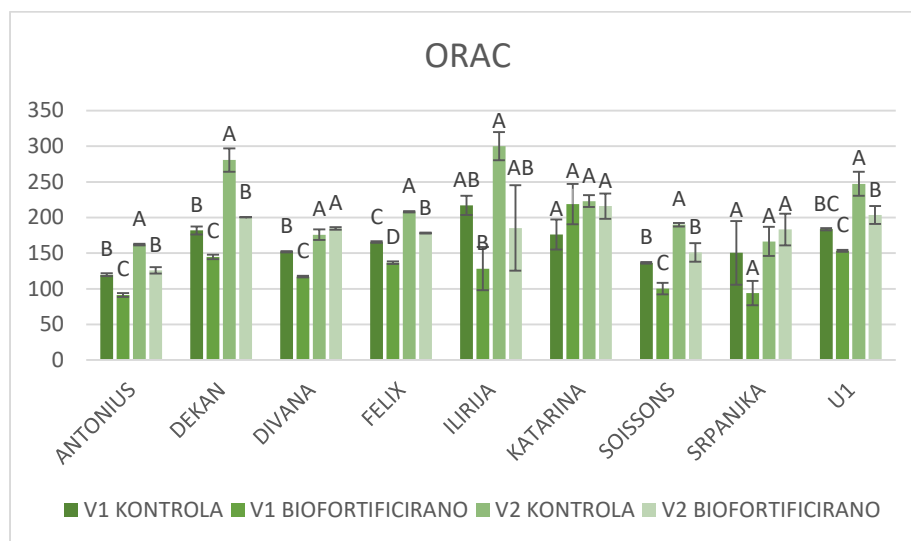
Grafikon IV. Utjecaj biofortifikacije Se i Zn i količine pristupačne vode na antioksidativnu aktivnost u soku pšenične trave za ispitivanih sorata



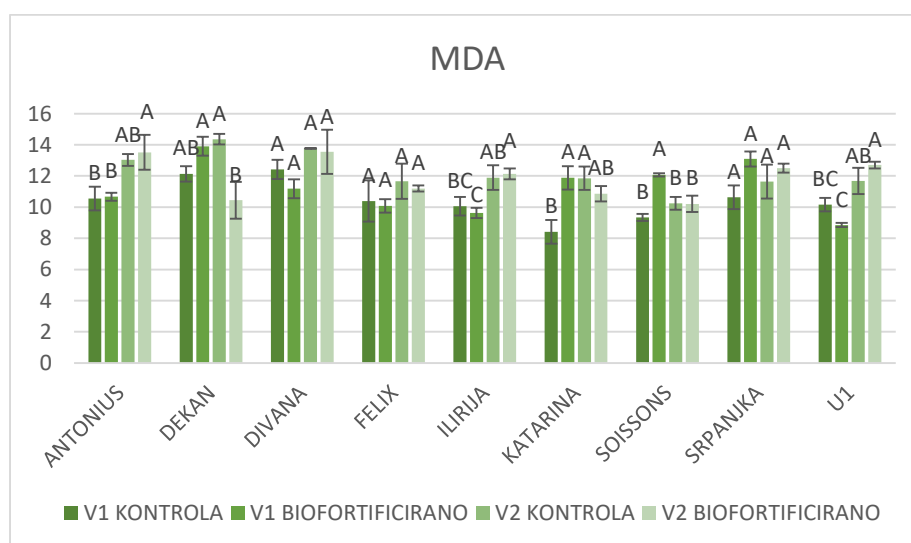
Grafikon V. Utjecaj biofortifikacije Se i Zn i količine pristupačne vode na kapacitet kelatiranja Fe iona u soku pšenične trave ispitivanih sorata



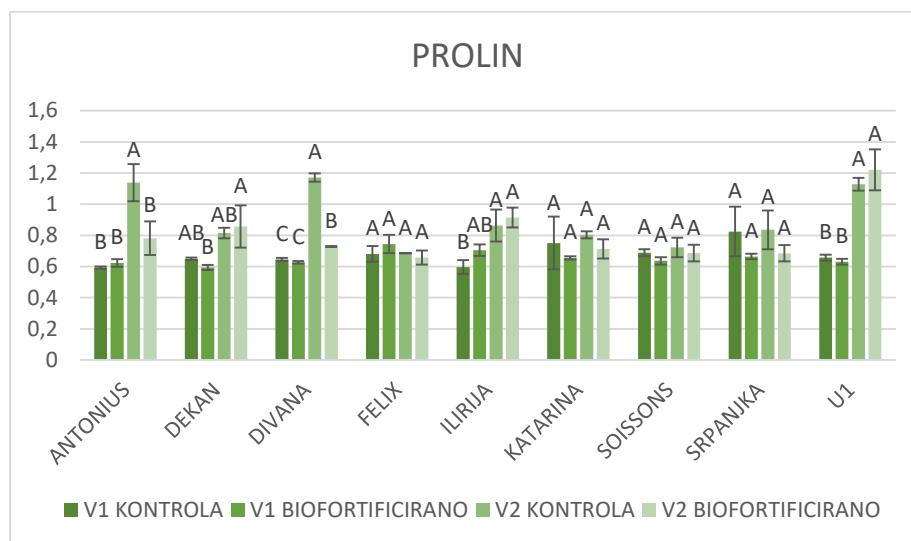
Grafikon VI. Utjecaj biofortifikacije Se i Zn i količine pristupačne vode na sadržaj vitamina C u soku pšenične trave ispitivanih sorata



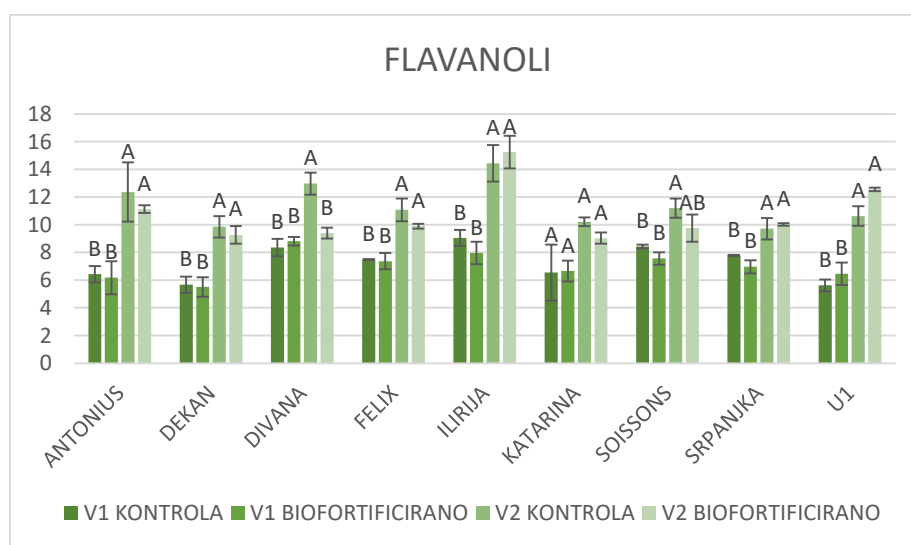
Grafikon VII. Utjecaj biofortifikacije Se i Zn i količine pristupačne vode na antioksidativnu aktivnost utvrđenu ORAC metodom u soku pšenične trave ispitivanih sorata



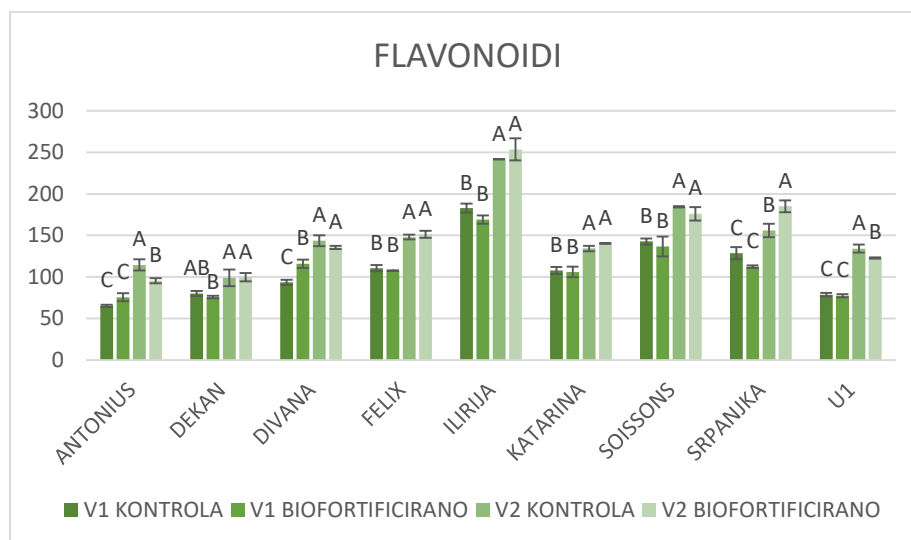
Grafikon VIII. Utjecaj biofortifikacije Se i Zn i količine pristupačne vode na sadržaj malondialdehida u soku pšenične trave ispitivanih sorata



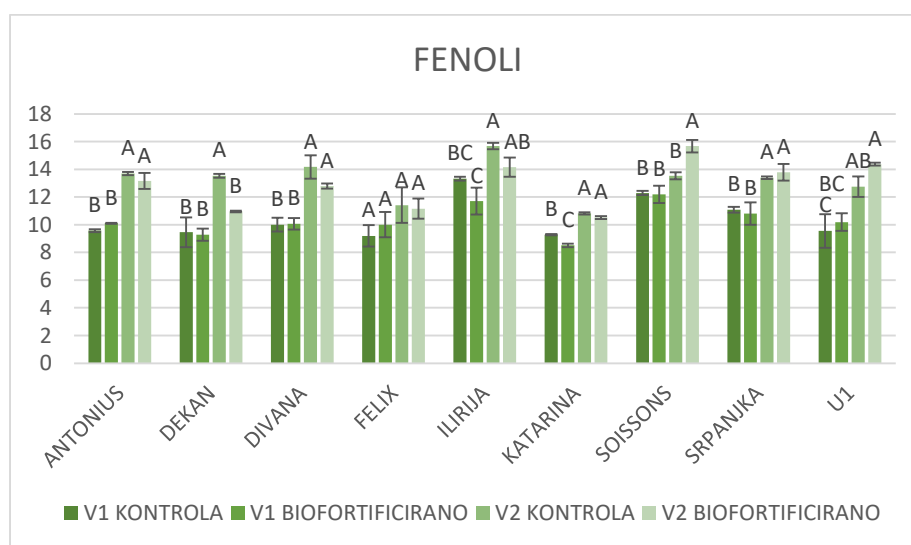
Grafikon IX. Utjecaj biofortifikacije Se i Zn i količine pristupačne vode na sadržaj prolina u soku pšenične trave ispitivanih sorata



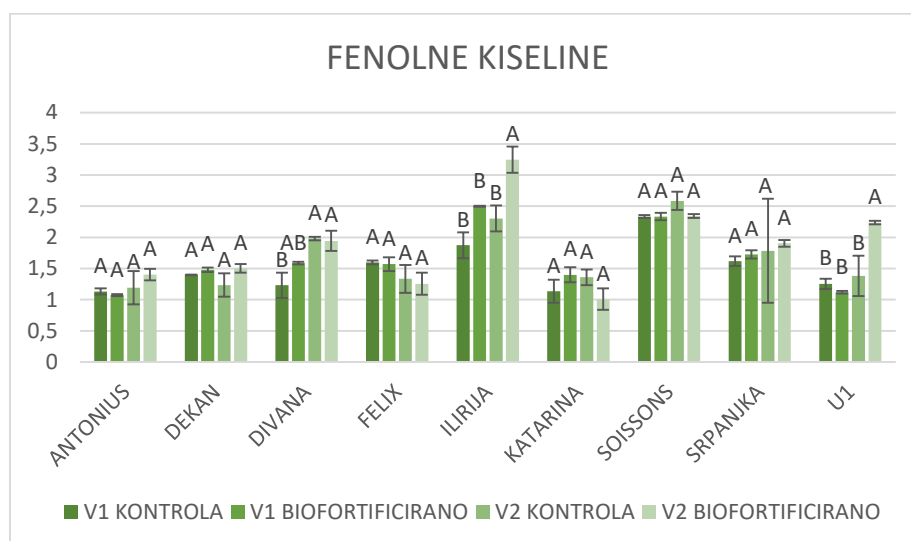
Grafikon X. Utjecaj biofortifikacije Se i Zn i količine pristupačne vode na sadržaj flavanola u soku pšenične trave ispitivanih sorata



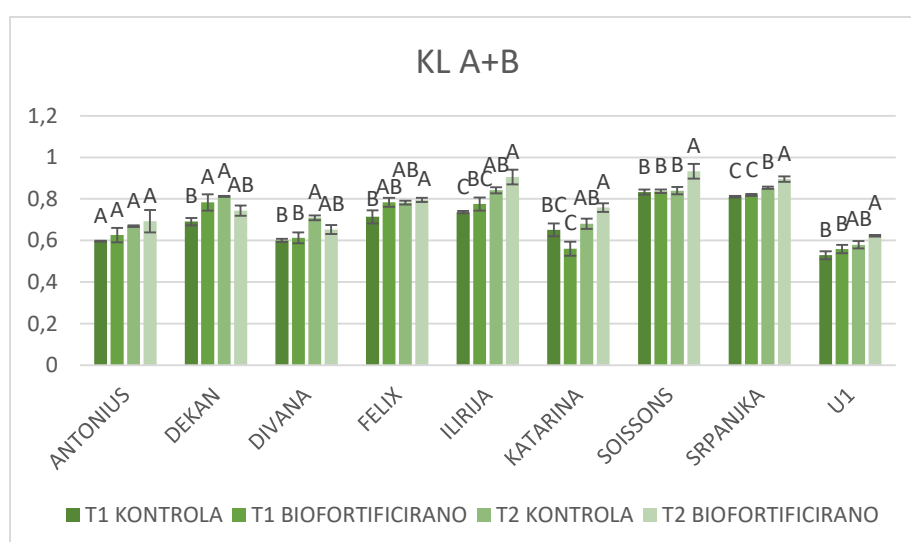
Grafikon XI. Utjecaj biofortifikacije Se i Zn i količine pristupačne vode na sadržaj flavonoida u soku pšenične trave ispitivanih sorata



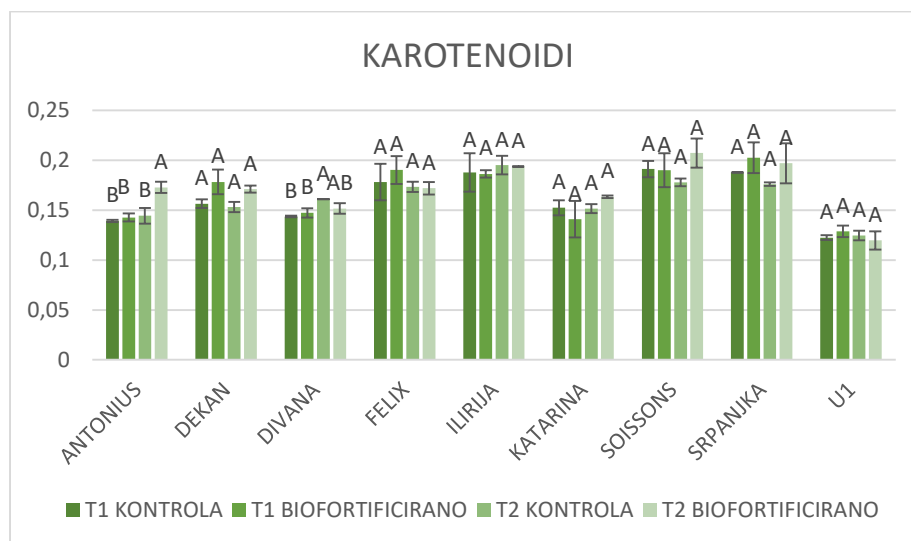
Grafikon XII. Utjecaj biofortifikacije Se i Zn i količine pristupačne vode na sadržaj fenola u soku pšenične trave ispitivanih sorata



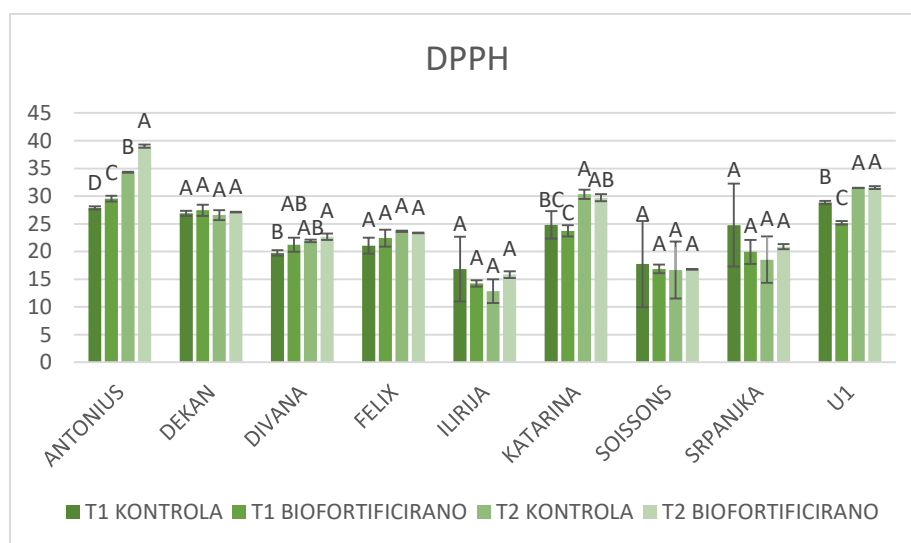
Grafikon XIII. Utjecaj biofortifikacije Se i Zn i količine pristupačne vode na sadržaj fenolnih kiselina u soku pšenične trave ispitivanih sorata



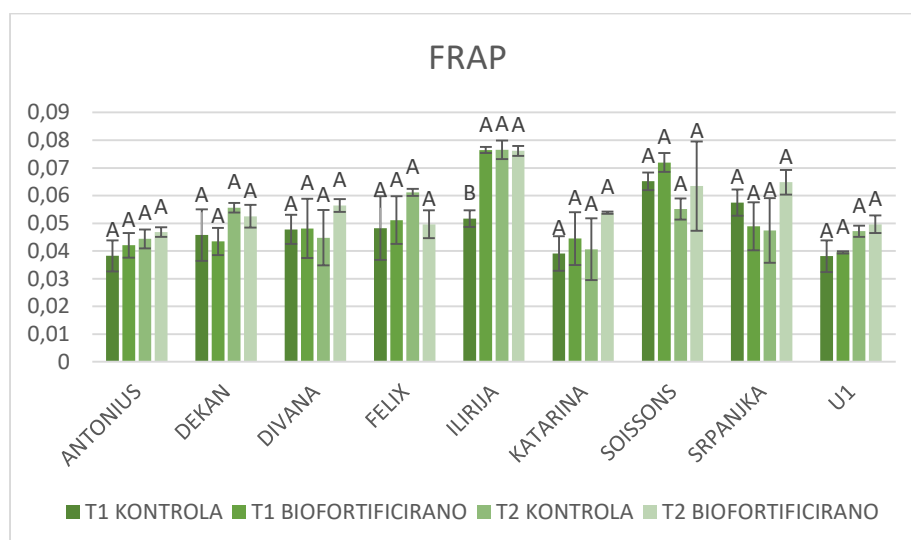
Grafikon XIV. Utjecaj biofortifikacije Se i Zn i temperaturnih uvjeta uzgoja na sadržaj ukupnih klorofila u soku pšenične trave ispitivanih sorata



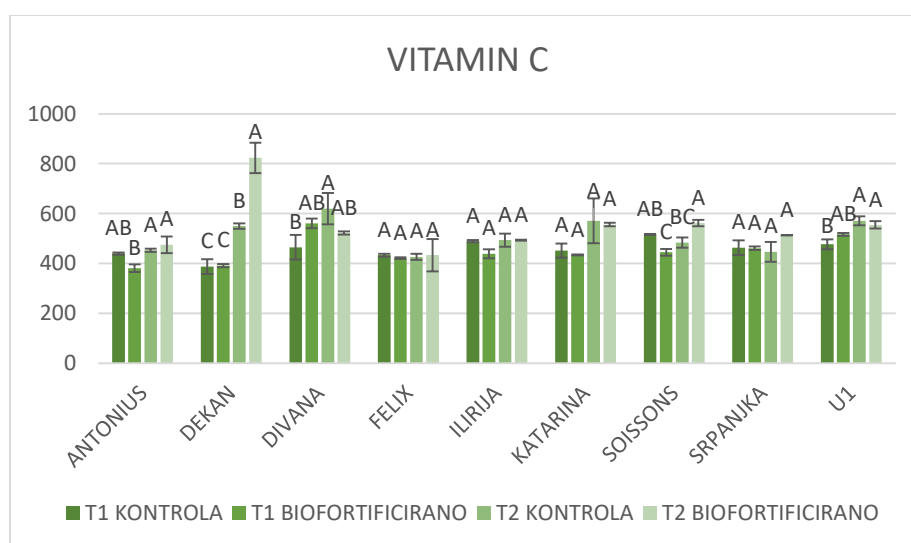
Grafikon XV. Utjecaj biofortifikacije Se i Zn i temperaturnih uvjeta uzgoja na sadržaj karotenoida u soku pšenične trave ispitivanih sorata



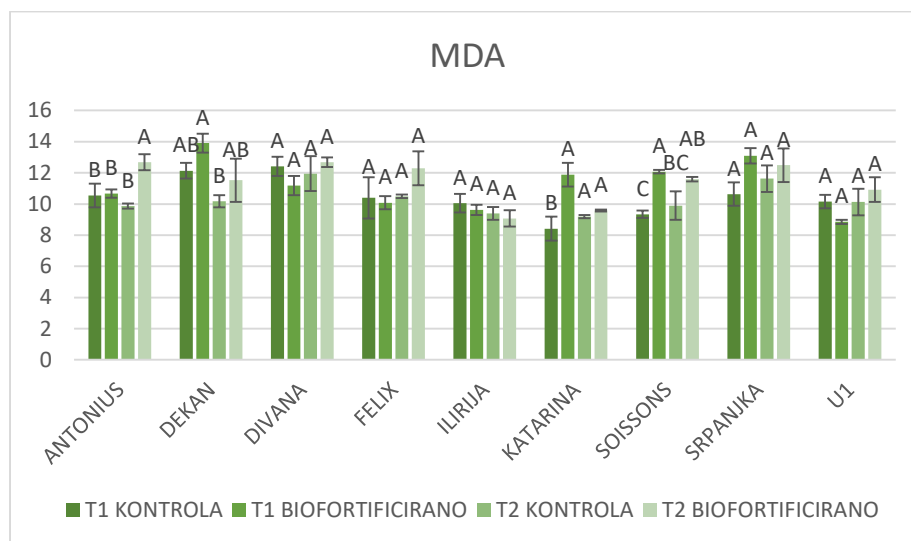
Grafikon XVI. Utjecaj biofortifikacije Se i Zn i temperaturnih uvjeta uzgoja na antioksidativnu aktivnost određenu DPPH metodom u soku pšenične trave ispitivanih sorata



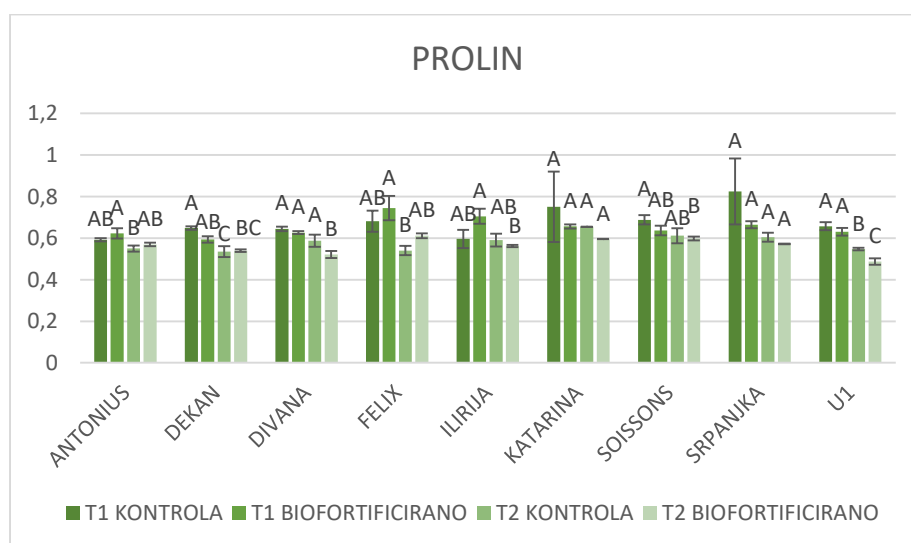
Grafikon XVII. Utjecaj biofortifikacije Se i Zn i temperaturnih uvjeta uzgoja na antioksidativnu aktivnost određenu FRAP metodom u soku pšenične trave ispitivanih sorata



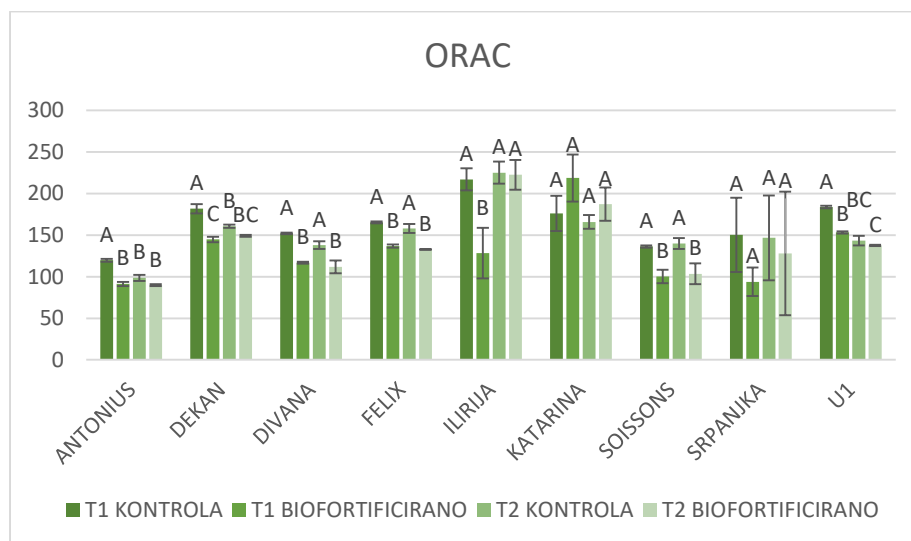
Grafikon XVIII. Utjecaj biofortifikacije Se i Zn i temperaturnih uvjeta uzgoja na sadržaj vitamina C u soku pšenične trave ispitivanih sorata



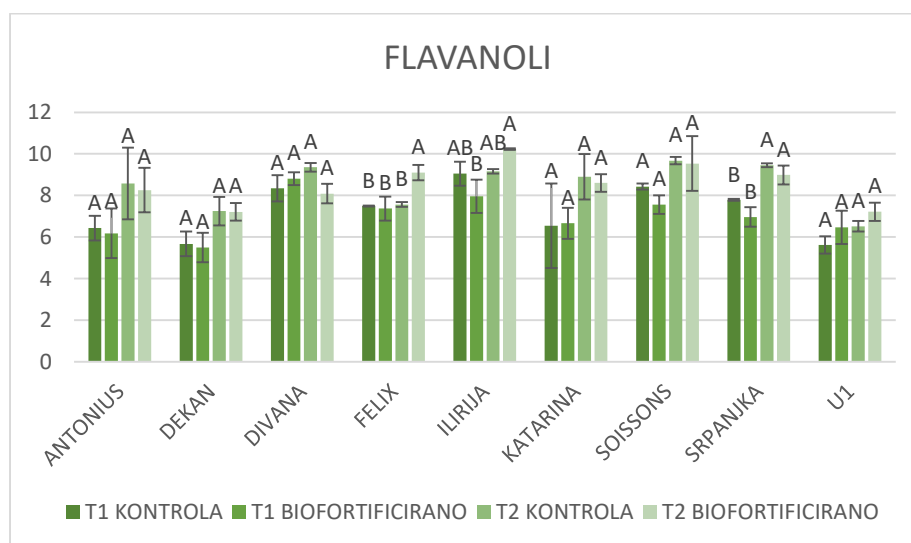
Grafikon XIX. Utjecaj biofortifikacije Se i Zn i temperaturnih uvjeta uzgoja na sadržaj MDA u soku pšenične trave ispitivanih sorata



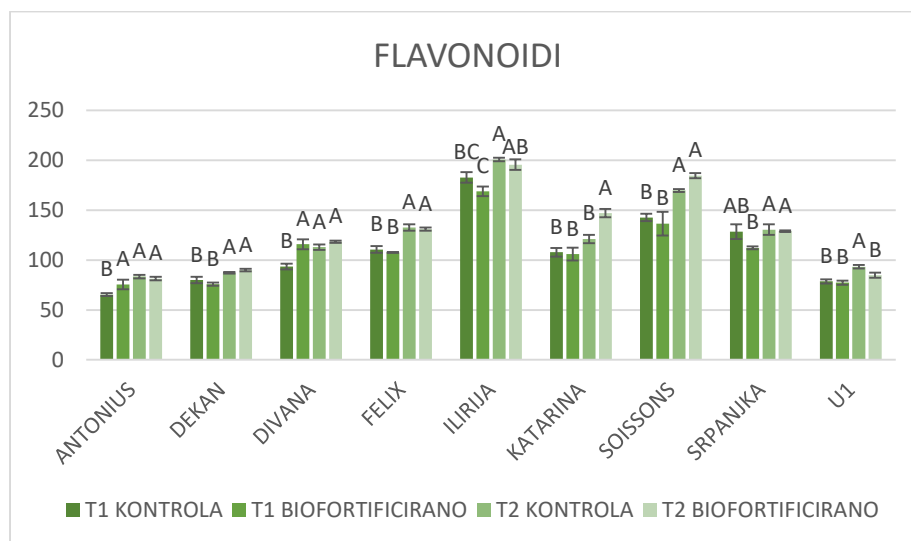
Grafikon XX. Utjecaj biofortifikacije Se i Zn i temperaturnih uvjeta uzgoja na sadržaj prolina u soku pšenične trave ispitivanih sorata



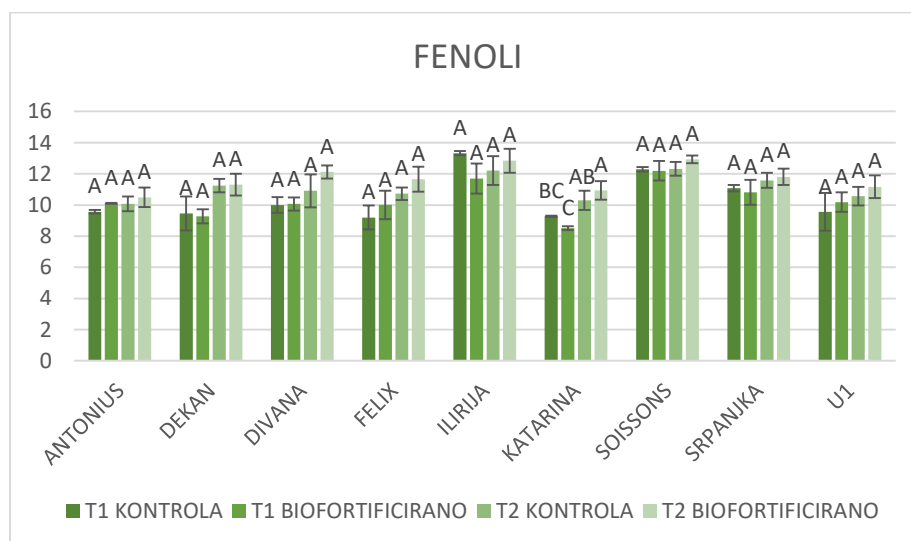
Grafikon XXI. Utjecaj biofortifikacije Se i Zn i temperaturnih uvjeta uzgoja na antioksidativnu aktivnost određenu ORAC metodom u soku pšenične trave ispitivanih sorata



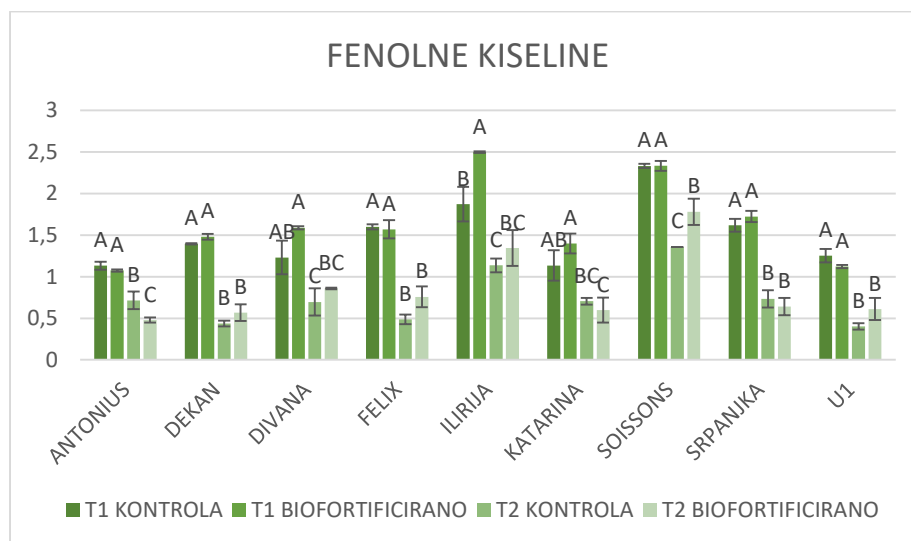
Grafikon XXII. Utjecaj biofortifikacije Se i Zn i temperaturnih uvjeta uzgoja na sadržaj flavanola u soku pšenične trave ispitivanih sorata



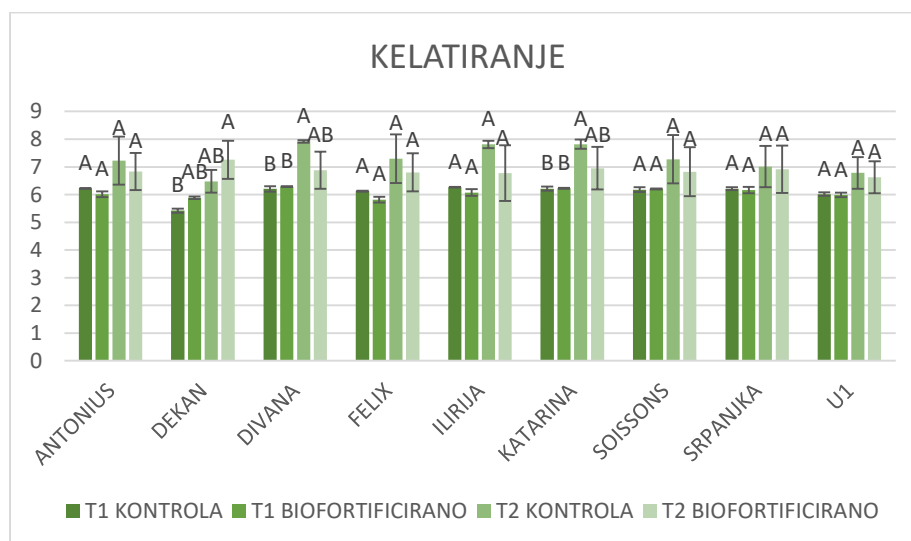
Grafikon XXIII. Utjecaj biofortifikacije Se i Zn i temperaturnih uvjeta uzgoja na sadržaj flavonoida u soku pšenične trave ispitivanih sorata



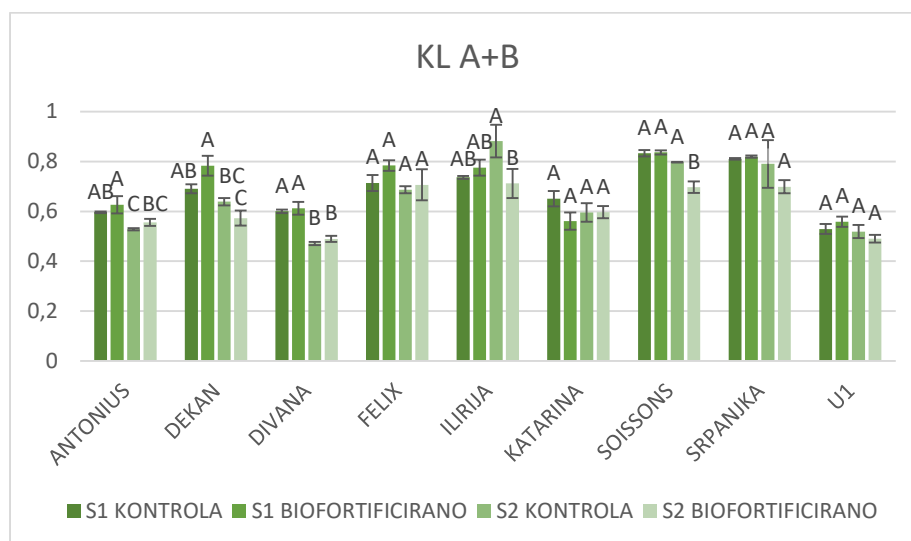
Grafikon XXIV. Utjecaj biofortifikacije Se i Zn i temperaturnih uvjeta uzgoja na sadržaj fenola u soku pšenične trave ispitivanih sorata



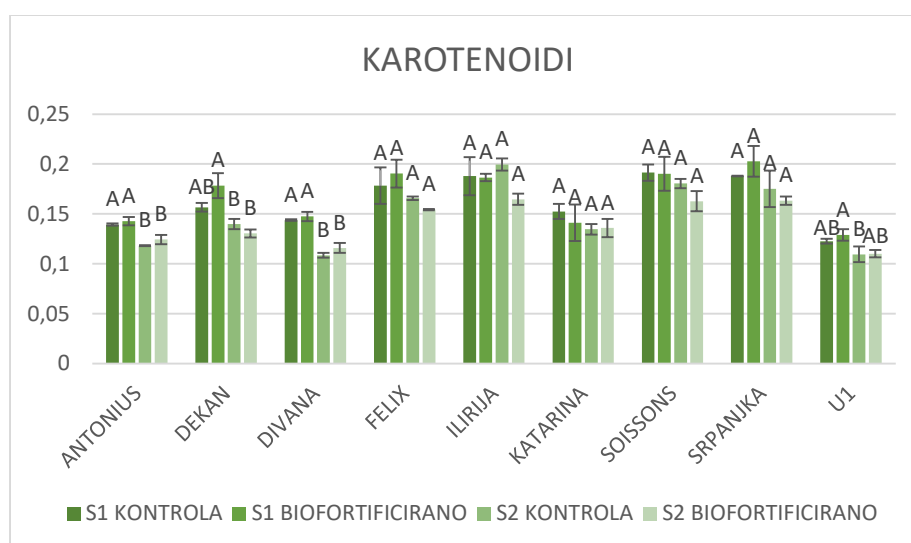
Grafikon XXV. Utjecaj biofortifikacije Se i Zn i temperaturnih uvjeta uzgoja na sadržaj fenolnih kiselina u soku pšenične trave ispitivanih sorata



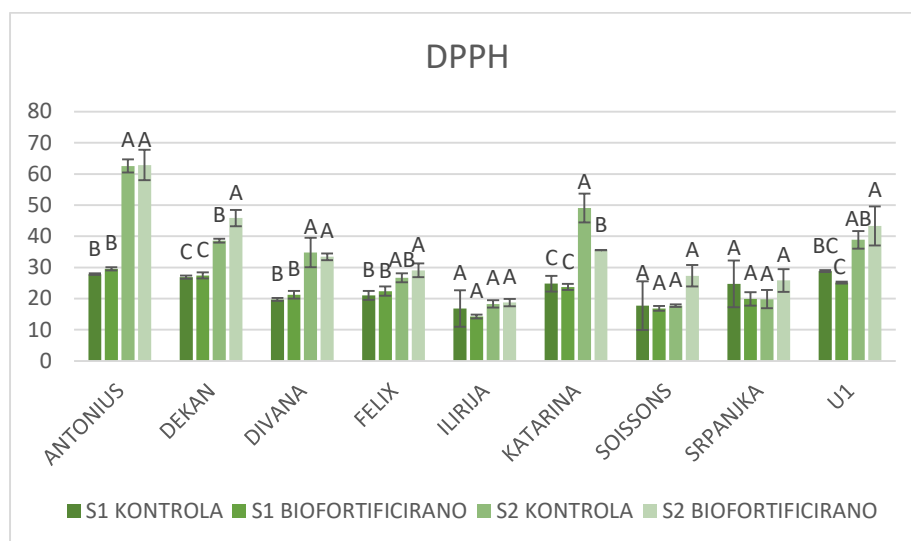
Grafikon XXVI. Utjecaj biofortifikacije Se i Zn i temperaturnih uvjeta uzgoja na kapacitet kelatiranja Fe iona u soku pšenične trave ispitivanih sorata



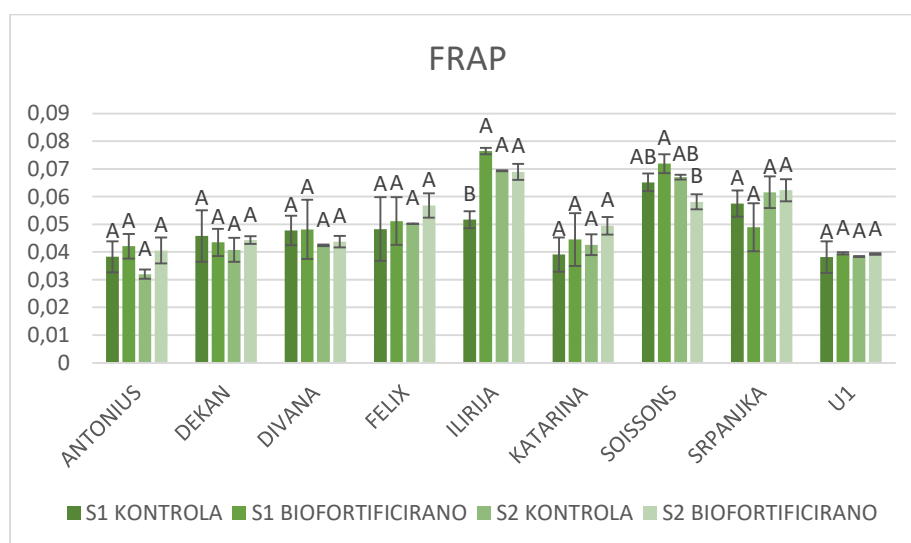
Grafikon XXVII. Utjecaj biofortifikacije Se i Zn i promijenjenih svjetlosnih uvjeta na sadržaj ukupnih klorofila u soku pšenične trave ispitivanih sorata



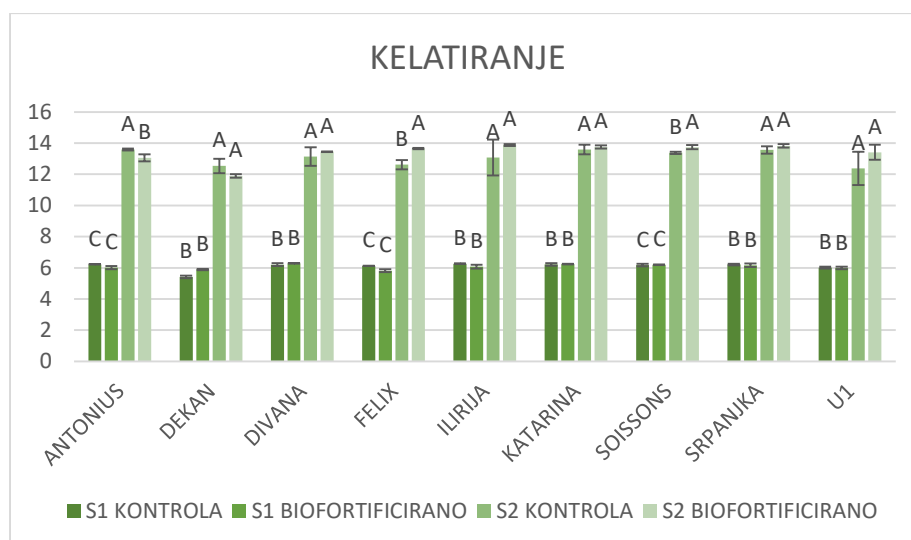
Grafikon XXVIII. Utjecaj biofortifikacije Se i Zn i promijenjenih svjetlosnih uvjeta na sadržaj karotenoida u soku pšenične trave ispitivanih sorata



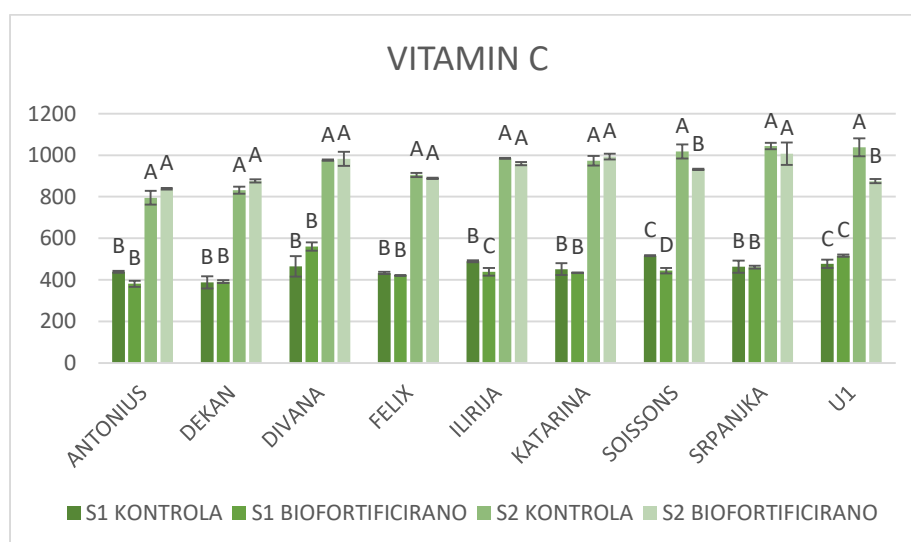
Grafikon XXIX. Utjecaj biofortifikacije Se i Zn i promijenjenih svjetlosnih uvjeta na antioksidativnu aktivnost određenu DPPH metodom u soku pšenične trave ispitivanih sorata



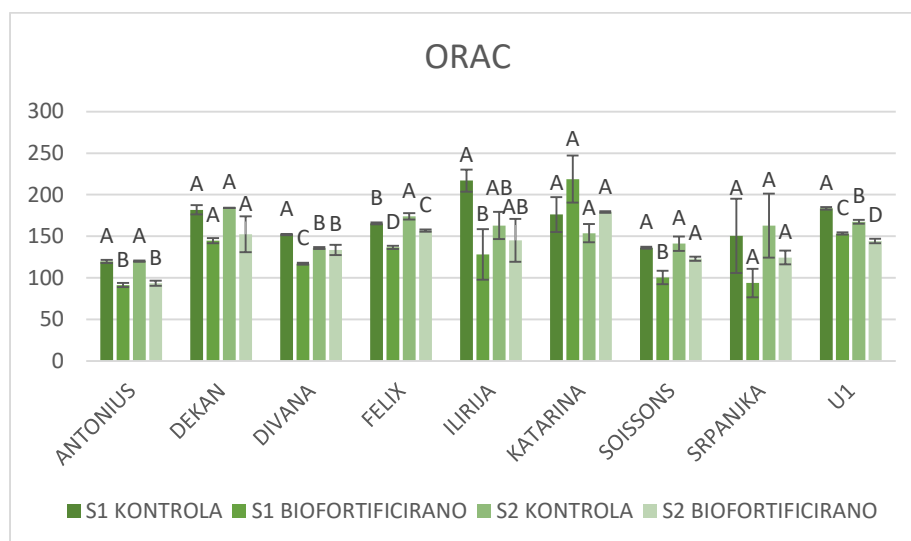
Grafikon XXX. Utjecaj biofortifikacije Se i Zn i promijenjenih svjetlosnih uvjeta na antioksidativnu aktivnost određenu FRAP metodom u soku pšenične trave ispitivanih sorata



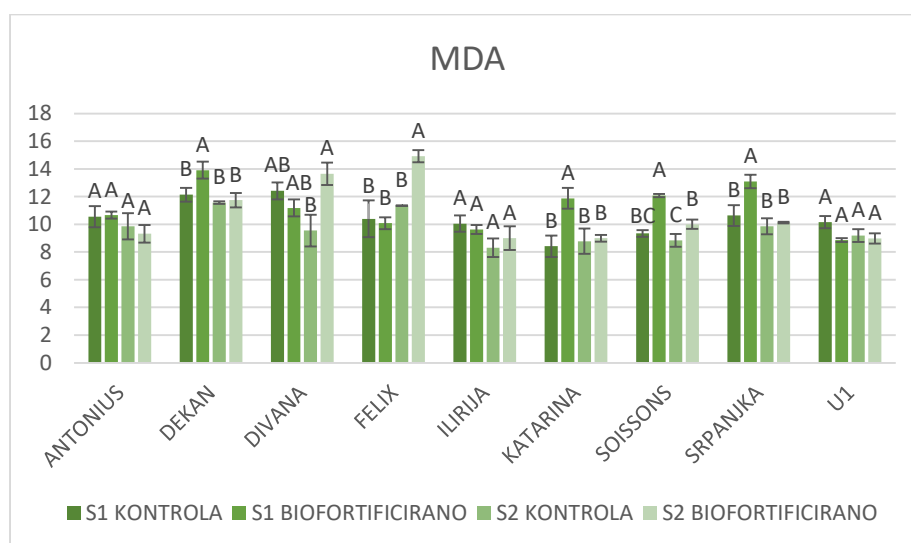
Grafikon XXXI. Utjecaj biofortifikacije Se i Zn i promijenjenih svjetlosnih uvjeta na kapacitet kelatiranja Fe iona u soku pšenične trave ispitivanih sorata



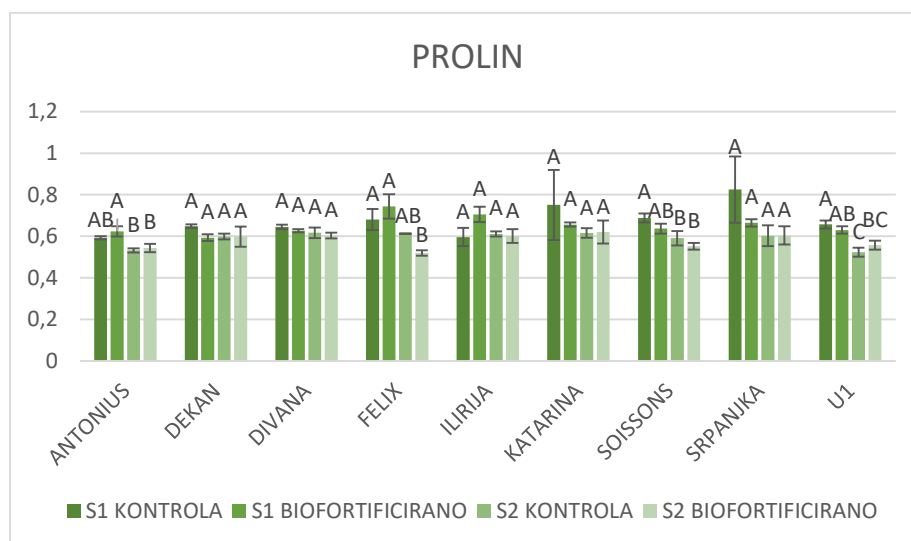
Grafikon XXXII. Utjecaj biofortifikacije Se i Zn i promijenjenih svjetlosnih uvjeta na sadržaj vitamina C u soku pšenične trave ispitivanih sorata



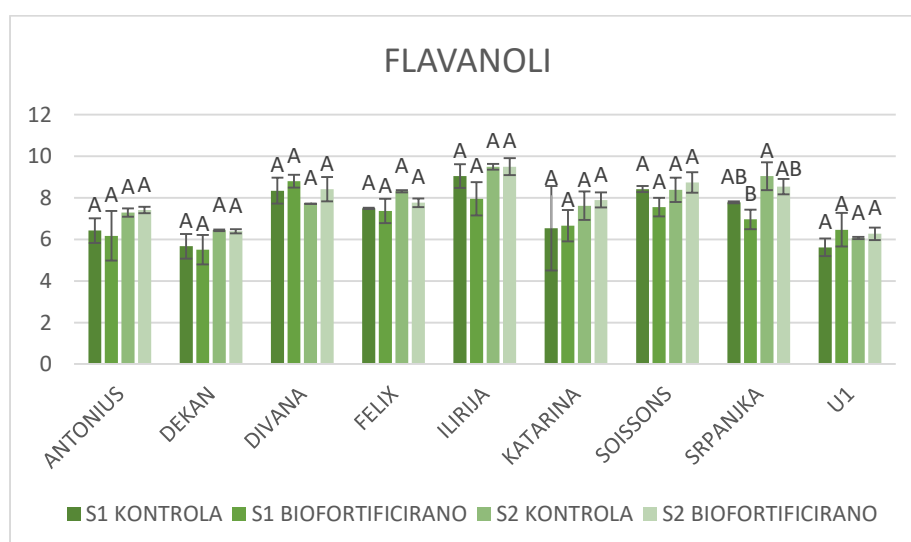
Grafikon XXXIII. Utjecaj biofortifikacije Se i Zn i promijenjenih vodnih uvjeta na antioksidativnu aktivnost utvrđenu ORAC metodom u soku pšenične trave ispitivanih sorata



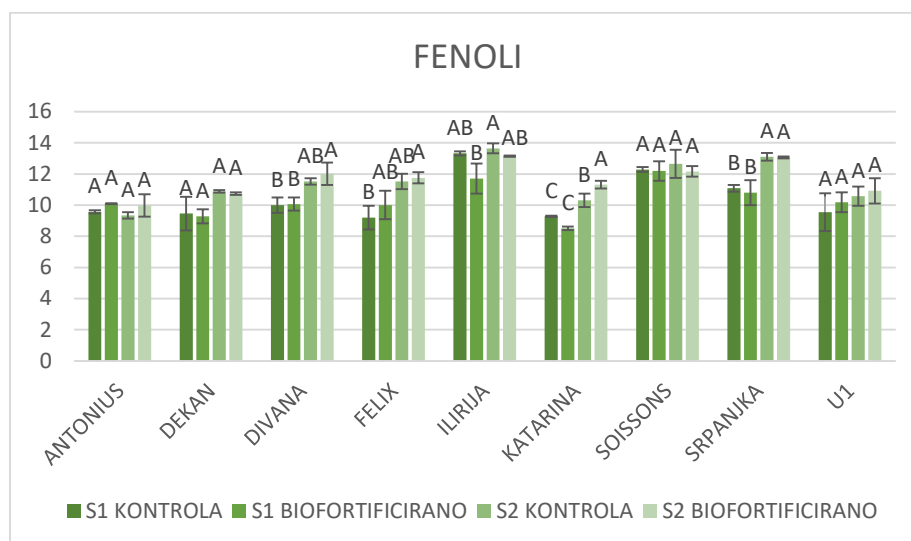
Grafikon XXXIV. Utjecaj biofortifikacije Se i Zn i promijenjenih vodnih uvjeta na sadržaj MDA u soku pšenične trave ispitivanih sorata



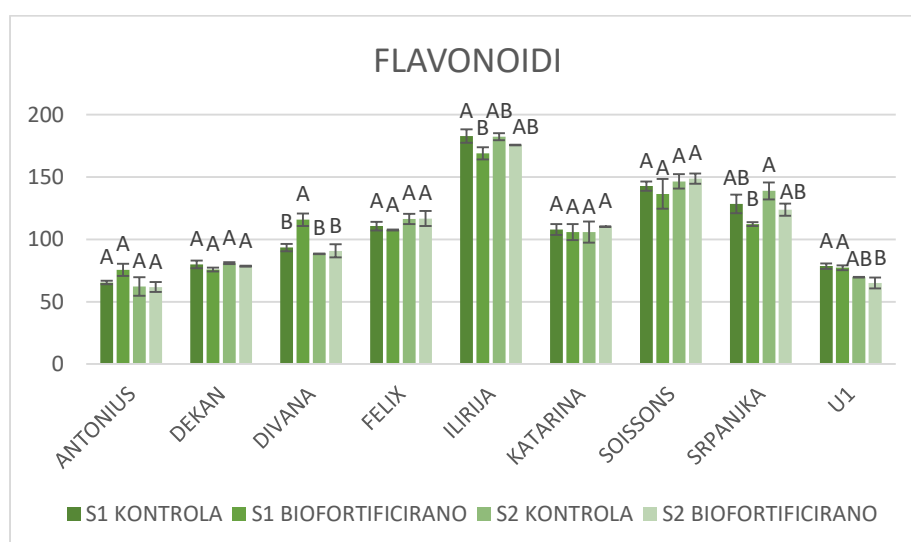
Grafikon XXXV. Utjecaj biofortifikacije Se i Zn i promijenjenih svjetlosnih uvjeta na sadržaj prolina u soku pšenične trave ispitivanih sorata



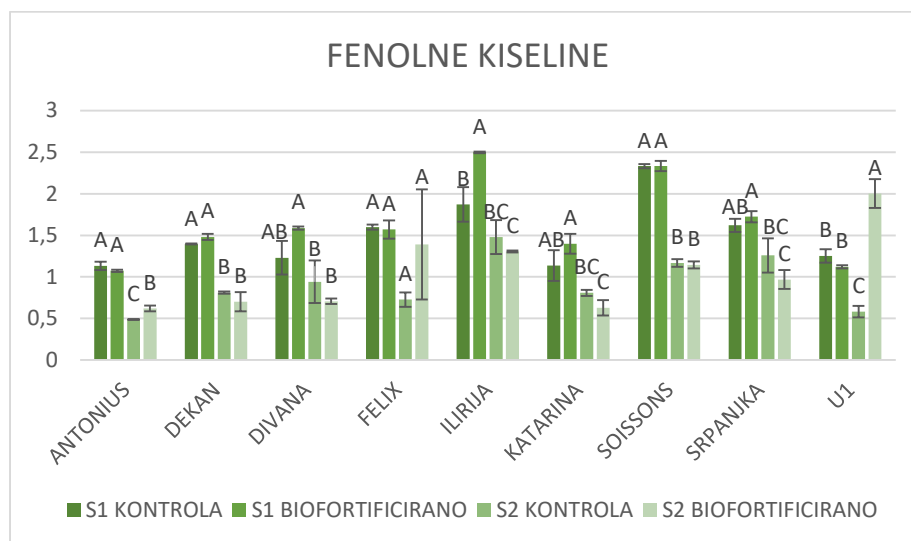
Grafikon XXXVI. Utjecaj biofortifikacije Se i Zn i promijenjenih svjetlosnih uvjeta na sadržaj flavanola u soku pšenične trave ispitivanih sorata



Grafikon XXXVII. Utjecaj biofortifikacije Se i Zn i promijenjenih svjetlosnih uvjeta na sadržaj fenola u soku pšenične trave ispitivanih sorata



Grafikon XXXVIII. Utjecaj biofortifikacije Se i Zn i promijenjenih svjetlosnih uvjeta na sadržaj flavonoida u soku pšenične trave ispitivanih sorata



Grafikon XXXIX. Utjecaj biofortifikacije Se i Zn i promijenjenih svjetlosnih uvjeta na sadržaj fenolnih kiselina u soku pšenične trave ispitivanih sorata

ŽIVOTOPIS

Marija Kristić je rođena 1. ožujka 1993. u Vinkovcima. Osnovnu školu je završila u Gradištu. 2007. godine upisuje Obrtničko-industrijsku školu u Županji, smjer Poljoprivredni tehničar - fitofarmaceut. 2011. godine sudjeluje na Državnom natjecanju učenika poljoprivrednih škola, u natjecateljskoj disciplini AGRO te osvaja 2. mjesto čime stječe izravan upis na Agronomski fakultet u Zagrebu. Iste godine upisuje Poljoprivredni fakultet u Osijeku, preddiplomski studij smjer Hortikultura, te 2014. godine uspješno obranivši završni rad, stječe titulu prvostupnika inženjera agronomije. Diplomski studij smjer Povrčarstvo i cvjećarstvo završava 2016. godine te stječe titulu magistar inženjer agronomije. Tijekom studiranja radila je na Zavodu za mikrobiologiju u proizvodnji nitrobakterina, na Poljoprivrednom institutu u Osijeku, Odjelu za oplemenjivanje i genetiku kukuruza, gdje je stekla vještine križanja i samooplodnje linija kukuruza u ručnoj izolaciji te u Agrigeneticu gdje je stekla znanja i vještine u emaskulaciji pšenice. 12.6.2017. potpisuje ugovor za stručno osposobljavanje za rad bez zasnivanja radnog odnosa s tvrtkom Ruris d.o.o., na radnom mjestu tehnologa u hidroponskom uzgoju rajčice. Za vrijeme rada u Rurisu na Fakultetu agrobiotehničkih znanosti održava predavanje u sklopu Znanstvenog foruma na temu „Fiziologija bilja u tehnologiji hidroponske proizvodnje rajčice (*Lycopersicon esculentum* Mill.)“. Od 5.7.2018. do 31.7.2018. radi na Poljoprivrednom institutu u Osijeku na Odjelu za oplemenjivanje i genetiku kukuruza. Od 24.10.2018. zaposlena je na radnom mjestu asistenta na projektu HRZZ-a „Genotipska specifičnost pšenične trave (*Triticum aestivum* L.) visokonutritivnog prirodnog dodatka prehrani“, voditeljica izv.prof.dr.sc Andrijana Rebekić. 20.12.2018. upisuje poslijediplomski sveučilišni studij Poljoprivredne znanosti, smjer Agrokemija na Agrobiotehničkom fakultetu u Osijeku. U sklopu ERASMUS+ mobilnosti boravila na „Universität für Bodenkultur (BOKU)“ u Beču. U sklopu stipendije PROM (međunarodne stipendije za doktorande) boravila je na Sveučilištu u Rzeszow (Poljska). Sudjelovala je na četrnaest međunarodnih skupova te je održala četiri usmena predavanja i jedanaest postera. Do sada je u (ko)autorstvu objavila četiri A1 rad i tri A3 rada.