



Univerzitet u Novom Sadu



Tehnološki fakultet Novi Sad

Naji Elhadi Elsadeg Aborus



**FITOHEMIJSKE I FUNKCIONALNE
KARAKTERISTIKE PRAŠKASTIH FORMI
KLIJANACA PŠENICE, OVSA I JEČMA**

Doktorska disertacija

U Novom Sadu, 2017.

ZAHVALNOST

Veoma sam zahvalan Bogu, koji me je blagoslovio zdravljem, ljubavlju porodice, odanošću prijatelja i mogućnostima da započnem i završim svoj doktorat na Univerzitetu u Novom Sadu. Želeo bih da izrazim svoju iskrenu zahvalnost prema svom mentoru, Prof. dr Jasni Čanadanović-Brunet, koja mi je dala priliku da steknem znanje pod njenim vođstvom, a naročito za njenu podršku u izradi doktorske disertacije i mogućnostima da dostignem ovaj cilj u mojoj karijeri. Veoma sam zahvalan dr Vesni Tumbas Šaponjac i dr Jeleni Vučić za njihovu veliku zainteresovanost u mojoj karijeri i brigu o meni, od prvog dana rada na mojoj disertaciji.

Želeo bih da izrazim posebnu zahvalnost svojim roditeljima, braći i sestrama za podršku i pruženu moralnu snagu tokom mog života. Zaista duboko verujem da sam dostigao ovu fazu u svom životu samo zbog njihove pomoći, ljubavi i podrške. Moja posebna zahvalnost, od srca, ide mojoj ženi, Samya. Ona je iskreno i predano posvetila svoju energiju da bi mi omogućila da radim rasterećeno kroz dane i noći tokom četiri godine.

POSVETA

Ova disertacija je posvećena mom ocu, koji me je naučio da je najkvalitetnije znanje ono koje stičemo zbog sebe. Takođe je posvećena mojoj majci, koja me je naučila da čak i najveći zadatak može da se ostvari, ako se radi korak po korak. Posvećujem svoju disertaciju i supruzi, Samya, kao i mojoj divnoj deci, Abdelhadi, Maiar i Illyas. Dajem svoju najdublju zahvalnosti za podršku koju ste mi pružili i volju koju ste uložili tokom mog doktorskog programa. Mojoj braći i sestrama hvala na podršci. Posvećujem ovu disertaciju svima onima koji me znaju.

Naji Aborus

**UNIVERZITET U NOVOM SADU
TEHNOLOŠKI FAKULTET NOVI SAD**

Ključna dokumentacijska informacija

Redni broj:
RBR

Identifikacioni broj:
IBR

Tip dokumentacije: Monografska dokumentacija
TD

Tip zapisa: Tekstualni štampani materijal
TZ

Vrsta rada (dipl., mag., dokt.): Doktorska disertacija
VR

Ime i prezime autora: Naji Elhadi Elsadeg Aborus
AU

Mentor (titula, ime, prezime, zvanje): Prof. dr Jasna Čanadanović-Brunet
MN

Naslov rada: Fitohemijske i funkcionalne karakteristike praškastih
NR formi klijanaca pšenice, ovsa i ječma

Jezik publikacije: Srpski (latinica)
JP

Jezik izvoda: srpski /engleski
JI

Zemlja publikovanja: Republika Srbija
ZP

Uže geografsko područje: AP Vojvodina
UGP

Godina: 2017.
GO

Izdavač: Autorski reprint
IZ

Mesto i adresa: MA	Republika Srbija, 21000 Novi Sad, Bulevar Cara Lazara 1
Fizički opis rada: FO	6 broj poglavlja/ 127 stranica/ 30 slika/ 21 tabela/ 259 referenci
Naučna oblast: NO	Biotehnologija
Naučna disciplina: ND	Hemija hrane
Predmetna odrednica, ključne reči: PO	Klijanci žitarica, fitohemikalije, slobodni radikali, antioksidativni kapacitet, antihiperglikemijska aktivnost, antiinflamatorna aktivnost, gastro-intestinalna digestija
UDK	633.1:541.515:547.56
Čuva se: ČU	Biblioteka Tehnološkog fakulteta u Novom Sadu, 21000 Novi Sad, Bulevar Cara Lazara 1
Važna napomena: VN	Nema

Izvod:
IZ

U radu su ispitani fitohemijski profil, antioksidativna i *in vitro* biološka aktivnost ekstrakata klijanaca šest sorti žitarica: pšenica Spelt, Simonida, (WSSPE, WSSIM) ječam, hibrid "NS565" (*Hordeum vulgare L. ssp distichum.*) (BSNS) i ne-hibridni "Golozrni" (*Hordeum vulgare var nudum.*) (BSG) i ovas Golozrni, Jadar (OSG, OSJ). U cilju poređenja šest istraživanih vrsta klijanaca ispitivanja su obuhvatila određivanje TPC, TFC, TChl, Chla, Chlb i TCX vrednosti i testiranje njihove biološke aktivnosti (antioksidativnog kapaciteta, redukcione sposobnosti, antiinflamatorne i antihiperglikemijske aktivnosti), kao i sposobnost oslobađanja fenolnih jedinjenja iz FDS tokom *in vitro* gastrointestinalnog varenja.

Spektrofotometrijskim metodama utvrđeno je da su fenolna jedinjenja najdominantnije fitohemikalije u svim ispitivanim klijancima žitarica. U uzorku BSNS utvrđen je najveći sadržaj ($p \leq 0,05$) ukupnih fenolnih jedinjenja, hlorofila i karotenoida, a najveći sadržaj ukupnih flavonoida imali su BSNS i BSG. Najniži TFC je registrovan u uzorku OSJ ($p \leq 0,05$). Antioksidativna aktivnost uzoraka FDS ispitana je primenom DPPH, ABTS testa i određivanjem redukcione sposobnosti (RP). Uzorak BSNS pokazao je najveći antioksidantni kapacitet u DPPH i ABTS testu, kao i najveću redukcionu sposobnost ($IC_{50}^{DPPH} = 0,54$ mg/ml; $IC_{50}^{ABTS} = 0,79$ mg/ml; $IC_{0,5}^{RP} = 9.35$ mg / ml). U svim uzorcima FDS sprovedena su *in vitro* određivanja: antihiperglikemijske aktivnosti

dobijenih klijanaca (definisane potencijala inhibicije enzima α -glukozidaze); antiinflamatorne aktivnosti klijanaca i gastro-intestinalne digestije klijanaca pšenice, ovsu i ječma. OSG je pokazao značajno veći AHgA ($p \leq 0,05$) u odnosu na druge FDS uzorke, zatim slede BSNS, OSJ i BSG. Svi uzorci FDS su ispoljili koncentracijski zavisnu inhibiciju denaturacije proteina (albumina) u celom opsegu ispitivanih koncentracija koncentracija, ali je ona manja od dejstva natrijumdiklofenaka ($IC_{50}^{AlA}=0.79$ mg/ml). Simulacija digestije u crevnim tečnostima (SIF) izazvalo je veće oslobađanje polifenola iz uzoraka FDS od želudačnog varenja, što ukazuje na dobru stabilnost uzoraka u crevnoj tečnosti. Može se zaključiti da antioksidativni kapacitet i redukciona sposobnost raste sa povećanjem koncentracije polifenola u FDS, a zavisi i od strukturnih karakteristika. Utvrđena je vrlo dobra pozitivna korelacija između TPC i antioksidativne aktivnosti i redukcionne sposobnosti, kao i između TFC i antiinflamatorne aktivnosti.

Datum prihvatanja teme od strane Senata:
DP

12.05.2016.

Datum odbrane:
DO

Članovi komisije:
(ime i prezime / titula / zvanje / naziv organizacije / status)
KO

predsednik: dr Vesna Tumbas Šaponjac, docent, Tehnološki fakultet Novi Sad, Univerzitet u Novom Sadu

član: dr Jasna Čanadanović-Brunet, redovni profesor Tehnološki fakultet Novi Sad, Univerzitet u Novom Sadu

član: dr Boris Popović, vanredni profesor, Poljoprivedni fakultet Novi Sad, Univerzitet u Novom Sadu

**UNIVERSITY OF NOVI SAD
FACULTY OF TECHNOLOGY NOVI SAD**

Key words documentation

**Accession
number: ANO**

**Identification
number: INO**

**Document type:
DT** Monograph documentation

**Type of record:
TR** Textual printed material

**Contents code:
CC** PhD Thesis

**Author:
AU** Naji Elhadi Elsadeg Aborus

**Mentor:
MN** Prof. dr Jasna Čanadanović-Brunet

**Title:
TI** Phytochemical and functional properties of wheat, oats and
barley powdered sprouts

**Language of text:
LT** Serbian (latin)

**Language of
abstract:
LA** Serbian/English

**Country of
publication:
CP** Republic of Serbia

**Locality of
publication:
LP** AP Vojvodina

**Publication year:
PY** 2017

**Publisher:
PU** Author's reprint

Publication place: PP	Serbia, 21000 Novi sad, Bulevar cara Lazara 1
Physical description: PD	6 Chapters, 127 Pages, 30 Figures, 21 Tables, 259 References
Scientific field SF	Biotechnology
Scientific discipline SD	Food chemistry
Subject, Key words SKW	Cereal sprouts, phytochemicals, free radicals, antioxidant capacity, antiinflammatory activity, antihyperglycemic activity, gastrointestinal digestion.
UC	633.1:541.515:547.56
Holding data: HD	Library (Faculty of Technology), 21000 Novi Sad, Bulevar cara Lazara 1
Note:	None
Abstract: AB	<p>This study was performed to evaluate the phytochemical composition, and <i>in vitro</i> antioksidativnidant capacity, reducing power, antihyperglycemic, antiinflammatory activities, and simulated gastrointestinal digestion of seven-day old cereal sprouts (CS): Cultivars, barley NS565 (BSNS), barley Golozrni (BSG), wheat Spelta (WSSPE), wheat Simonida (WSSIM), oat Golozrni (OSG) and oat Jadar (OSJ). Phenolic compounds were the most dominant bioactives in all CS. BSNS expressed significantly higher ($p \leq 0.05$) content of total phenols, chlorophyll and carotenoids. The total flavonoids content (TFC) in CS showed that the BSNS and BSG had the higher value respectively. The lowest TFC was registered in OSJ ($P \leq 0.05$). The FDS extracts were screened for possible antioxidant capacities using DPPH, ABTS, and reducing power (Rp) assays. The results indicated that the BSNS possessed higher antioxidant capacities in DPPH and ABTS assays, and reducing power ($IC_{50}^{DPPH} = 0.54$ mg/ml; $IC_{50}^{ABTS} = 0.79$ mg/ml; $IC_{0.5}^{RP} = 9.35$ mg/ml) respectively. The inhibitory effect of FDS extracts on α-glucosidase activity was investigated. The BSNS extracts exhibited higher inhibitory activity ($IC_{50}^{AHgA} = 1.43$ mg/ml) against α-glucosidase ($p \leq 0.05$). The antiinflammatory activity (Denaturation of protein <i>in vitro</i>) showed significantly different between the CS, and Diclofenac sodium (DS). The IC_{50}^{AIA} of DS and BSNS was 0.79 and 1.86 (mg/ml) respectively. The <i>in vitro</i> simulation of gastro-intestinal (GI) di-</p>

gestion showed TPC was a higher release ($p \leq 0.05$) of phenolic compounds in intestinal fluid than in gastric fluid in all FDS. There was a strong positive correlation between TPC and antioxidant activities and reducing power, and also between TFC and antiinflammatory activity.

**Accepted on
Senate on:
AS**

May 12th, 2016.

**Defended:
DE**

**Thesis Defend
Board:
DB**

president: Dr Vesna Tumbas Šaponjac, docent, Faculty of Technology Novi Sad, University of Novi Sad

member: Dr Jasna Čanadanović-Brunet, Professor, Faculty of Technology Novi Sad, University of Novi Sad

member: Dr Boris Popović, Faculty of Agriculture Novi Sad, University of Novi Sad

SADRŽAJ

1.0. UVOD	1
2.0. OPŠTI DEO	4
2.1. FUNKCIONALNA HRANA, RAZVOJ I ULOGA	4
2.1.1. RAZVOJ KONCEPTA FUNKCIONALNE HRANE.....	5
2.1.2. DEFINICIJA FUNKCIONALNE HRANE.....	7
2.1.3. BIOAKTIVNE KOMPONENTE FUNKCIONALNE HRANE	8
2.1.4. ZDRAVSTVENA KORIST FUNKCIONALNE HARNE	12
2.1.5. FUNKCIONALNA HRANA OD ŽITARICA	13
2.2. ANTIOKSIDANSI	14
2.2.1. ANTIOKSIDATIVNI ODBRAMBENI SISTEM.....	15
2.2.2. ENZIMSKI ANTIOKSIDANSI	17
2.2.3. NE-ENZIMSKI ANTIOKSIDANTI	18
2.2.4. PRIRODNI ANTIOKSIDANTI	18
2.2.4.1. Fenolna jedinjenja.....	22
2.2.4.2. Karotenoidi	24
2.2.4.3. Vitamin C (askorbinska kiselina)	25
2.2.4.4. Tokoferoli i Tokotrienoli	26
2.2.5. ANTIOKSIDANTI KAO ADITIVI U HRANI.....	28
2.3. ŽITARICE	29
2.3.1. PŠENICA	36
2.3.1.1. Opis i struktura zrna pšenice	38
2.3.1.2. Nutritivna vrednost pšenice	40
2.3.1.3. Antioksidativni profil pšenice	41
2.3.2. JEČAM	42
2.3.2.1. Opis i struktura kultivisanog zrna ječma	44
2.3.2.2. Nutritivna vrednost ječma	46
2.3.2.3. Antioksidativni profil ječma.....	47

2.3.3. OVAS.....	48
2.3.3.1. Opis i struktura zrna ovsa	48
2.3.3.2. Nutritivna vrednost ovsa.....	50
2.3.3.3. Antioksidativni profil ovsa	52
2.4. KLIJANCI OVSA, JEČMA I PŠENICE KAO KOMPONENTE	
FUNKCIONALNE HRANE.....	53
2.4.1. PŠENIČNI KLIJANCI.....	53
2.4.2. JEČMENI KLIJANCI.....	54
2.4.3. OVSENI KLIJANCI.....	56
3.0. MATERIJAL I METODE	57
3.1. HEMIKALIJE	57
3.2. BILJNI MATERIJAL I USLOVI KLIJANJA	58
3.3. EKSTRAKCIJA LIOFILIZIRANIH KLIJANACA	61
3.4. ANALITIČKE PROCEDURE	61
3.4.1. ODREĐIVANJE FITOHEMIJSKOG SADRŽAJA U KLIJANCIMA	61
3.4.1.1. Ukupan sadržaj fenolnih jedinjenja (TPC).....	61
3.4.1.2. Ukupan sadržaj flavonoida (TFC).....	62
3.4.1.3. Određivanje sadržaja polifenolnih jedinjenja HPLC metodom	62
3.4.1.4. Sadržaj ukupnog hlorofila (TChl), hlorofila a (Chl a) i	
hlorofila b (Chl b).....	63
3.4.1.5. Ukupan sadržaj karotenoida (TCX).....	64
3.5. ODREĐIVANJE BIOLOŠKE AKTIVNOSTI KLIJANACA	64
3.5.1. ANTIOKSIDATIVNI KAPACITET - DPPH TEST (AC _{DPPH}).....	64
3.5.2. ANTIOKSIDATIVNI KAPACITET - ABTS TEST (AC _{ABTS}).....	65
3.5.3. ODREĐIVANJE REDUKCIONE SPOSOBNOSTI (Rp)	66
3.5.4. POTENCIJAL INHIBICIJE ENZIMA α -GLUKOZIDAZE (AHgA)	67
3.5.5. ODREĐIVANJE ANTIINFLAMATORNE AKTIVNOSTI (AIA)	
TESTOM DENATURACIJE PROTEINA	68
3.6. IN VITRO SIMULACIJA DIGESTIJE U ŽELUDAČNOJ I	
INTESTINALNOJ TEČNOSTI	69
3.7. STATISTIČKA ANALIZA	70

4.0. REZULTATI I DISKUSIJA	71
4.1. FITOHEMIJSKA ANALIZA	71
4.1.1. UKUPNI SADRŽAJ FENOLNIH JEDINJENJA (TPC)	71
4.1.2. UKUPAN SADRŽAJ FLAVONOIDA (TFC)	73
4.1.3. HPLC ANALIZA FENOLNIH JEDINJENJA	74
4.1.4. SADRŽAJ UKUPNOG HLOROFILA (TChl), HLOROFILA a (Chl a) i HLOROFILA b (Chl b)	76
4.1.5. Ukupan sadržaj karotenoida (TCX)	80
4.2. BIOAKTIVNOST KLIJANACA	81
4.2.1. ANTIOKSIDATIVNI KAPACITET	81
4.2.1.1. DPPH test	81
4.2.1.2. ABTS test	84
4.2.1.3. Test redukcione sposobnosti (Rp)	86
4.2.2. ANTIINFLAMATORNA AKTIVNOST (AIA KLIJANACA FDS)	89
4.2.3. ANTIHIPERGLIKEMIJSKA AKTIVNOST (AHgA)	92
4.3. IN VITRO GASTROINTESTINALNO VARENJE FDS UZORAKA POD SIMULIRANIM USLOVIMA	95
4.4. KORELACIJA IZMEĐU SADRŽAJA FITOHEMIKALIJA I ANTIOKSIDATIVNE I BIOLOŠKE AKTIVNOSTI FDS	96
5.0. ZAKLJUČAK	99
6.0. LITERATURA	103

SKRAĆENICE

AC	Antioksidativni kapacitet
AHgA	Antihiperглиkemijska aktivnost
AIA	Antiinflamatorna aktivnost
AMPK	AMP-aktivisana protein kinaza
ARP	Antiradikalska sposobnost
AX	Arabinoksilan
BHA	Butilovani hidroksianizol
BHT	Butilovani hidroksitoluen
BS	Klijanci ječma
BSG	Klijanci ječma sorte Golozrni
BSNS	Klijanci ječma hibridne sorte "NS565"
CHD	Kardiovaskularne bolesti
COX	Ciklooksigenaza
CS	Klijanci žitarica
EU	Evropska Komisija
FDS	Liofilizovani klijanci
FOSHU	(engl. Food for Specific Health Use) – Hrana za specifičnu zdravstveno pogodnu upotrebu
GAE	Ekvivalent galne kiseline
GI	Gastrointestinalan
HMGCR	3-Hidroksi-3-metil-glutaril-CoA reduktaza
HPLC	(engl. High Pressure liquid Chromatography) – Visokopritisna tečna hromatografija
LDL	(engl. Low Density Lipoprotein) – Lipoproteini male gustine
NDGA	Nordihidrogvajaretska kiselina
NSAID's	Nesteroidni antiinflamatorni lekovi
OS	Klijanci ovsa
OSG	Klijanci ovsa sorte Golozrni
OSJ	Klijanci ovsa sorte Jadar
PAL	Fenilalanin amonijak

PCs	Polikozanoli
r	Pearson korelacioni koeficijent
RE	Ekvivalent rutina
ROS	Reaktivne vrste kiseonika
Rp	Redukcionaciona sposobnost
SGF	Simulacija digestije u želudačnoj tečnosti
SIF	Simulacija digestije u intestinalnoj tečnosti
SP	Praškasta forma klijanaca
SREBP2	Sterol regulatorni element vezivanja proteina-2
TCX	Ukupni karoteni i ksantofili
TE	Troloks ekvivalent
TEAC	Troloks ekvivalent antioksidativnog kapaciteta
TFC	Ukupni flavonoidi
TPC	Ukupna fenolna jedinjenja
UV	Ultravioletno zračenje
WGA	Aglutinin pšeničnih klica
WS	Klice pšenice
WSSIM	Klice pšenice sorte Simonida
WSSPE	Klijanci pšenice sorte Spelt
α-GIP	Inhibicioni potencijal enzima α -glukozidaze

1.0. UVOD

Do sada, prehrambeni proizvodi su uglavnom procenjivani u smislu njihove hranljive vrednosti. Sada se sve više pažnje poklanja i njihovim funkcionalnim svojstvima. Širom sveta, interesovanje za takozvanu "zdravu hranu" je u porastu. Kao rezultat pojačane zdravstvene svesti tokom poslednjih godina, prirodni antioksidanti su stekli veliko interesovanje zbog svojih zdravstveno-korisnih funkcija. Na primer, fenolne kiseline pokazuju zdravstveni potencijal zbog njihovog antioksidativnog delovanja (Serpen i sar., 2008). Brojne epidemiološke studije su pokazale da redovna potrošnja integralnih žitarica smanjuje rizik različitih tipova hroničnih bolesti, kao što su kardiovaskularne bolesti (Anderson i sar., 2000), dijabetes tipa 2 (Liu i sar., 2000; Meier i sar., 2000) neki oblici raka (Kasum i sar., 2002; Nikodim i sar. 2001) i smanjuju smrtnost (Jacobs i sar., 2001).

Klijanje je primarni korak ka stvaranju nove biljke. U ovom procesu izazvanom dodavanjem vode, biljni embrion nastavlja rast nakon perioda mirovanja (Barrôco i sar., 2005). Tokom klijanja količina antinutritivnih jedinjenja (na primer, inhibitora tripsina, fitinske kiseline, tanina; se smanji, a nakon klijanja se mogu detektovati jedinjenja sa zdravstveno-pozitivnim efektima i fitohemijskim svojstvima (glukozinolati, prirodni antioksidanti) (Bohn i sar., 2008; Marton i sar., 2010). Tokom klijanja razvijaju se mnoga funkcionalna jedinjenja koja imaju pozitivan efekat na zdravstveno stanje humanog organizma (Sangronis i Machado, 2007). S obzirom da se klijanci konzumiraju u početnoj fazi rasta, njihova koncentracija hranljivih materija je veoma visoka (Martinez-Villauginga i sar., 2010; Donkor i sar., 2012; Pajak i sar., 2014). U poslednjim decenijama prošlog veka pažnja stručnjaka, koji se bave zdravom ishranom, bila je usmerena prema određivanju biološke vrednosti klijanaca (Penas i sar., 2008). U tom periodu potrošnja klijavih semena je porasla, što je posebno slučaj u Evropi, gde klijanci ispunjavaju zahteve savremenog načina ishrane. Potrošači nisu samo zainteresovani za hranu visoke nutritivne vrednosti, nego i za hranu sa funkcio-

nalnim, zdravstvenim svojstvima, odnosno sa visokim sadržajem antioksidativnih supstanci.

Literaturni podaci ukazuju da ovas poseduje mnoge pozitivne osobine, kao što su antioksidantne, antidepresivne i antidijabetične efekte (Kamiyama i Shibamoto, 2012; Yu i sar., 2002), zahvaljujući prisustvu velikog broja sekundarnih metabolita. Ilona i sar. (2011) su utvrdili da sadržaj fenolnih jedinjenja u svim sortama ječma raste tokom klijanja.

Seo i sar. (2013) navode da se koncentracija polikozanola (PCs) povećavala tokom deset dana nakon klijanja, a zatim se smanjuje. PCs utiču na smanjenje nivoa holesterola u krvi, sprečavaju oksidaciju lipoproteina male gustine (LDL) i agregaciju trombocita (Singh i sar, 2006; Viola i sar, 2008.). Ova jedinjenja su efikasna u prevenciji ateroskleroze i tromboembolijskih poremećaja (Lee i sar., 2015). Nekoliko studija potvrdilo je antioksidativnu aktivnost *Brassica oleracea* vrste, u koju spadaju kupus, kelj, brokoli, prokelj, itd (Cartea i sar, 2011;. Vale i sar, 2014;. Vejl i sar, 2015;. Gavlik-Dziki i sar., 2012). S obzirom da postoji malo podataka o fitohemijskom sastavu i *in vitro* biološkoj aktivnosti klijanaca žitarica, posebno ječma, ovasa i pšenice, cilj ovog rada je bio da se ispituju upravo osobine ovih klijanaca (CS), hibridnih i nehibridnih sorti.

Glavni ciljevi istraživanja su:

- Dobijanje klijanaca autohtonih i hibridnih vojvođanskih sorti pšenice, ovasa i ječma u praškastoj formi
- Određivanje fitohemijskog profila praškastih formi klijanaca pšenice, ovasa i ječma
 - spektrofotometrijsko određivanje bioaktivnih jedinjenja klijanaca (sadržaj ukupnih fenola, flavonoida, hlorofila);
 - kvalitativna i kvantitativna HPLC analiza bioaktivnih jedinjenja.
- Određivanje funkcionalnih karakteristika praškastih formi klijanaca pšenice, ovasa i ječma
 - antioksidativne osobine dobijenih klijanaca (antioksidativni kapacitet, redukciona sposobnost);

- *in vitro* određivanje antihiperglikemijske aktivnosti dobijenih klijanaca (definisanje potencijala inhibicije enzima α -glukozidaze);
- *in vitro* određivanje antiinflamatorne aktivnosti klijanaca;
- analiza *in vitro* gastro-intestinalne digestije klijanaca pšenice, ovsa i ječma.

2.0. OPŠTI DEO

2.1. FUNKCIONALNA HRANA, RAZVOJ I ULOGA

Funkcionalna hrana nudi veliki potencijal za poboljšanje zdravlja i/ili prevenciju određene bolesti, kada se koristi kao deo uravnotežene ishrane i zdravog načina života. Postoji širok konsenzus oko toga da treba napraviti regulatorni okvir u Evropskoj uniji (EU) koji će zaštititi potrošače, promovisati trgovinu i podsticati inovativne proizvode u prehrambenoj industriji. Naša svakodnevna hrana se sastoji od sastojaka korisnih za naše zdravlje. To su nutrijenti koje se koriste u sistemima za proizvodnju energije, ali i ne-nutrijenti (Tabela 1).

Tabela 1. Sastojci hrane i njihova uloga

Sastojci	Uloga
Nutrijenti	
Šećeri	Izvor energije
Masti	Izgradnja membrane, proizvodnja eikosanoida izvor energije
Proteini	Izvor azota, proizvodnja funkcionalnih peptida
Ne-nutrijenti	
Vitamini	Podrška metabolizma
Minerali	Podrška metabolizma, signali za metabolizam, gradnja skeleta
Dijetna vlakna (β - glukan, oligosaharidi)	Modulacija imunodgovora, prebiotici za intestinalne bifidobakterije, modulacija metabolizma holesterola, modulacija sekrecije insulina, prevencija gojaznosti, olakšavanje rada creva, evakuacija intestinalnih ksenobiotika
Terpenoidi (terpenoidi, karotenoidi i ksantofili)	Antioksidativni, antikancerogeni
Jedinjenja koja sadrže sumpor	Antioksidanti, antikancerogeni
Fenolna jedinjenja (fenilpropanoidi, flavonoidi, antrahinoni, lignani	Antioksidatnti, modulacija proteinskih funkcija

Izvor: Weber i Matthews (2008)

Nutrijenti, kao što su šećeri, masti i proteini, su prepoznati da igraju važnu ulogu u očuvanju našeg zdravlja. Korisna uloga ne-nutrijenta, vitamina, minerala i dijetnih vlakana je donekle razjašnjena. Za druge ne-nutrijente je tek nedavno utvrđeno da poseduju pozitivne efekte na zdravlje. Fitojedinjenja su organska jedinjenja u koja se ubrajaju terpenoidi, karotenoidi i ksantofili, zatim jedinjenja koja sadrže sumpor, kao što su izotiocijanati i sulforafan, i velika grupa fenola.

Oko 2,7 miliona vrsta fenolnih jedinjenja su identifikovani u svakodnevnoj hrani i svrstavaju se u fenilpropanoide, flavonoide, antrahinone i lignane (Sakakibara i sar., 2003). Njihove funkcije su antioksidativni potencijal i modulacija funkcija proteina. Antioksidativni potencijal predstavlja sposobnost eliminacije reaktivnih vrsta kiseonika (RVK), što rezultira u prevenciji degenerativnih bolesti. Većina dijetetskih fitojedinjenja je konjugovana, a razdrađuje se intestinalnim apsorpcionim procesima (Murota i Terao, 2003; Dan i sar., 2000).

2.1.1. RAZVOJ KONCEPTA FUNKCIONALNE HRANE

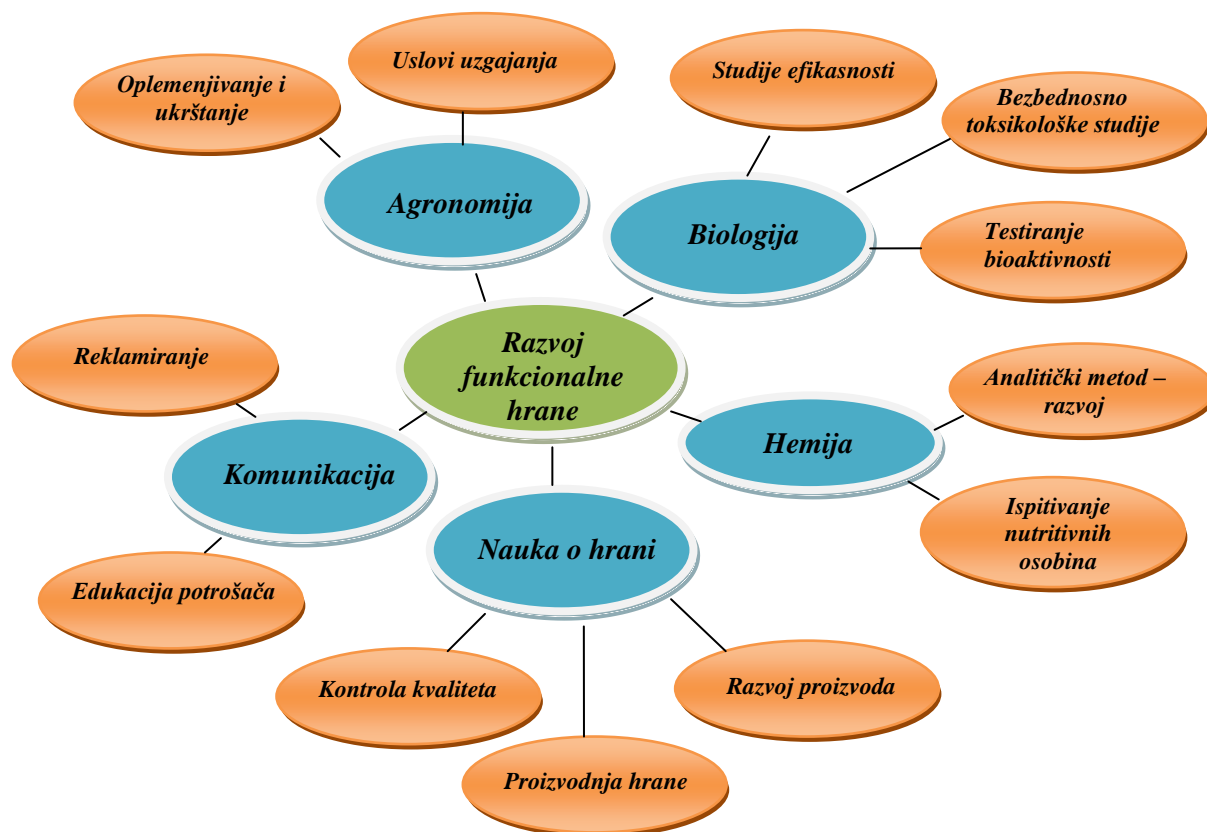
Koncept funkcionalne hrane potiče iz Japana. Tokom 1980-ih, u cilju kontrolisanja troškova zdravstvene zaštite, zdravstvene vlasti u Japanu utvrdile su da poboljšanje kvaliteta života mora da prati duži životni vek starijih ljudi u populaciji. Termin funkcionalna hrana (FOSHU) uveden je 1991. godine. FOSHU je vrsta hrane za koju se očekuje da ima specifičan zdravstveni efekat, kao rezultat relevantnih sastojaka, ili vrsta hrane iz koje su uklonjeni alergeni. Efekat takvog dodavanja ili oduzimanja mora biti naučno ispitan i dozvola mora biti data tako da tvrdnje koje se odnose na konkretne pozitivne efekte na zdravlje se mogu očekivati posle konzumiranja te hrane. Da bi se hrana identifikovala kao FOSHU, potreban je dokaz da finalni prehrambeni proizvod, ali ne i izolovane pojedinačne komponente, imaju zdravstveni ili fiziološki efekat kada se konzumira kao deo uobičajene ishrane.

FOSHU proizvodi treba da budu u obliku običnih namirnica, ne u formi pilula ili kapsula (Ashvell, 2002). Funkcionalna hrana pruža zdravstvene prednosti u odnosu na normalnu ishranu. Ona se razlikuje od medicinske hrane i dijetetskih suplemenata,

iako se može preklapati sa namirnicama za posebne namene i dijetetske fortifikovane namirnice. Razvoj FOSHU proizvoda, poslednjih decenija, je u prehrambenoj industriji postao značajni sektor, zbog povećane tražnje potrošača za njima (Mollet i Lacroix, 2007). Funkcionalna hrana mora biti dostupna potrošačima u formi u kojoj se konzumira u uobičajenoj svakodnevnoj ishrani. Potrošači očekuju da funkcionalna hrana ima dobre osobine kao što su: dobar miris, ukus, teksturu i izgled, i da bude sličnog kvaliteta kao obična hrana na tržištu (Klont, 1999; Augustin i sar., 2001; Kvak i Jukes, 2001).

Novi funkcionalni prehrambeni proizvodi, lansirani na globalnom tržištu hrane i pića, sadrže nutrijente i bioaktivna jedinjenja, uključujući vitamine, minerale, antioksidante, omega-3 masne kiseline, biljne ekstrakte, prebiotike i probiotike i dijetetska vlakna (Yu i Slavin 2008). Mnogi od ovih sastojaka su sklони degradaciji i/ili mogu da reaguju sa drugim komponentama u prehrambenoj matrici, što dovodi do gubitka u kvalitetu funkcionalnih prehrambenih proizvoda.

Dodate bioaktivne sastojke neophodno je izolovati iz okruženja, kako bi se sprečila njihova degradacija ili neželjene interakcije. Ovo se postiže mikroenkapsulacijom, gde se osetljivi bioaktivni sastojak inkorporira unutar sekundarnog materijala namenjenog za ugradnju u prehrambene proizvode. Razvoj funkcionalne hrane je dug i složen proces, koji zahteva multidisciplinarni pristup (Slika 1).



Slika 1. Razvoj funkcionalne hrane (proizvoda)

Izvor: Yu i Slavin (2008).

2.1.2. DEFINICIJA FUNKCIONALNE HRANE

Hrana se može smatrati "funkcionalnom" ako je dokazano da, pored osnovne nutritivne uloge, utiče blagotvorno na jednu ili više ciljanih funkcija u organizmu, na način koji unapređuje zdravlje ili smanjuje rizik od bolesti. Ova definicija sugerira da proizvod mora ostati prehrambeni proizvod kako bi se uvrstio u ovu kategoriju. Po toj osnovi funkcionalna hrana može biti:

- Prirodna hrana.
- Hrana kojoj je dodata pozitivna komponenta ili iz koje je uklonjena štetna komponenta.
- Hrana gde je modifikovana jedna ili više komponenti.

Postoje i druge definicije za funkcionalnu hranu, na primer Shahidi (2007), koji tvrdi da je funkcionalna hrana slična po izgledu konvencionalnoj hrani, da se konzumira kao deo uobičajene ishrane, a pri tom poboljšava zdravstveno stanje i ima fiziološke efekte koji su izvan osnovnih prehrambenih funkcija koje se očekuju od konvencionalne hrane.

Koordinisana akcija Evropske komisije (EK) o funkcionalnoj hrani u Evropi (FUFOSSE) definiše funkcionalnu hranu kao hranu koja, pored osnovne nutritivne uloge, blagotvorno utiče na jednu ili više ciljanih funkcija u organizmu na način koji poboljšava stanje zdravlja i/ili smanjuje rizik od bolesti. Ona se konzumira kao deo uobičajenog procesa ishrane. Nije pilula, kapsula ili bilo koji oblik dijetetskog dodatka ishrani (Evropska komisija, 2010). Health Canada definiše funkcionalnu hranu kao proizvode koji liče na konvencionalnu hranu, ali poseduju dokazano fiziološko delovanje.

U nekim zemljama, funkcionalna hrana i nutraceutici se naizmenično koriste. Međutim, u svim slučajevima, glavni fokus je usmeren na poboljšanje zdravlja i smanjenje rizika od bolesti, tj. prevenciju. Hrana se može smatrati funkcionalnom samo ako pruža zdravstvene prednosti u odnosu na osnovnu nutritivnu funkciju. Složenija definicija bi bila da je funkcionalna hrana slična po izgledu konvencionalnoj hrani, ali je modifikovana tako da, pored nutritivnih funkcija utiče i na fiziološke funkcije (Roberfroid, 2000). Funkcionalna hrana, pored osnovnih prehrambenih potreba, pruža zdravstvenu korist (Mur i sar., 2006).

2.1.3. BIOAKTIVNE KOMPONENTE FUNKCIONALNE HRANE

Bioaktivna jedinjenja se nalaze u malim količinama u hrani i utvrđeno je da imaju pozitivan uticaj na zdravlje, zbog čega se intenzivno proučavaju. Otkrivena su mnoga bioaktivna jedinjenja, čije hemijske strukture i funkcije variraju, te su u skladu sa tim su i odgovarajuće grupisana. Fenolna jedinjenja, uključujući njihovu podkategoriju, flavonoide, su prisutna u svim biljkama i intenzivno su proučavana u žitaricama, mahunarkama, orasima, maslinovom ulju, povrću, voću i čaju. Mnoga fenolna

jedinjenja imaju antioksidativna svojstva, a neke studije su pokazale povoljne efekte i na stanja tromboze i tumorogeneze. Neke epidemiološke studije utvrdile su zaštitnu povezanost flavonoida i drugih fenolnih jedinjenja i kardiovaskularnih bolesti i raka. Najznačajnije vrste biološki aktivnih komponenata i njihova primena u funkcionalnoj hrani su prikazani u Tabeli 2.

Tabela 2. Pregled glavnih lipofilnih komponenata koje trebaju da budu sadržana u hrani

Ime	Tip	Potencijalna nutritivna korist
Masne kiseline	ω -3 masne kiseline Konjugovana linoleinska kiselina. Buterna kiselina	Kardiovaskularne bolesti zdravlje kostiju, imuno poremećaji gojaznost, prevencija moždanog udara, mentalno zdravlje, rak i problemi vida
Karotenoidi	β -karoten, likopene, lutein i zeaksantin	Rak, kardiovaskularne bolesti, makularna degeneracija
Antioksidanti	Tokoferoli, flavonoidi, polifenoli	Kardiovaskularne bolesti, rak, bolesti urinarnog trakta
Fitosteroli	Stigmasterol, β -sitosterol, kampesterol	Kardiovaskularne bolesti

Izvor : McClements i sar. (2007).

Komponente hrane i njihove osobine koje se mogu koristiti za pripremu proizvoda bogatih biološki aktivnih jedinjenja su navedene u Tabeli 3 (Shahidi, 2009; McClements i sar., 2007).

Tabela 3. Komponente hrane i njihove osobine koje se mogu koristiti za pripremu proizvoda bogatih biološki aktivnih jedinjenja

Ime	Važne osobine	Primeri
Masti	Nepolarnost	Životinjske masti: govedina, svinjetina, pile-tina; Riblja ulja: jetra bakalara, haringa, los-sos, tuna; Biljna ulja: palma, kokos, sunco-kret, šafranike, kukuruz, laneno seme, soja;
	Stabilnost	Aromatska ulja: limun, narandža
Surfaktanti	Rastvorljivost (HLB)	Nejonski: Tween, Span
	Naelektrisanost polarne grupe	Anionska: SLS, DATEM, CITREM
	Molekulska geometrija	Katjonska : laurinski arginat Zwitterjonska: lecitin
	Molarna masa	Globularni proteini: surutka, soja, jaja
Biopolimeri	Konformacija	Fleksibilni proteini: kazein, želatin
	Naelektrisanje	Nejonski polisaharidi: skrob, dekstran, agar, galaktomanani, celuloza
	Hidrofobičnost	Anjonski polisaharidi: alginat, pektin, ksantan, karagenan, gelan, gumarabika
	Fleksibilnost	Katjonski polisaharidi: hitozan

Izvor : McClements i sar. (2007).

Fitojedinjenja prisutna u hrani i njihova bioaktivnost data su u Tabeli 4. Milner (2000) utvrdio je pozitivne zdravstvene osobine koje imaju žitarice, voće, povrće, mahunarke i lekovito bilje (Tabela 5).

Tabela 4. Glavna fitojedinjenja u hrani i njihova bioaktivnost

Fitojedinjenja	Hrana	Bioaktivnost
Flavonoidi		
Flavoni	Celer, peršun	Antioksidativna, antiproliferativna, anti-karcinogena, antihipertenzivna, antitrombotička, blokiranje ćelijskog ciklusa, indukcija faze-2 enzima
Flavanoni	Citrusi	Inhibicija faze-1 enzima, inhibicija oksidacije LDL, poboljšanje vaskularnog tona
Flavonoli	Luk, čaj, boranija, paradajz	
Flavan-3-oli	Čaj, kakao, jabuke, bobičasto voće pojedine vrste pasulja	
Antocijanidini	Borovnice, crna ribizla, jagode	
Izoflavoni	Soja	
Fenolne kiseline	Kafa, mekinje žitarica, voće	Anti-inflamatorna
Lignani	Laneno seme, voće i povrće	Estrogenska
Stilbeni	Grožđe, kikiriki	Antioksidativna, prokardio, produžetak životnog veka
Fitosteroli	Pšenica	sniženje holesterola
Karotenoidi	Paradajz, šargarepa, paprika	Antioksidativna, Antiinflamatorna, Antikancerogena

Izvor: Gry i sar. (2007).

Tabela 5. Lista funkcionalne hrane sa svojim fiziološkim efektima

Hrana	Fiziološki efekt
Jabuke, ječam, kupina, borovnica, šargarepa, patlidžan, ovas, beli luk, đumbir, ginseng, pečurke, luk, soja, čaj	Smanjenje lipida (masti)
Limun, jabuke, brusnica, beli luk, cvekla, krastavac, bundeva, soja, kupus, karfiol, kelj, brokoli, spanać	Pojačava detoksifikaciju
Ginseng, sladić, ovas, peršun	Antiinflamatorni
Brusnica, beli luk, luk, zeleni čaj	Antimikrobni
Anis, komorač, soja, kupus	Antiestrogenski
Narandža, zeleni čaj, beli luk	Antiproliferativni

Izvor: Milner (2000).

2.1.4. ZDRAVSTVENA KORIST FUNKCIONALNE HRANE

Epidemiološke i kliničke studije su dokazale vezu između ishrane i zdravstvenog stanja. Poznato je da populacije koje konzumiraju pretežno biljnu hranu, uključujući voće, povrće, integralne žitarice, kao i populacije konzumiraju pretežno morsku hranu imaju manju učestalost kardiovaskularnih bolesti i određenih vrsta raka (Penni i sar., 2002). Postoji veliko interesovanje za funkcionalnu hranu, nutraceutike i dijetetske suplemente.

Međutim, nutraceutici su proizvodi dobijeni iz hrane koji se prodaju u medicinskoj formi, kao kapsule, tablete, prašak, rastvori ili napitci. Nutraceutici su generalno povezani sa hranom i imaju dokazanu fiziološku korist i/ili štite od hroničnih bolesti. Oni se u Kanadi tretiraju kao "prirodni zdravstveni proizvodi" (Shahidi, 2007).

Utvrđeni su zdravstveno pozitivni efekti ovi jedinjenja u slučaju nekih bolesti, uključujući rak, aterosklerozu i druge kardiovaskularne bolesti (KVB), proces starenja, pad imuniteta, dijabetes i poremećaj mentalnog zdravlja. Uvođenje nutraceutika i funkcionalne hrane u svakodnevnu ishranu, zbog prisustva fitojedinjenja i njihove bioaktivnosti, od velikog je interesa. Naročiti značaj imaju fitati, fenolne kiseline,

flavonoidi, kumarini, lignani, karotenoidi, terpeni, inhibitori enzima i saponini. Fenolna jedinjenja funkcionišu i kao antibiotici, ali i kao prirodni pesticidi. Oni privlače oprašivače i služe kao zaštitno sredstvo protiv UV zračenja. Nauka o funkcionalnoj hrani usmerena je na ispitivanje pozitivnih bioloških aktivnosti prisutnih fitojedinjenja. Pojedine oblasti ljudske fiziologije su važne za ilustraciju koncepta funkcionalne hrane:

- Razvoj i rast organizma;
- Regulacija osnovnih metaboličkih procesa;
- Odbrana od oksidativnog stresa;
- Kardiovaskularna fiziologija;
- Gastrointestinalna fiziologija;
- Kognitivna i mentalna sposobnost, uključujući i raspoloženje i svesnost;
- Fizička sposobnost i fitnes.

2.1.5. FUNKCIONALNA HRANA OD ŽITARICA

Za jedan broj fitojedinjenja prisutnih u hrani biljnog porekla je dokazano da imaju pozitivan efekat na zdravlje i prevenciju bolesti. Vitamin E, fenolna jedinjenja, glutation, askorbinska kiselina, β -karoten, selen i bakar su glavni antioksidanti koji sprečavaju oksidacione procese (Trujillo i sar., 2006). Među oksidacionim procesima najintenzivnija je lipidna peroksidacija uzrokovana slobodnim radikalima, koja se smatra odgovornom za različite patološke procese, posebno nastanak i razvoj ateroskleroze i dijabetesa (Kehrer, 1993).

Pšenica je osnovna namirnica u ishrani velikog dela svetske populacije. Ona čini od 20% do skoro 80% ukupne potrošnje hrane u različitim regionima sveta. Osim što je bogata brojnim fitojedinjenjima, pšenica ima jedinstvenu osobinu formiranja glutena, što je čini pogodnom za proizvodnju pekarskih proizvoda. Ovas i ječam takođe imaju značajno mesto u ljudskoj, a bogati su fitojedinjenjima (Slavin, 2004). Fitojedinjenja žitarica imaju ulogu u prevenciji raka, artritisa, koronarnih oboljenja srca i osteoporoze (Wrick i sar., 1993). Funkcionalni proizvodi od žitarica snižavaju nivo holesterola u krvi i utiču

na jačanje kostiju. Iako je zdravstveni efekat hrane za potrošače važna činjenica, oni teško menjaju svoje navike u ishrani čak, i kada znaju da su nezdrave (Skalbert i Vilijamson, 2000). Konzumiranje funkcionalne hrane je način da se omogući potrošaču da vodi zdraviji život bez velikih promena navika u ishrani (Jonas i Beckmann, 1998). Svakodnevno konzumiranje funkcionalne hrane od žitarica bi moglo da bude jednostavan način povećanja unosa nutrijenata.

2.2. ANTIOKSIDANTI

Halliwell (2001) je definisao pojam antioksidanta, da je to bilo koja supstanca koja prisutna u niskim koncentracijama, u poređenju sa oksidujućim supstratom, značajno odlaže ili sprečava oksidaciju tog supstrata. Termin "oksidujući supstrat" obuhvata svaku vrstu molekula koji se nalaze *in vivo*.

Ne postoji univerzalni "najbolji" antioksidant, jer različiti antioksidanti štite različite biomolekule od oksidacije *in vivo* (Halliwell, 2001).

Nawar (1996), definiše antioksidante kao jedinjenja, ili sisteme, koji odlažu autooksidaciju inhibicijom formiranja slobodnih radikala ili prekidaju stvaranje slobodnih radikala po jednom ili više mehanizama:

- (1) hvatanjem inicijatora koji pokreću peroksidaciju,
- (2) heliranjem jona metala koji nisu u stanju da generišu reaktivne vrste ili da razgrade lipidne perokside,
- (3) hvatanjem kiseonikovih slobodnih radikala i sprečavanje formiranja peroksida,
- (4) prekidanjem autooksidativne lančane reakcije, i/ili
- (5) smanjenjem lokalizovanih koncentracija O₂. Antioksidanti koji prekidaju lanac oksidacije razlikuju se u antioksidativnoj efikasnost zavisno od hemijskih karakteristika i njihove fizičke lokacije unutar hrane.

Hemijska aktivnost antioksidanta i rastvorljivost u ulju utiču na njegovu dostupnost peroksil radikalima, posebno u membranama, micelarnim i emulzionim sistema (Vanatabe i sar., 2010).

2.2.1. ANTIOKSIDATIVNI ODBRAMBENI SISTEM

Žive ćelije se štite od oksidativnog oštećenja putem enzimskih i neenzimskih odbrambenih mehanizama. Usled oksidativnog stresa, naša tela proizvode više reaktivnih vrsta kiseonika (ROS), na primer: superoksid anjon radikale, hidroksil radikale i vodonik peroksid.

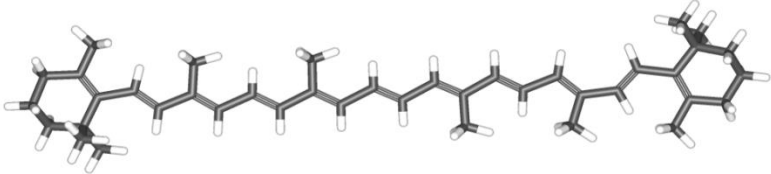
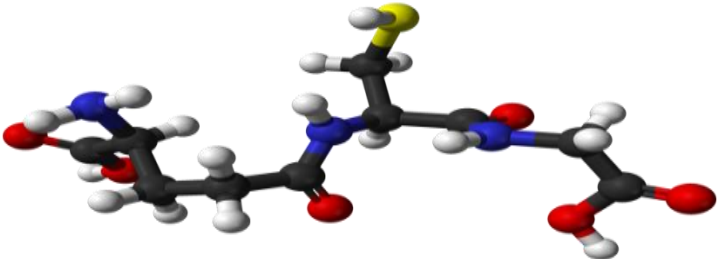
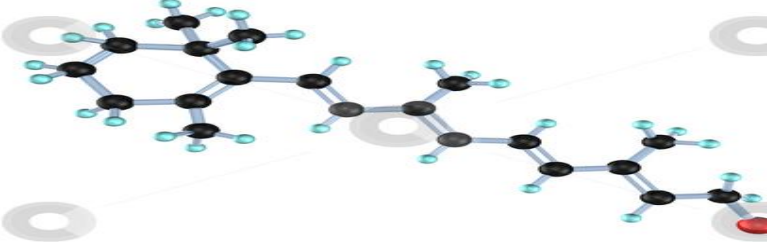


Ljudsko telo sadrži različite antioksidante koji su protivteža oksidativnim efektima. Oni se mogu podeliti u dve kategorije: enzimske (Tabela 6) i neenzimske (Tabela 7) (Birben i sar., 2012).

Tabela 6. Enzimski antioksidanti.

Naziv	Skraćenica	Reakcije
Superoksid dismutaza	SOD	$^{(n+1)+}\text{-SOD} + \text{O}_2^- \rightarrow \text{M}^{n+}\text{-SOD} + \text{O}_2$
Katalaza	CAT	$\text{M}^{n+}\text{-SOD} + \text{O}_2^- + 2\text{H}^+ \rightarrow \text{M}^{(n+1)+}\text{-SOD} + \text{H}_2\text{O}_2$ $2\text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow \text{O}_2 + 2\text{H}_2\text{O}$
Glutation peroksidaza	GTPx	$\text{H}_2\text{O}_2 + \text{Fe(III)-E} \rightarrow \text{H}_2\text{O} + \text{O} = \text{Fe(IV)-E}(.,+)$ $\text{H}_2\text{O}_2 + \text{O} = \text{Fe(IV)-E}(.,+) \rightarrow \text{H}_2\text{O} + \text{Fe(III)-E} + \text{O}_2$ $2\text{GSH} + \text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow \text{GSSG} + 2\text{H}_2\text{O}$
Tioredoksin	TRX	$2\text{GSH} + \text{ROOH} \rightarrow \text{GSSG} + \text{ROH} + \text{H}_2\text{O}$ Adenosin monofosfat + sulfit + tioredoksin disulfid = 5'-adenilil sulfat + tioredoksin Adenosin 3',5'-bisfosfat + sulfit + tioredoksin
Peroksiredoksin	PRX	Disulfid=3'-fosfoadenilil sulfat + tioredoksin $2 \text{R}'\text{-SH} + \text{ROOH} = \text{R}'\text{-S-S-R}' + \text{H}_2\text{O} + \text{ROH}$
Glutation transferaza	GST	$\text{RX} + \text{GSH} = \text{HX} + \text{R-S-GSH}$

Izvor: Birben i sar. (2012).

Tabela 7. Neenzimski antioksidanti

Hemijski naziv	Hemijska struktura
β - karoten $C_{40}H_{56}$	
Glutation $C_{10}H_{17}N_3O_6S$	
Vitamin A $C_{20}H_{30}O$	
Vitamin C $C_6H_8O_6$	
Vitamin E $C_{29}H_{50}O_2$	

Izvor: Birben i sar. (2012).

2.2.2. ENZIMSKI ANTIOKSIDANTI

Glavni enzimski antioksidanti pluća su SOD, katalaza i GSH-Px. Pored ovih glavnih enzima, drugi antioksidanti, uključujući hem oksigenazu-1 i redoks proteine, kao što su tioredoksini, peroksiredoksini i glutaredoksini, su pronađeni tokom antioksidativne odbrane pluća. Superoksid anjon primarni ROS proizveden je iz različitih izvora, i njegova dismutacija u prisustvu SOD-a je od primarnog značaja za svaku ćeliju. Sva tri oblika SOD, tj. CuZn-SOD, Mn SOD i EC-SOD su široko rasprostranjeni u ljudskom plućima. Mn-SOD je lokalizovan u matrici mitohondrija, EC-SOD je prvenstveno lokalizovan u ekstracelularnom matriksu, naročito u oblastima koje sadrže velike količine kolagenskih vlakna, i oko plućnih i sistemskih sudova. (Fujii i Taniguchi, 1999; Birben i sar., 2012).

Redukovani-glutation je važan ćelijski antioksidativni molekul u mitohondrijama i ćelijskom jedru. Glutation se smatra najjačim, najsvestranijim i najvažnijim antioksidantom u telu. Glutation se sintetiše u telu iz tri aminokiseline: cisteina, glutamina i glicina. Cistein je jedna od aminokiselina koja sadrži sumpor i koristi se za sintezu glutaciona (ova aminokiselina je vrlo kritična za detoksikaciju). Kada GSH izgubi elektron on se oksiduje. Oksidovani oblici ovog molekula se povezuju jedan sa drugim disulfidnim mostom i formiraju glutacion disulfid ili oksidovani glutacion (GSSG).

Glavne zaštitne uloge glutaciona protiv oksidativnog stresa su: [1] glutacion je kofaktor za druge detoksikacione enzime kao *glutacion peroksidaza* (GPKS) i *glutacion transferaza*, [2] GSH učestvuje u transportu amino kiselina kroz plazmu membrane, [3] GSH vezuje hidroksil radikale i singletni kiseonik direktno, detoksira vodonik peroksid i lipidne perokside katalitičkim delovanjem glutacion peroksidaze, [4] glutacion može smanjiti oksidovani vitamin C i vitamin E i transformisati ih u neoksidovano stanje. GSH se u jedru uključuje u mehanizme koji su neophodni za reparaciju DNK i ekspresiju (Khansari i sar., 2009).

2.2.3. NE-ENZIMSKI ANTIOKSIDANTI

Ne-enzimski antioksidanti su jedinjenja male molekulske mase, kao što su vitamini (vitamin C i E), β -karoten, mokraćna kiselina, GSH, tripeptid (L-g-glutamil-L-cisteinil-L-glicin) koji sadrži tiol (sulfhidril) grupu, flavonoidi, bilirubin, estrogenski polni hormoni, koenzim Q, melanin, melatonin i lipoična kiselina (Birben i sar., 2012; Khansari i sar., 2009).

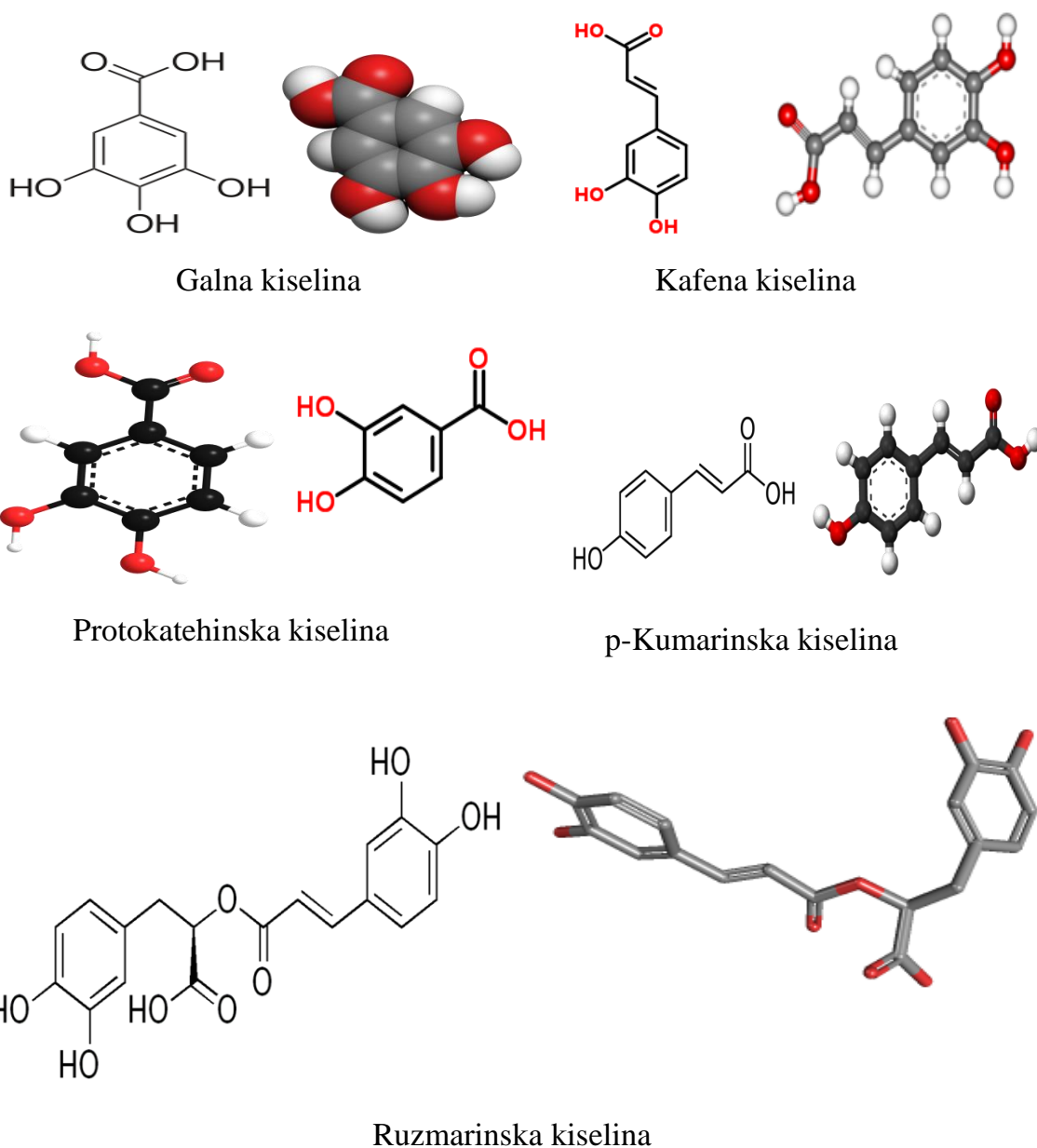
2.2.4. PRIRODNI ANTIOKSIDANTI

Tkiva biljaka i životinja su izložena stalnim oksidativnim stresom zbog uticaja slobodnih radikala, reaktivnih vrsta kiseonika (ROS) i prooksidanata koji su generisani egzogeno (toplota i svetlost) i endogeno (H_2O_2 i prelazni metali). Iz tih razloga, mnoga tkiva su razvila antioksidativne sisteme zaštite u cilju kontrole slobodnih radikala, katalizatora lipidne oksidacije, međuproizvoda oksidacije i sekundarnih proizvode razlaganja (Agati i sar., 2007;. Braun i Kelli, 2007; Chen, 2008; Iacopini i sar., 2008). Ova antioksidativna jedinjenja, koja uključuju flavonoide, fenolne kiseline, karotenoide i tokoferole, inhibiraju i/ili vezuju slobodne radikale, i na taj način deluju kao reduktanti (Khanduja i Bhardwaj, 2003).

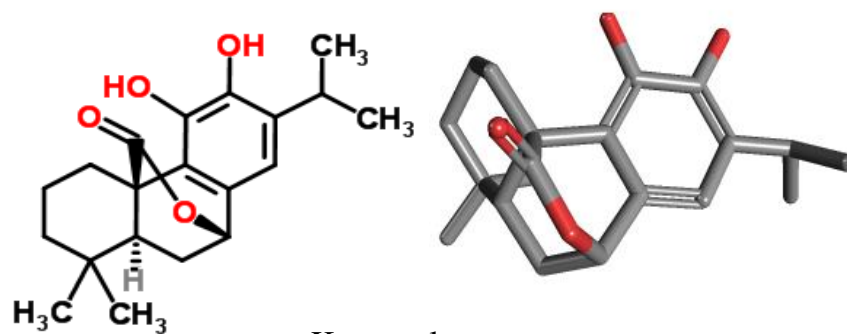
Glavni antioksidativni biljni fenoli se mogu podeliti u četiri opšte grupe: fenolne kiseline (galna, protokatehinska, kafena i ruzmarinska kiselina; Slika 2), fenolni diterpeni (karnosol i karnisolna kiselina; Slika 3), flavonoide (kvercetin i katehin; Slika 4) (Shan i sar., 2005).

Fenolne kiseline, generalno deluju kao antioksidanti, hvatanjem slobodnih radikala. Flavonoidi mogu vezati slobodne radikale i helirati jone metala (Engeseth i Geldof, 2001). Zajednička strukturna karakteristika flavonoida (flavona, flavonola, flavanola i flavanona) je osnovna 15-ugljenična flavanska struktura (C6-C3-C6) (Wojdiło i sar., 2007). Sposobnost prirodnih polifenolnih jedinjenja da vezuju slo-

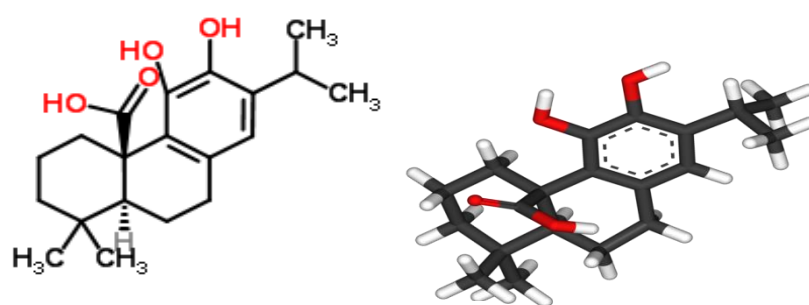
bodne radikale zavisi od prisutnosti, broja i položaja slobodnih -OH grupa na flavonoidnom skeletu (Lupea i sar., 2008).



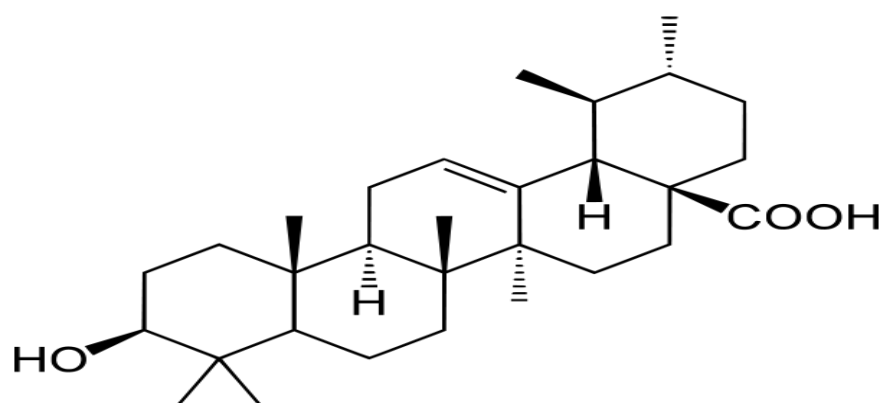
Slika 2. Antioksidativne fenolne kiseline (galna, protokatehinska, p-kumarinska, kafena i ruzmarinska) prisutne u biljnim ekstraktima.



Karnozol

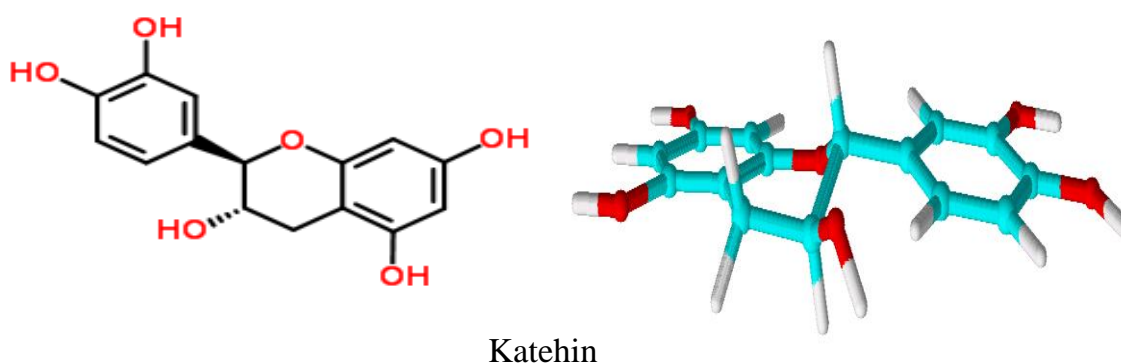
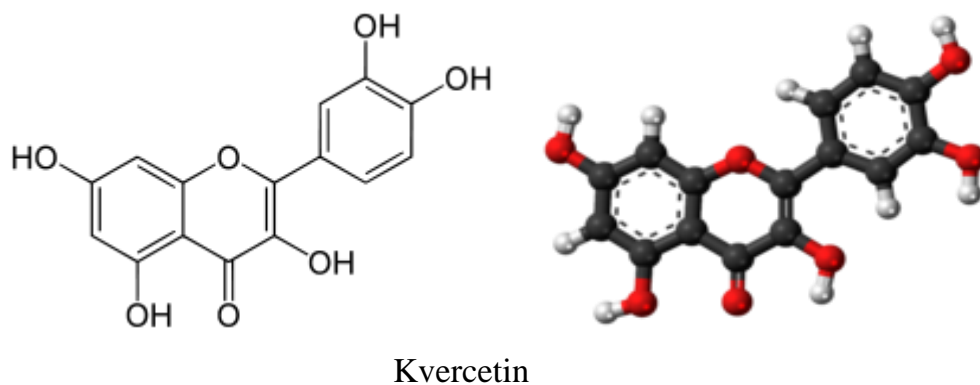


Karnosolna kiselina



Ursolna kiselina

Slika 3. Hemijska struktura karnosola, karnosolne i ursolne kiseline



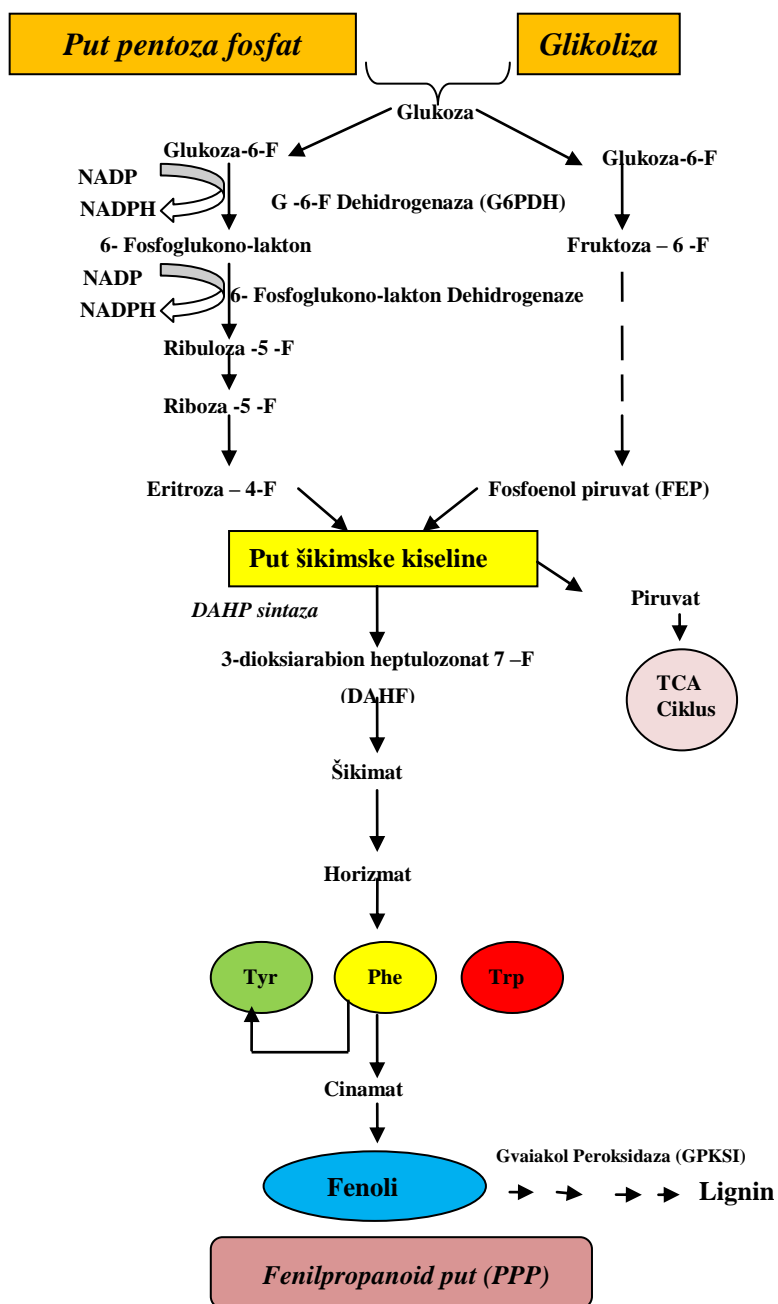
Slika 4. Hemijska struktura kvercetina i katehina

Način supstitucije na B-prstenu je posebno važan za sposobnost vezanja slobodnih radikala kod flavonola. Proučavanjem sposobnost 4 flavonola, supstituisanih na različitim mestima na B-prstenu (galangin, kempferol, kvercetin, miricetin), da ‘kvenčuju’ fluorescenciju goveđeg albumina iz seruma, Xiao i sar., (2008) su otkrili da je redosled “kvenčovanja” miricetin > kvercetin > kempferol > galangin. Autori ukazuju, u ovom antioksidativnom načinu delovanja, da mogućnost stvaranja vodonične veze igra važnu ulogu.

Flavonoidi sa više hidroksilnih grupa su efikasniji antioksidanti od onih sa samo jednom. Prisustvo *orto* 3,4-dihidroksi strukture povećava antioksidativnu aktivnost (Brewer, 2011). Flavonoidi mogu da smanje aktivnost oksidativnih prelaznih metala donirajući im atom vodonika, čineći ih tako manje prooksidativnim. Osim toga, flavoni i neki flavanoni (naringenin) mogu vezati metale na svoje 5-hidroksil i 4-okso grupe (Fernandez i sar., 2002).

2.2.4.1. Fenolna jedinjenja

Termin "fenolna jedinjenja" se odnosi na veliki broj organskih jedinjenja (više od 8000), široko rasprostranjenih u biljnom svetu, koje karakteriše to da imaju najmanje jedan aromatični prsten sa jednom ili više vezanih hidroksilnih grupa. Fenolna jedinjenja se generišu u biljkama kao sekundarni metaboliti preko metaboličkog puta šikimske kiseline (slika 5).

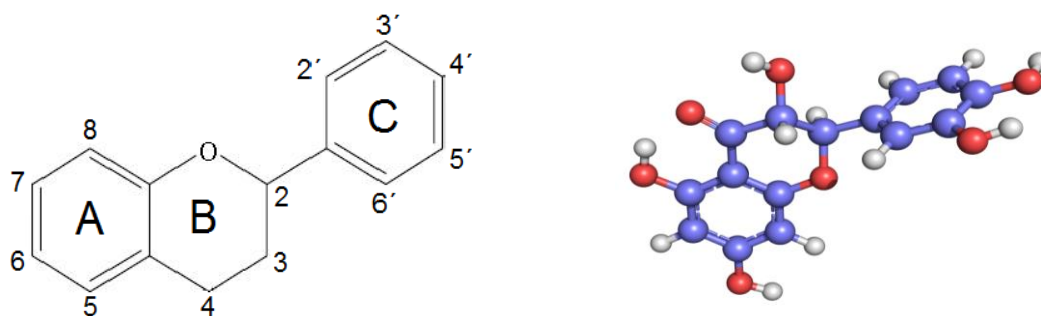


Slika 5. Fenilpropanoid put sinteze jedinjenja fenola

Izvor: Randhir i sar. (2004)

Fenilalanin amonijaza (PAL) je ključni enzim koji katalizuje biosintezu fenolnih jedinjenja iz aromatične amino kiseline fenilalanina. Fenolnih jedinjenja ima u rasponu od jednostavnih, male molekulske mase i sa jednim aromatičnim prstenom, do velikih i složenih tanina i izvedenih polifenola (Crozier i sar., 2008; Pereira i sar., 2009).

Oni se mogu klasifikovati na osnovu broja i rasporeda svojih atoma ugljenika u flavonoide (flavonole, flavone, flavan-3-ole, antocijanidine, flavanone, izoflavone i druge) i ne-flavonoide (fenolne kiseline, hidroksicinamate, stilbene i ostale) (Crozier i sar., 2008). Često se mogu naći konjugovani sa šećerima i organskim kiselinama. Najrasprostranjenija i raznolika grupa fenolnih jedinjenja u žitaricama su flavonoidi (uglavnom flavonoli, ali i antocijani) i derivati hidroksicimetne kiseline. Flavonoidi su fenolna jedinjenja koja sadrže petnaest atoma ugljenika sa dva aromatična prstena spojena mostom od tri ugljenika, C6-C3-C6 (Slika 6). Prisutni su u visokim koncentracijama u epidermu lišća i plodova i imaju značajne i raznovrsne uloge kao sekundarni metaboliti, koji su uključeni u procese, kao što su UV zaštita, pigmentacija, stimulacija rasta modula za vezivanje azota i otpornost na bolesti (Crozier i sar., 2008.; Pereira i sar., 2009). Od flavonoida, flavonoli su najrasprostranjeniji.

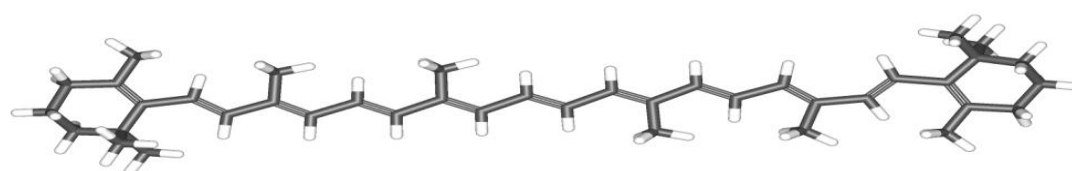


Slika 6. Opšta formula flavonoida

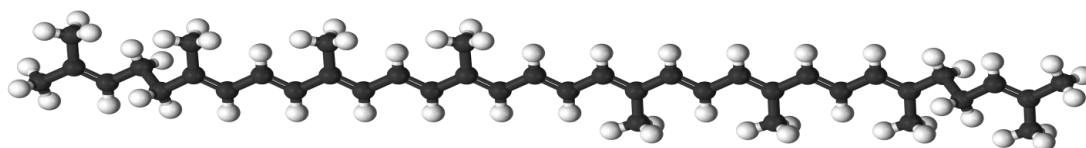
Kvercetin, kempferol i izoramnetin su glavni flavonoli u *Brassica* usevima i najčešće se mogu naći kao O-glikozidi. Konjugacija se najčešće javlja na poziciji 3 C-prstena, ali se supstitucija može javiti i na položajima 5, 7, 4', 3' i 5' (Hollman i Arts, 2000; Aron i Kennedy, 2008). Broj šećernih konjugata je povećan, i u žitaricama se uglavnom javljaju konjugovani sa glukozom. Oni se takođe sreću acilovani sa različitim derivatima hidroksicimetne kiseline.

2.2.4.2. Karotenoidi

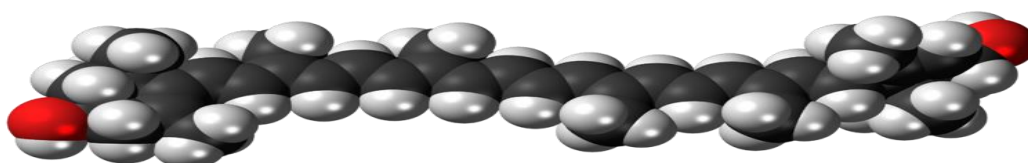
Karotenoidi su žuti, narandžasti i crveni pigmenti rastvorljivi u lipidima i široko prisutni u biljkama, voću i povrću. Po svojoj strukturi su izoprenoidi sa 40 ugljenikovih atoma i mogu se klasifikovati kao karoteni i ksantofili (Slika 7). Neki karotenoidi se takođe nazivaju provitaminima, kao što je β -karoten, α -karoten i β -kriptoksantin. Karotenoidi su antioksidativni nutrijenti koji deluju uglavnom kao sekundarni antioksidanti vezujući singlet kiseonik. U odsustvu singlet kiseonika karotenoidi mogu sprečiti oksidaciju vezivanjem slobodnih radikala (Shahidi i sar., 2003). Karotenoidi su dobri sinergisti sa tokoferolom.



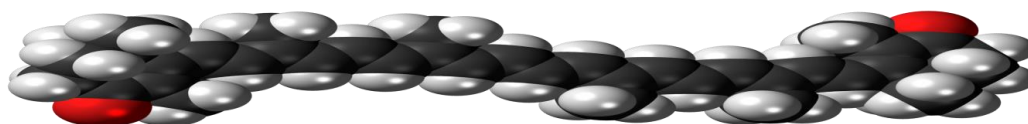
β -karoten $C_{40}H_{56}$



Likopen $C_{40}H_{56}$



Lutein $C_{40}H_{56}O_2$



Kantaksantin $C_{40}H_{52}O_2$



Astaksantin $C_{40}H_{52}O_4$

Slika 7. Hemijske strukture karotenoida

β -Karoten, lutein, likopen i izozeaksantin su tipični karotenoidi koji efikasno usporavaju oksidaciju u hrani. Astaksantin ima antioksidativno delovanje deset puta jače od β -karotena, luteina, zeoksantina i kantaksantina i često se koristi u ribljim proizvodima.

Komercijalni β -karoten je u obliku ljubičastih heksagonalnih prizmi ili crvenih listića i često se koristi u voćnim sokovima, siru, mlečnim proizvodima, mastima i uljima. Ima slabu rastvorljivost u većini uobičajenih rastvarača i visoko je reaktivan i termonestabilan, osetljiv je na svetlost, pH, kiseonik i prisustvo metala, što rezultira ograničenim aplikacijama kao antioksidanta u hrani (Shahidi i sar., 2003). Pri visokim koncentracijama kiseonika u prehrambenim proizvodima, β -karoten može da ispolji pro-oksidativno, a ne antioksidativno dejstvo (Lee i Min, 2004).

Karotenoidi su prirodni sastojci u hrani i imaju GRAS status. Ne postoje ograničenja u količini njihove primene. Pored tri glavne klase prirodnih antioksidanata (tokoli, askorbinska kiselina i karotenoidi), nekoliko drugih prirodnih supstanci takođe pokazuju antioksidativnu aktivnost kroz različite mehanizme. U njih spadaju fosfolipidi, flavonoidi, proteinski hidrolizati, organske kiseline, steroli, produkti Maillardove reakcije i enzimi. Ova jedinjenja su prirodni sastojci hrane i deluju kao endogeni antioksidansi sprečavajući oksidativne reakcije. Takođe, mogu poslužiti kao potencijalna zamena sintetičkih antioksidanata. Veliki deo istraživanja je sproveden u cilju procene njihove antioksidativne aktivnosti. Međutim, zbog osobine nekih prirodnih antioksidanata da deluju i prooksidativno, treba biti oprezan prilikom njihovog davanja hrani. Osim toga, neophodno je utvrditi zdravstvenu bezbednost prirodnih jedinjenja koja poseduju antioksidativnu aktivnost (Shahidi i Zhong, 2005).

2.2.4.3. Vitamin C (askorbinska kiselina)

Vitamin C (askorbinska kiselina), koji je rastvorljiv u vodi, povećava unutarćelijski i ekstraćelijski antioksidativni kapacitet pre svega uklanjanjem slobodnih radikala kiseonika iz vodene faze. On, takođe, pretvara tokoferil slobodne radikale ponovo u vitamin E. Dokazano je da se nivoi vitamina C u plazmi smanjuju sa godinama (Birben i sar., 2012; Halivel, 1999).

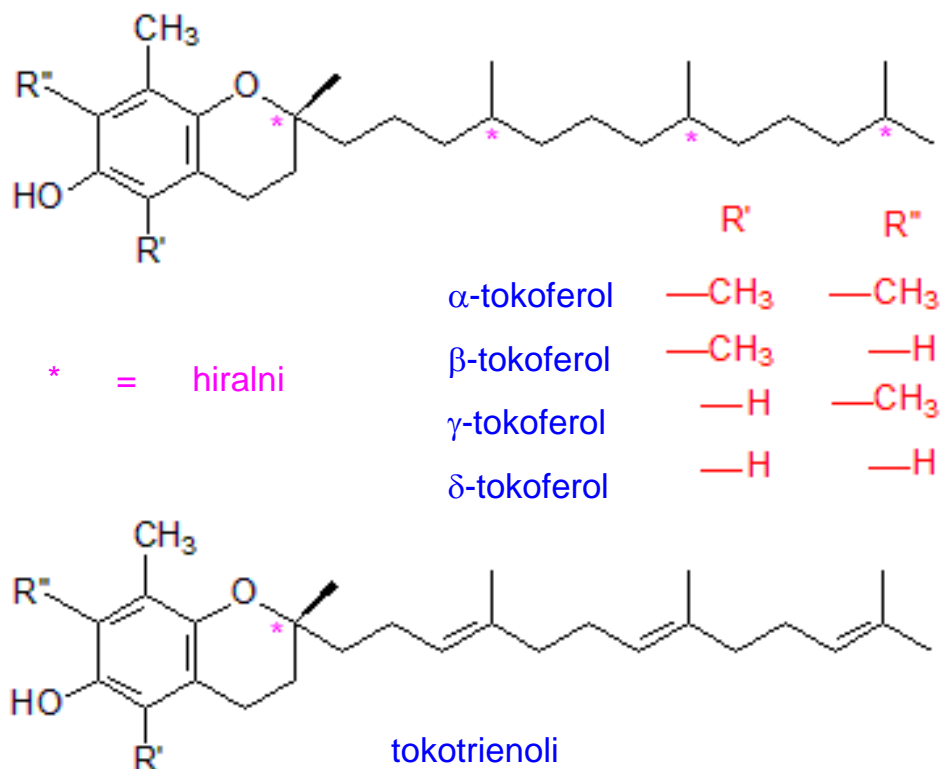
L-askorbinska kiselina (vitamin C) i njene soli (natrijum askorbat i kalcijum askorbat) su široko rasprostranjene u biljnim tkivima i sintetički se proizvode u velikim količinama. Askorbinska kiselina je beli ili žućkasti kristalni prah, koji se intenzivno koristi za stabilizaciju pića, voća i povrća. Njena primena u mastima i uljima je međutim, ograničena zbog nerastvorljivosti u lipidima. Deluje kao antioksidant sa više funkcija, uključujući i vezivanje raznih oblika kiseonika, smanjenje koncentracije slobodnih radikala i obnavljanje primarnih antioksidanata.

Askorbinska kiselina povoljno utiče na stabilnost lipida u hrani, što se ispoljava njenim sinergističkim delovanjem sa drugim antioksidantima. Ona pokazuje odličan sinergizam sa α -tokoferolom, limunskom kiselinom, BHA, BHT i helatorima metala. Askorbinska kiselina snažno inhibira raspad α -tokoferola, tako da ga regeneriše. U industriji askorbinska kiselina se koristi za korekciju arome, kiselosti, fiksiranje boje i kao redukcionni agens u prehrambenim proizvodima (Shahidi i sar., 2003; Reische i sar., 1998).

Askorbinska kiselina može umanjiti nastajanje aktivnih mirisnih jedinjenja u emulzijama. Prirodna askorbinska kiselina, prisutna u hrani, može biti degradirana procesom prerade kao posledica njene nestabilnosti na povišenoj temperaturi, svetlosti, pH, kiseoniku, oštroj dimu i aktivnosti vode, te se stoga u hranu dodaje egzogeno (Lee i Min, 2004).

2.2.4.4. Tokoferoli i Tokotrienoli

Tokoferoli i tokotrienoli, poznati i pod zajedničkim imenom tokoli, su monofenolna i lipofilna jedinjenja koja su široko rasprostranjena u biljnim tkivima. Glavni komercijalni izvor prirodnih tokoferola je sojino ulje. Tokotrienoli, koji su ređi nego tokoferoli, su prisutni u palminom ulju, ulju pirinčanih mekinja kao i žitaricama i mahunarkama (Shahidi i Zhong, 2005). Tokoferoli i tokotrienoli se svrstavaju u α -, β -, γ - i δ - zavisno od njihovih hemijskih struktura (slika 8).

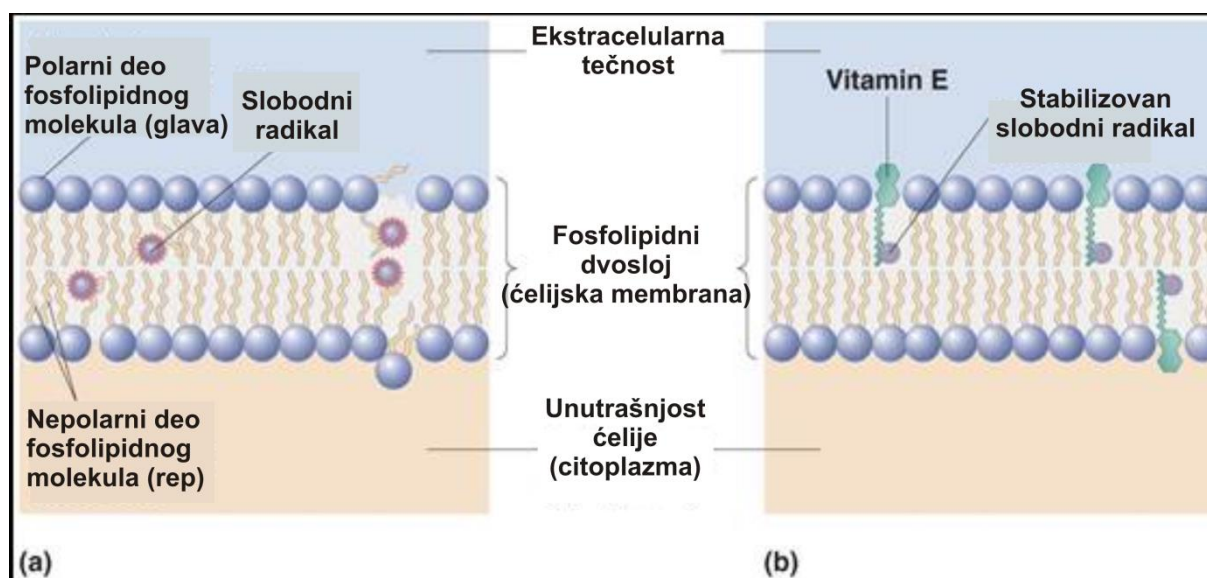


Slika 8. Hemijske strukture tokoferola i tokotrienola.

Generalno, tokotrienoli imaju jači antioksidativni efekat na oksidaciju lipida nego tokoferoli. Antioksidativna aktivnost tokoferola zavisi od temperature i sledi redosled $\delta \rightarrow \gamma \rightarrow \beta \rightarrow \alpha$ -tokoferol. Tokoferoli (pomešani prirodni koncentrat) su blago viskozna tečnost karakterističnog mirisa i zlatno braon boje. Međutim, sintetički tokoferol (mešavina α -, γ - i δ) je žuto do braon obojena viskozna masna tečnost bez mirisa (Shahidi i Zhong, 2005). Tokoli su rastvorljivi u biljnim uljima i nerastvorljivi u vodi. Oni deluju kao terminator slobodnih radikala u antioksidacionim reakcijama i oni se često koriste u prehrambenim proizvodima koji imaju manjak prirodnih antioksidanata, kao što su životinjske masti, voskovi i mlečne masti. Tokoferoli deluju sinergistički sa askorbinskom kiselinom, limunskom kiselinom i fosfolipidima.

U Sjedinjenim Američkim Državama, maksimalna količina dodatih prirodnih tokoferola je ograničena na 0,03%, odnosno, 300 ppm u životinjskim mastima i 0,02% u kombinaciji sa BHA, BHT, i Pg (9CFR 318.7). U Velikoj Britaniji i nekim drugim evropskim zemljama, njihov maksimalan dodatak ne prelazi 500 ppm (Shahidi i Zhong, 2005). U pogledu prosečnog dnevnog unosa (ADI) α -tokoferola, objavljeno je

da je unos 1000 mg/dan bez rizika i 3200 mg/dan bez dugoročnog rizika. U Sjedinjenim Američkim Državama, većina muškaraca i žena ne ispunjava trenutnu preporuku za unos vitamina E, prema nedavnom izveštaju o američkim dijetama (Shahidi i Zhong, 2005).



Slika 9. Mehanizmi delovanja vitamina E

Izvor: http://wps.aw.com/bc_thompson_son_2/134/34392/8804426.cw/index.html (2015)

2.2.5. ANTIOKSIDANTI KAO ADITIVI U HRANI

Prirodni antioksidansi dozvoljavaju proizvođačima hrane proizvodnju stabilnih proizvoda na čijim deklaracijama su navedeni prirodni sastojci. Prirodni antioksidanti zahtevaju manje rigorozne dokaze o bezbednosti nego što je potrebno za sintetičke. Pored njihove antioksidativne aktivnosti, neki prirodni antioksidansi kao što su vitamini, minerali i enzimi, takođe se smatraju nutrijentima zbog svoje bioaktivnosti.

Međutim, prirodni antioksidanti mogu da imaju i nekoliko nedostataka: niska antioksidativna efikasnost, nepoželjan ukus ili miris i mogući gubitak tokom obrade (Shahidi i Zhong, 2005). Bezbednost prirodnih antioksidanata se ne može uzeti zdravo za gotovo zbog njihove potencijalne mutagenosti, karcinogenosti, teratogenosti ili

drugih patogenih aktivnosti. Kao primer je slučaj nordihidrogvajaretska kiselina (NDGK), koja je uklonjena sa liste GRAS i nije više od praktične koristi (Shahidi i Zhong, 2005).

Askorbinska kiselina i tokoferol su najvažniji komercijalni prirodni antioksidanti. Pored toga, mnogi prirodni fenolni antioksidanti su identifikovani u biljkama i ekstraktima povrća koji se mogu primeniti u procesiranju raznih vrsta hrane. Nedavna istraživanja su usmerena na izolaciju i identifikaciju efektivnih antioksidanata prirodnog porekla (Shahidi i Zhong, 2005).

2.3. ŽITARICE

Žitarice predstavljaju važan izvor nutrijenata u ljudskoj populaciji. Kao i svaka hrana, one su odličan izvori pojedinih hranljivih materija. Sadržaj vitamina varira od jednog dela zrna do drugog. Kvalitet proizvoda od žitarica je određen različitim karakteristikama kojima može biti dodeljen različit značaj u zavisnosti od željene krajnje namene i korišćenja ili vrste proizvoda. Hemijski sastav nekih žitarica je prikazan u Tabeli 8.

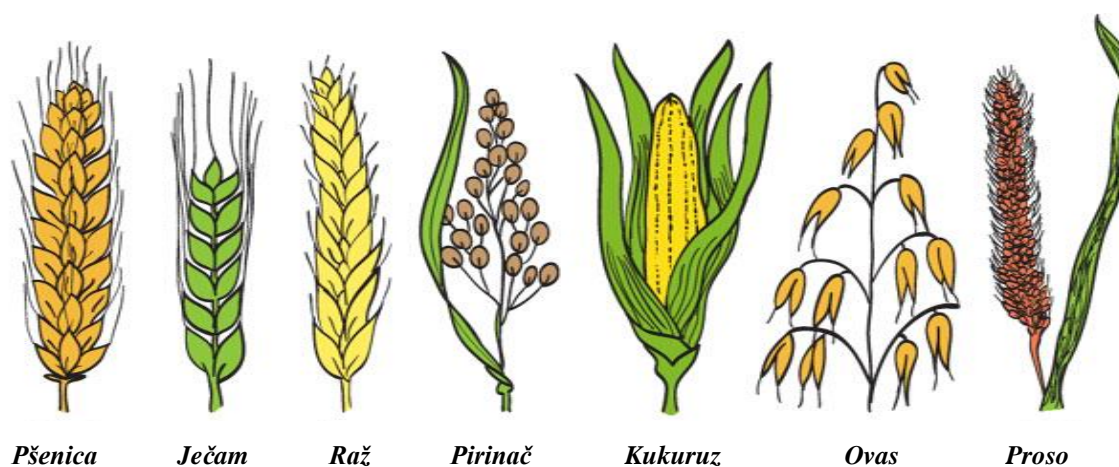
Pšenica se je jedna od najzastupljenijih žitarica u ljudskoj ishrani. Tokom mlevenja celog zrna pšenice nastaju i sekundarne frakcije (mekinje, klica i dr.) u iznosu od oko 25%. Ječam je jedna od najpogodnijih biljaka za korišćenje u eksperimentalnim genetskim studijama. Ječam ima visok stepen samooplodnje i lako da se hibridizuje. Zrno ječma je bogato skrobom i šećerom, a relativno siromašno proteinima i lipidima.

Obični ovas (*Avena sativa*) je vrsta žitarica koja se gaji zbog semena. Dok je ovas pogodan za ljudsku ishranu, kao ovsena kaša i valjani ovas, najčešće se upotrebljava kao stočna hrana. Ovas čini deo svakodnevne ishrane konja i to oko 20% dnevnog unosa ili manje, kao i 1/10 redovne hrane stoke. Takođe, koristi se kao sastojak hrane za piliće i pse. Slika 10. pokazuje oblik zrelih zrna žitarica.

Tabela 8. Hemijski sastav žitarica (prosečna vrednost)

<i>sadržaj</i>	<i>Pšenica</i>	<i>Raž</i>	<i>Kukuruz</i>	<i>Ječam</i>	<i>Ovas</i>	<i>Pirinač</i>	<i>Proso</i>
	(g/100g)						
Vlaga	12,6	13,6	11,3	12,1	13,1	13,0	12,0
Proteini(Nx 6.25)	11,3	9,4	8,8	11,1	10,8	7,7	10,5
Lipidi	1,8	1,7	3,8	2,1	7,2	2,2	3,9
Ugljeni hidrati	59,4	60,3	65,0	62,7	56,2	73,7	68,2
Vlakna	13,2	13,1	9,8	9,7	9,8	2,2	3,8
Minerali	1,7	1,9	1,3	2,3	2,9	1,2	1,6
	(mg/kg)						
Vitamin B ₁	4,6	3,7	3,6	4,3	6,7	4,1	4,3
Vitamin B ₂	0,9	1,7	2,0	1,8	1,7	0,9	1,1
Nikotinamid	51,0	18,0	15,0	48,0	24,0	52,0	18,0
Pantotenska kiselina	12,0	15,0	6,5	6,8	7,1	17,0	14,0
Vitamin B ₆	0,9	2,3	4,0	5,6	9,6	2,8	5,2
Folna kiselina	41,0	1,4	0,3	0,7	0,3	0,2	0,4
Ukupno tokoferola		40,0	66,0	22,0	18,0	19,0	40,0

Izvor: Souci i sar. (2008); Belitz i sar. (2009)

**Slika 10. Oblik zrelih zrna žitarica**Izvor: www.mondeleznutritionscience.com/featured-nutrition/wholegrains

Fitojedinjenja u žitaricama. Prehrambena industrija je usmerena ka proizvodnji funkcionalne hrane na bazi različitih žitarica zbog zahteva potrošača za zdravijim namirnicama. Žitarice kao što su pšenica, ječam i ovas bogate su mnogim fitojedinjenjima i drugim nutrijentima, pružaju odličnu sirovinu za proizvodnju funkcionalne hrane. Mnoge pozitivne osobine ovih žitarica mogu se iskoristiti za dizajniranje nove funkcionalne hrane na bazi žitarica namenjene populaciji sa posebnim potrebama (Charalampopoulos i sar., 2002).

Zrna žitarica i klijanci su dobri izvori različitih fitojedinjenja. U zrnima žitarica prisutna su i fitojedinjenja - fenoli. Prisutna fenolna jedinjenja su koncentrisana u površinskim slojevima zrna i prisutna su kao slobodna, esterifikovana i u nerastvorljivim vezanim formama. Oslobođanje vezanih fenolnih jedinjenja povećava njihov sadržaj u žitaricama. Prisutna fitojedinjenja imaju široku zdravstvenu korist i mogu ublažiti oksidativni stres i druge bolesti kod ljudi (Liiana-Pathirana i Shahidi, 2005). Glavna fitojedinjenja u žitaricama su: fenolne kiseline, flavoni, fitinska kiselina, flavanoidi, kumarini i terpeni.

Klijanci žitarica su dobri izvori ferulne kiseline, fitinske kiseline, glutationa i fitosterola. Pored toga, klice žitarica sadrže vitamine E, B1, B2 i B3, minerale P, K, Mg, Ca, Zn, Na, Cu, Mn i Fe (Tabela 9), i vlakna (Ragae i sar., 2006; Sidhu i sar., 2007). Sve ove komponente mogu da deluju zajedno na sinergistički način i mogu štititi od gastrointestinalnih kancera i kardiovaskularnih bolesti (Slavin i sar., 2001). Zbog svog bogatog sadržaja nutrijenata, klijanci žitarica mogu biti vredan sastojak u proizvodnji funkcionalne hrane (Sidhu i sar., 2007).

Dijetetska vlakna u žitaricama. Dijetetska vlakna su jestivi deo biljke ili analogni ugljeni hidrati, koji se odupiru hidrolizi enzima probavnog trakta. Dijetetska vlakna su jedna od glavnih fitojedinjenja prisutnih u žitaricama i mogu se podeliti u dve kategorije prema njihovoj rastvorljivosti u vodi.

Vodorastvorljiva frakcija (rastvorljiva vlakna) se sastoji uglavnom od neskrob-nih polisaharida, kao što su β -glukani i pentozani (arabinoksilani). Rastvorljiva vlakna kod ljudi smanjuju serumski holesterol, glukozu u krvi i nivo insulina (Edge i sar., 2005). Frakcija nerastvorljiva u vodi (nerastvorljiva vlakna) se sastoji od lignina, celuloze, hemiceluloze (vodonerastvorljivi arabinoksilan).

Tabela 9. Mineralni sastav integralnog brašna cerealija (mg / kg).

Minerali	Pšenica	Raž	Ječam	Kukuruz	Ovas	Pirinač	Heljda	Proso	Sirak
P	1170	3010	2460	990	4110	1030	1550	2400	350
K	1550	4380	3290	1200	4000	1500	2420	2200	240
Mg	250	930	670	470	1170	350	1010	1000	188
Ca	170	330	270	60	530	60	110	100	27
Na	20	50	40	10	40	20	10	-	5
Zn	8	28	13	5	30	17	25	34	3
Fe	12	28	24	11	38	12	15	48	11
Mn	5	22	13	-	58	9	15	7	1
Cu	1	3	1	-	2	2	6	5	0,2

Izvor: Ragaee i sar. (2006). Danish Food Composition Databank

Sadržaj dijetalnih vlakana u žitaricama varira u zavisnosti od sorte, njihove botaničke komponente (perikarp, endosperm i klica) i uslova prerade kroz koju su prošli (Sidhu i sar., 1999). Prosečne vrednosti za ukupna dijetalna vlakana u ječmu, pšenici i ovsu su prikazane u Tabeli 10 (Charalampopoulos i sar., 2002). β -Glukani u žitaricama su drugi važan izvor dijetetskih vlakana.

Među žitaricama, ječam i ovas su najbogatiji izvori β -glukana, čiji sadržaj se kreće u rasponu od 3-11% i 3-7% u odnosu na suhu masu (s.m). β -Glukani su obično koncentrisani u aleuronima i endospermu ćelijskih zidova ječma ova i pšenice (Köksel i sar., 1999). Žitarice su dobri izvori oligosaharida, kao što su laktuloze, fruktooligosaharidi, *trans*-galaktooligosaharidi (Gibson i sar., 1995; Bouhnik i sar., 1997). Ovi oligosaharidi učestvuju u stimulisanju rasta bifidobakterija i laktobacila u ljudskom debelom crevu. Zrna pšenice i ječma, tokom svog razvoja, pokazuju varijacije u sastavu i sadržaju nekih ugljenih hidrata i esencijalnih amino kiselina.

Rimm i sar. (1996) su objavili da potrošnja dijetalnih vlakana poreklom iz žitarica znatno smanjuje rizik od srčanih bolesti. Prema Pietinenu i sar. (1996) postoji značajna inverzna povezanost između unosa vlakana žitarica i smrtnosti od srčanih

bolesti. Andlauer i Furst (1999) su objavili da je veći unos integralnih žitarica povezan sa smanjenjem rizika od raka, naročito kolorektalnog i raka alimentarnog trakta.

Tabela 10. Ukupna dijetetska vlakana u žitaricama

<i>Žitarice</i>	<i>Ukupna dijetetska vlakna (%)</i>
Mahunarke	13,6 – 28,9
Raž	15,5
Kukuruz	15
Tritikale	14,5
Ovas	14
Pšenica	12
Sirak	10,7
Ječam	10
Proso	16,2 – 7,2
Pirinač	3,7 – 4,1

Izvor: Herrera i sar. (1998); Nelson (2001)

Fenolna jedinjenja u žitaricama. Mekinjasti slojevi žitarica su relativno bogati antioksidantima. Ovi antioksidanti su rastvorljivi ili u vodi ili u mastima, a skoro polovina su nerastvorljivi. Rastvorljivi antioksidanti u ovsu uključuju fenolne kiseline, flavonoide, tokoferole i tokotrienole (Slavin, 2004). Najveći deo ovih nerastvorljivih antioksidanata su estri cimetne kiseline vezani za pentozane. Nerastvorljiva vlakna u pšeničnim mekinjama sadrže skoro 0,5 do 1% fenolnih jedinjenja. Ipak, većina fenolnih jedinjenja (na primer ferulna kiselina) je široko prisutna u integralnim žitaricama, naročito u mekinjastim slojevima (764 mg/100 g). Neka od fenolnih jedinjenja prisutnih u pšeničnim mekinjama proučavana su s ciljem utvrđivanja njihove potencijalne uloge u sprečavanju hormonski generisanih kancera. Ova fenolna jedinjenja, koja sinergistički ispoljavaju antioksidativno delovanje sa drugim bioaktivnim jedinjenjima, uglavnom su prisutni u spoljašnjim slojevima mekinja.

Takođe je objavljeno da kombinacija nekih fenolnih kiselina ima antikarcinogena i antibakterijska svojstva (Mandal i sar., 1987). Glavni fenolni antioksidanti u pšeničnim mekinjama su: ferulna, vanilinska, *p*-kumarinska, kafena, protokatehinska,

p-hidroksibenzoeva, hlorogenska i siringinska kiselina. Ostala fitojedinjenja prisutna u žitaricama su fitosterini, saponini i fitoestrogeni (Thompson, 1994).

Ferulna kiselina je zdravstveno korisna zbog svojih antioksidativnih svojstava (Møller i sar., 1988.). Pored toga, ferulna kiselina prisutna u pšeničnim mekinjama, ima nitrit scavenging efekat efikasan kao askorbinska kiselina pod kiselim uslovima. Većina fenolnih jedinjenja se nalaze u vezanom obliku (75% u ovsu i pšenici).

Ferulna kiselina je prisutna kao slobodna, rastvorljivo-konjugirana i vezana u razmeri 0,1: 1:100 (Adom i Liu, 2002). Vezana fitojedinjenja mogu da opstanu u procesu varenja i stignu u debelo crevo, gde ispoljavaju antikarcenogena svojstva. Ova tvrdnja može delimično objasniti ulogu integralnih žitarica u prevenciji raka debelog creva. Kada vezani fenoli stignu do debelog creva na njih deluju mikrobiološki enzimi koji ih oslobađaju.

Crevne endotelne ćelije mogu da apsorbuju slobodna fenolna jedinjenja i tako dobijaju antioksidativnu zaštitu kada ova jedinjenja ulaze u portalnu cirkulaciju (Kroon i sar., 1997). Fenolna jedinjenja iz mekinja ječma kao što su proantocijanidini (procijanidini i prodelfinidini) su pokazali da ispoljavaju slične ili više antioksidativne aktivnosti nego katehini (Tamagava i sar., 1999).

Flavonoidi u žitaricama. Flavonoidi su prisutni u gotovo svim biljkama, a poznati su da poseduju antikarcinogena, antiinflamatorna i antialergijska svojstva. Najvažniji flavonoidi su kvercetin, kempferol, miricetin i hrizin (Brown, 1980). Žitarice sadrže male količine flavonoida, osim što ječam sadrži merljive količine katehina i nekih procijanidina (McMurrough i Baert, 1994).

Ostala fitojedinjenja u žitaricama. Zbog njihove spore sposobnosti fermentiranja i velikim kapacitetom zadržavanja vode, neke druge komponente pšeničnih mekinja, kao što su lignin i celuloza su pokazali da imaju antikancerogene osobine. Pšenične mekinje takođe imaju sposobnost vezivanja za citotoksične supstance, kao što su žučne kiseline, smanjujući tako njihovu negativne efekte u debelom crevu (Albert i sar., 1996). Indukcija citohrom P-450 zavisnih enzima u tankom crevu uzrokovana unosom pšeničnih mekinja može takođe da bude uključena u ovu zaštitnu akciju.

Dokazano je da nevlaknaste komponente mekinja pšenice, uključujući i fitinsku kiselinu i fenolna jedinjenja takođe imaju antikancerogene efekte (Edge i sar., 2005.). Fitinska kiselina, prirodni biljni antioksidans je prisutna u pšeničnim mekinjama u relativno visokim iznosima (4,8%). Ima sposobnost suzbijanja oksidativne reakcije katalizovane gvoždem. Fitinska kiselina je poznata po svojim inhibitornim efektima na bioraspoloživost mikroelemenata, ali je nedavno privukla pažnju i kao antikancerogeno jedinjenje (Slavin, 2004). Sposobnost fitinske kiseline da helira minerale može da bude njen pozitivan efekat tokom oksidativnih reakcija.

Antioksidativni profil žitarica. Više od 15 metoda je dostupno za određivanje antioksidativnog delovanja hrane. Ove metode mere sposobnost redukcije antioksidanta, što postaje vidljivo sa promenom boje oksidanta. Međutim, ne postoji jednostavan univerzalni metod kojim se može precizno i kvantitativno izmeriti antioksidativna aktivnost (Huang i sar., 2005). U većini istraživanja o antioksidativnoj aktivnosti žitarica, antioksidanti se ekstrahuju metanolom, etanolom ili acetonom, bez hidrolize koja bi oslobodila konjugovane fenolne kiseline. Vezane fenolne kiseline nisu ekstrahovane ovim rastvaračima. Tako dobijena antioksidativna aktivnost žitarica je manja u odnosu na uzorak sa vezanim fenolima koji su hidrolizovani tokom ekstrakcije (Ting Sun i Chi-Tang, 2008). Ovi autori su predložili da bi trebalo ekstrahovati žitarice posle hidrolize vezanih fenolnih jedinjenja i pre određivanja njihovog ukupnog sadržaja antioksidativne aktivnosti. Ovakvi rezultati će preciznije odražavati stvarnu antioksidativnu aktivnost žitarica u ljudskom telu nakon varenja. Takođe, važno je da se utvrdi antioksidativna aktivnost žitarica, pored ABTS i DPPH-testa, korišćenjem drugih metoda, u cilju iskazivanja antioksidativne aktivnosti antioksidanata različitih strukturnih karakteristika i polariteta. Međutim, žitarice i namirnice na bazi žitarica mogu biti važan način unosa nutritivnih komponenta potrošača, s obzirom da se namirnice od žitarica široko i stalno konzumiraju kao osnovne namirnice u mnogim delovima sveta (Avika i sar., 2003). Među zrnima, neprerađena cela zrna su pokazala najveći antioksidativni potencijal. Takođe, nusproizvodi su uvek pokazali veći antioksidativni kapacitet u poređenju sa proizvodima od kojih potiču. Određeni su i efekti mlevenja na antioksidativni kapacitet pšenice (Liiana-Pathirana i Shahidi, 2007). Mlin-

ski proizvodi, kao mekinje, brašno i stočno brašno su korišćeni u analizi. Mekinje su pokazale najveću antioksidativnu aktivnost, dok je endosperm imao najmanju.

Žitarice su i bogat izvor jedinjenja niske molekulske težine kao što su ferulna, kafena, *p*-hidroksibenzoeva, protokatehinska, *p*-kumarna, gentizinska, sinapinska, vanilinska i siringinska kiselina, između ostalih (Emmons i sar., 1999). Fenolne kiseline mogu formirati kako estarske tako i etarske veze, zbog prisustvu karboksilne i hidroksilne grupe. Ovo omogućava formiranje unakrsnih veza fenolnih kiselina sa makromolekulama ćelijskog zida (Yu i sar., 2001). Vezana fenolna jedinjenja mogu biti oslobođena putem baznog, kiselog ili enzimskog tretmana uzorka pre ekstrakcije (Bartolome i Gomes-Cordoves, 1999). Mekinjasti slojevi žitarica su relativno bogati antioksidantima. Ovi antioksidanti su rastvorljivi ili u vodi ili u masti, a skoro je polovina potpuno nerastvorljiva.

2.3.1. PŠENICA

Pšenica je drevni usev, čije poreklo nije tačno definisano, ali većina dokaza upućuje da je njen geografski region porekla na Bliskom istoku (De-Candolle, 1886; Peterson 1965). Postoje tri vrste pšenice, koje se razlikuju u ploidi (osnovnom broju hromozoma): *Triticum monococcum*, *Triticum boeoticum* i *Triticum dicoccum*. *Triticum boeoticum* je divlja forma, a *T. monococcum* uspeva na Balkanu i istočnom Mediteranu. *Triticum dicoccum* je tetraploidna pšenica i isto drevna gajena vrsta, povezana sa starim mediteranskim kulturama, a još uvek se gaji u nekim delovima Evrope.

Smatra se da vodi poreklo od divljih vrsta, *T. dicoccoides*, koja se još uvek može naći u istočnom regionu Mediterana. *Triticum durum* (makaroni pšenica) uzgaja se širom sveta i ima odlične osobine pogodne za pravljenje testenine. *Triticum timopheevi*, *T. turgidum* (konus pšenica), *T. turanicum* (Khorasan pšenica), *T. polonicum* (Poljska pšenica ili gigantska raž) i *T. carthlicum* (persijska pšenica) su druge vrste kultivisane tetraploidne pšenice koje su trenutno od manjeg ekonomskog značaja. *Triticum aestivum* je heksaploidna pšenica i od svih vrsta pšenica, ova se najčešće uzgaja danas.

Pšenica je jedna od najčešće gajenih žitarica, što čini više od jedne četvrtine globalne svetske proizvodnje žitarica. Prvenstveno se koristi za ljudsku ishranu, dok se nekih 15% koristi za ishranu životinja. Najveći svetski proizvođači pšenice su Kina, Indija i SAD. Pšenica se može klasifikovati prema tvrdoći zrna. Razlika između tvrdih i mekih pšenica je napravljena još u rimsko doba. U američkoj terminologiji, tvrde pšenice sa visokim sadržajem proteina u odnosu na škrob (16% proteina, 61% škrob) daju „jaka“ brašna, koja se koriste za pravljenje hleba, dok „meke“ pšenice sa 12% proteina i 66% škroba daju „slaba“ brašna koja se koriste za pravljenje keksa.

U kontinentalnoj evropskoj terminologiji, "tvrde" pšenice su durum pšenice koje se koriste za testeninu, dok su ostale pšenice meke (Pomeranz, 1988). Prema podacima Ministarstva poljoprivrede Srbije, srpski proizvođači su zasadili 600.000 hektara pšenice u sezoni 2012/13 ili 25 odsto više nego godinu dana ranije. To povećanje uslovljeno je mnogim faktorima. Prvo, pšenica kao zimsko/prolećni usev nije pretrpeo gotovo nikakvu štetu od ekstremnih suša u leto 2012, čak su dobijeni veći prinosi i to u poređenju sa značajnom količinom pšenice roda 2012. (Tabela 11). Zasejana pšenica je posejana u optimalnom roku za setvu i tokom zime bila je uglavnom pokrivena i zaštićena snegom. Prolećni i letnji uslovi su takođe bili veoma dobri sa dovoljno vlage i sunca. To je rezultiralo odličnim prinosima i dobrim kvalitetom dobijenog hlebnog brašna u sezoni 2013/14. (Godišnjak za žitarice i hranu za životinje, Srbija, Izveštaj broj RB1403, 2014).

Tabela 11. Zasejane površine pšenicom i njena proizvodnja u Srbija od 2007. do 2013.g.

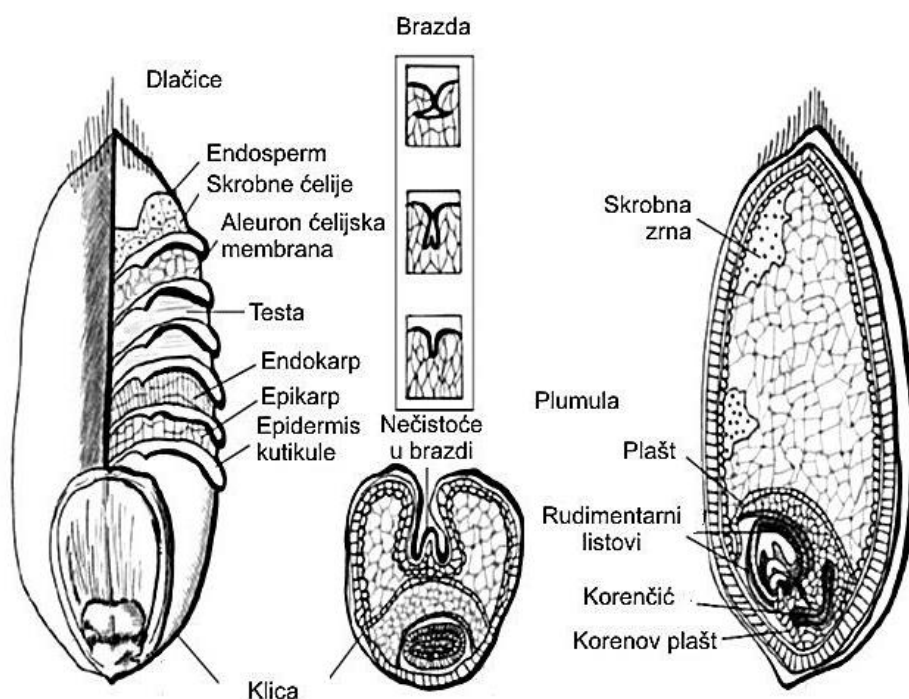
pšenica	2009.	2010.	2011.	2012.	2013.	2014.
Površina (HA)	570,000	488,000	490,000	480,000	600,000	550,000
Proizvodnja (MT)	2,130,000	1,650,000	2,000,000	1,900,000	2,490,000	2,400,000

Izvor: Christien Sloop i Tatjana Maslac (2013) Srpska zvanična statistika

2.3.1.1. Opis i struktura zrna pšenice

Pšenica koja se najviše koristi kao hlebna pšenica je *T. aestivum*. Ova vrsta deli mnoge morfološke i hemijske karakteristike sa drugim vrstama pšenice koje se komercijalno koriste. Slika 11. pokazuje cariopsis ili jezgro pšenice uzdužno i u preseku. U preseku pšenično zrno je ~ 2,5 - 3,0 mm debljine (ili visine, ako stoji na svojoj osnovi), 3,0 - 3,5 mm širine i 6,0 - 7,0 mm u dužinu. Pšenična zrna su prosečno teška ~ 30 - 40 mg (Delcour i Hosenei, 2010). Pšenično zrno sadrži 2 - 3% klice, 13 - 17% mekinja i 80 - 85% brašnavog endosperma.

Glavne morfološke karakteristike pšeničnog zrna su njegov ovalni oblik, embrion na jednom kraju i čuperak dlačica koje prave „četku“ na drugom kraju. Pšenično jezgro ima uzdužni nabor (izduženi region uporedo sa svojom uzdužnom osom) na svojoj ventralnoj strani (preko puta embriona) i zaokruženo je na dorzalnoj strani (na istoj strani kao embrion). Boja jezgra varira od svetlo bež ili žute do crveno smeđe u zavisnosti od prisustva ili odsustva crvenog pigmenta u omotaču semena. Poznata su i ljubičasta i crna zrna, ali nisu uobičajena. Vrsta i prisustvo pigmenta su pod kontrolom tri odvojena genetska lokusa (Freed i sar., 1976).



Slika 11. Uzdužni i poprečni presek zrna pšenice

Izvor: Arendt i Zannini (2013)

Omotač semena i pigmentni lanac nisu isto tkivo, ali zajedno oni čine potpuni pokrivač oko semena. Oni kontrolišu odnos vode između zatvorenih semena i okoline tokom zrele faze (Delcour i Hosenei, 2010). Omotač semena se sastoji od tri sloja: debeli spoljni omotač, sloj koji sadrži pigmente i unutrašnji tanki omotač. Omotač semena se sastoji od dva sloja kompresovanih ćelija od celuloze koje sadrže malo ili nimalo pigmenta. Aleuronske ćelije sadrže velika jezgra i veliki broj aleuronskih granula. One imaju relativno visok sadržaj pepela, proteina, ukupnog fosfora, fitatnog fosfora, masti i niacina. Pored toga, koncentracije tiamina i riboflavina su veće u aleuronu nego u drugim delovima mekinja. Osim toga, aleuronski sloj je posebno bogat enzimima koji igraju ključnu ulogu u procesu klijanja (Anonymous, 2000). Oko embriona, aleuronske ćelije su modifikovane, postaju ćelije sa tankim zidom, a mogu i da ne sadrže aleuronske granule (Delcour i Hosenei, 2010). Aleuronske ćelije su takođe česte kao rezerva za skladištenje lipida. Većina aleuronskog sloja je uklonjena kao deo mekinja tokom mlevenja (Dexter i Wood, 1996).

Pšenični embrion, zvani „klica“ od strane mlinara, čini 2,5 - 3,5% jezgra i leži na donjoj dorzalnoj strani perikarpa. Klica ima relativno visoku koncentraciju proteina (25%), šećera (18%), i to pretežno saharoze i rafinoze i pepela (5%). Od svih komponenti pšeničnog jezgra ona takođe ima najveću koncentraciju lipida (16%) i vitamina E rastvorljivog u lipidima, sa koncentracijama do 500 ppm (Delcour i Hosenei, 2010). Takođe, ima najveći sadržaj vlage od svih sastojaka u zrelom zrnju (Song i sar., 1998). Međutim, u klici se ne nalaze svi vitamini rastvorljivi u vodi u njihovim najvišim koncentracijama. Ipak, upotreba pšeničnih klica je i dalje predstavlja izazov zbog svoje loše stabilnosti i prisustva antinutritivnih faktora kao što su: (1) rafinoza koju ne digestiraju enzimi pankreasa, već se metaboliše pomoću gasnih bakterija koje proizvodi debelo crevo, čime izaziva poremećaj kao što je nadutost (Rizzello i sar., 2010); (2) fitinska kiselina koja značajno smanjuje biodostupnost minerala (Febles i sar., 2002); i (3) aglutinin pšeničnih klica (WGA) koji je odgovoran za hiperplastični i hipertrofični rast tankog creva i pankreasa (Matucci i sar., 2004).

Zidove ćelija endosperma čine oko 75% polisaharidi, koji se sastoje od oko 70% arabinoksilana, 20% (1-3) (1-4) β -glukana, 7% β -glukomanana i 2% celuloze (Bačić i Stone, 1980). Proteini su takođe prisutni na nivou od oko 15%. Skrob i pro-

teini, dve velike rezervne komponente za skladištenje u zrnu pšenice i drugih žitarica *Triticum*, čine većinu endosperma. U skrobnom endospermu, skrobne granule su okružene proteinskim matriksom. Protein je uglavnom gluten, skladišni protein u pšenici.

2.3.1.2. Nutritivna vrednost pšenice

Pšenica je jedna od glavnih žitarica u ishrani svetske populacije. Stoga ima veliki uticaj na nutritivni kvalitet obroka konzumiranih od strane velikog broja ljudi, a samim tim i na njihovo zdravlje. Pšenica sadrži skrob koji je izvor energije, obezbeđuje i protein gluten koji je odgovoran za formiranje viskozno-elastičnog testa, a to je posebno potrebno kod pečenja hleba sa kvascem. Ovi glutenski proteini su neophodni za proizvodnju raznovrsne hrane na bazi pšenice širom sveta. Uprkos relativno niskim sadržajem proteina u pšenici (obično 8 - 15%) i dalje daje onoliko proteina za ljudsku ishranu i ishranu stoke koliko i ukupna proizvodnja soje, koja se procenjuje na oko 60 miliona tona godišnje (Shewri, 2007). Kompoziciona distribucija proteina u zrnu pšenice je prikazana u Tabeli 12.

Tabela 12. Kompoziciona distribucija proteina u glavnim žitaricama

žitarica	Albumin	Prolamin	Globulini	Glutelin
Ječam	~ 12	25 – 52	8 – 12	52 – 55
Kukuruz	4 – 8	47 – 55	3 – 4	38 – 45
Ovas	10 – 20	12 – 24	12 – 55	23 – 54
Pirinač	5 – 11	2 – 7	~ 10	77 – 78
Raž	10 - 44	21 – 42	10 – 19	25 – 40
Kineska šećerna trska	~ 4	~ 48	~ 9	~ 37
Pšenica	9 - 15	33 - 45	6 - 7	40 - 46

Izvor: Pascoe i Fulcher (2007).

Nutritivni kvalitet proteina se određuje njihovim sadržajem esencijalnih aminokiselina, tj. onih koje životinje ne mogu sintetisati i zato se moraju obezbediti u ishrani. Deset aminokiselina su strogo esencijalne: lizin, izoleucin, leucin, fenilalanin, tirozin, treonin, triptofan, valin, histidin i metionin. Međutim, često je uključen i cistein, iako se može sintetisati samo iz metionina (koji je sam esencijalan). Poređenje kompozicije aminokiselina pšeničnog brašna sa nivoima esencijalnih aminokiselina koju preporučuje FAO / WHO / UNU za odrasle, pokazuje da pšenici nedostaje samo lizin, a da su neke od esencijalnih aminokiselina prisutne u znatno većim količinama.

Najvažnije komponente pšeničnih dijetetskih vlakana su neskrbni polisaharidi arabinoksilan (AKS), β -glukan mešovitih veza (u daljem tekstu β -glukan), celuloza i ne-polisaharidno jedinjenje lignin koji su svi komponente ćelijskog zida. Dijetna vlakna uglavnom potiču od polimera iz ćelijskog zida: AKS (oko 70% suve materije ćelijskog zida skrobnog endosperma, manje količine (1-3) (1-4) β -D-glukana (oko 20%) i ostalih komponenti. AKS čini oko 2% od skrobnog endosperma, od kojih je jedna četvrtina do jedne trećine je rastvorljivo u vodi. Glavni sastojci mineralne frakcije u zrnu pšenice su fosfati i sulfati K, Mg i Ca. Tu su i značajne količine Fe, Mn, Zn i Cu, kao i tragovi mnogih drugih elemenata.

2.3.1.3. Antioksidativni profil pšenice

Fenolne kiseline, a posebno hidroksicinaminske kiseline se nalaze u pšenici (Liyana-Pathirana i sar., 2006). Vanilinska, *p*-kumarinska, ferulna i sinapinska kiselina su dominantne fenolne kiseline u celom zrnu pšenice. Što je brašno više rafinirano to će biti niži sadržaj njegovih ukupnih fenolnih jedinjenja. Žitarice se smatraju bogatim izvorom fenolnih kiselina koje se nalaze u mekinjastom sloju posebno u vezanoj formi u poređenju sa slobodnim i esterifikovanim oblicima (Liyana-Pathirana i Shahidi, 2006).

Glavni fenolni antioksidansi u pšeničnim mekinjama su: ferulna, vanilinska, *p*-kumarinska, kafena, protokatehinska, *p*-hidroksibenzoeva, gentizinska, hlorogenska i siringinska kiselina. Ferulna kiselina može biti zdravstveno korisna zbog svojih antioksidativnih svojstava (Thompson, 1994). Pored toga, za ferulnu kiselinu prisutnu u

pšeničnim mekinjama, je pokazano da ima efekat vezivanja nitrita, koji je efikasan kao i askorbinska kiselina pod kiselim uslovima (Møller i sar., 1988). Objavljeno je da je ukupna antioksidativna aktivnost zrna viša u pšenici ($76,7 \pm 1,38$ mmol vitamina C ekv/g zrna) nego u ovsu ($74,67 \pm 1,49$ mmol vitamina C ekv/g zrna) (Adom i Liu, 2002). Prema (Adom i Liu, 2002), vezana fitojedinjenja su dala veći doprinos ukupnoj antioksidativnoj aktivnosti u pšenici (90%), nego što je to slučaj sa ovsom (58%). Vezana fitojedinjenja se uključuju u proces varenja u debelom crevu, i tu mogu ostvariti antioksidativnu ulogu.

2.3.2. JEČAM

Ječam (*Hordeum vulgare L.*) je jedan od tri vrste roda *Hordeum* koji pripadaju porodicama *Triticeae* i *Poaceae* i jedna je od najstarijih gajenih biljaka (Akar i sar., 2004). Lokacija i starost prvih ostataka ječma su predmet mnogih diskusija. Wendorf i sar. (1979) su objavili rad o karakteristikam ostataka ječma iz Asuana u Egiptu od pre oko 18.000 godina. Ječam se gajio, kao usev, tokom bronzanog doba, oko 2000 pne (Munck, 1981).

Oblasti gajenja ječma se kreću od umerenih područja do suptropskih i tropskih zemalja (Wikipedia, 2016), iako je prilagođen različitim ekološkim uslovima, ali najbolje raste u umerenim klimatskim uslovima sa hladnim i umereno sušnim periodima (Poehlman, 1985). Ječam se koristi kao modelni eksperimentalni sistem zbog svog kratkog životnog ciklusa, morfoloških i fizioloških osobina i model za ispitivanje žitarica u oblasti genetike i genomike (Sreenivasul i sar., 2008).

Ječam je važan usev (Baik i Ulrich, 2008) i nalazi se na četvrtom mestu po proizvodnji žitarica u svetu i koristi se za ljudsku hranu, stočnu hranu i pivski slad. Ječam ima kratku sezonu i raste na veoma različitim okruženjima širom sveta. Ječam pripada rodu *Hordeum*, *Triticeae* iz porodice trava, *Poaceae* (takođe poznate kao i *Gramineae*). *Triticeae* je grupa biljaka iz umerenog pojasa i sadrži nekoliko grupa ekonomski važnih žitarica kao i oko 350 divljih vrsta.

Rod *Hordeum* je neobičan među *Triticeae* jer sadrži i jednogodišnje vrste, kao što su *H. vulgare*, *H. marinum*, kao i višegodišnje vrste kao što su *H. bulbosum* (Bothmer, 1992). Uzgojeni ječam je trava koja može biti ili prolećni ili zimski usev.

Rast ječma se može podeliti u nekoliko faza; klijanje, razvoj sadnica, bokorenje, rast stabljike, krupnjanje (pojava klasa), cvetanje i sazrevanje. Na globalnom nivou do 85% od proizvedenog ječma se koristi za ishranu životinja (Akar i sar. 2004). Druga najvažnija upotreba ječma je za dobijanje slada, koji se uglavnom koristi za proizvodnju pivo, a takođe se koristi i tokom proizvodnje žestokih pića, mlečnog slada i arome u raznim vrstama hrane. Zrna ječma i klice pivskog ječma sadrže značajnu količinu proteina (Akar i sar., 2004).

Ječam je jednogodišnja zeljasta monokotiledona trava. Tokom klijanja zrno ječma razvija korene sadnice, a zatim se pojavljuje koleoptil na površini tla, zameci omotača lista i kreću se u dužinu od 70 cm za patuljaste vrste, do više od 150 cm. Višestruke stabljike razvijene na pojedinačnoj biljci zavise od gustina sejanja i sorte. Šiljak (glava ili uho) je na vrhu stabljike, koja se sastoji od dva ili šest redova plodnih klasića (Slika 12) u kojima se razvijaju zreli plodovi (Wikipedia, 2016).

U Srbiji, ječam je sekundarna žitarica. Površine zasejane ječmom se stalno smanjuju u rasponu od 80.000 do 130.000 ha tokom proteklih osam godina. Ukupna proizvodnja varira od 250.000 do 450.000 MT godišnje. U sezoni 2012/13, ječam je zasejan na 78.000 ha, od čega je 50.000 ha bilo ozimi ječam i 28.000 ha je bio jari ječam. U sezoni 2012/13 proizvodnja ječma je iznosila 269.000 MT i sa prosečnim prinosom od 3, 45 MT / ha. Rod ječma nije bio pogođen letnjom sušom i proizvedeni ječam je bio dobrog kvaliteta (Godišnji izveštaj za pšenicu, kukuruz i ječam, GAIN Izveštaj broj: RB1302, 2013).



Slika 12. Ječmeni klasić: dva i šest redova.

Izvor: Wikipedia BarleyEars.JPG. (2016)

2.3.2.1. Opis i struktura kultivisanog zrna ječma

Zrna ječma su generalno veća i šiljatija od pšenice i imaju svetlo žutu boju. Međutim, boja može da varira od svetlo žute do purpurne, ljubičaste, plave i crne, što je uglavnom uzrokovano nivoima antocijana u ljusci, perikarpu i/ili aleuronskom sloju (Baik i Ullrich, 2008).

Visoko obojeni tipovi imaju trbušne nabore koji su tanji od onih kod pšenice i raži, a njihovo prisustvo je maskirano složenom plevicom (Kent i Evers, 1994a). Ovi obojeni tipovi dobijaju na pažnji za primenu u proizvodima funkcionalne hrane zbog svojih antioksidativnih svojstava (Satué-Gracia i sar., 1997; Nam i sar., 2006).

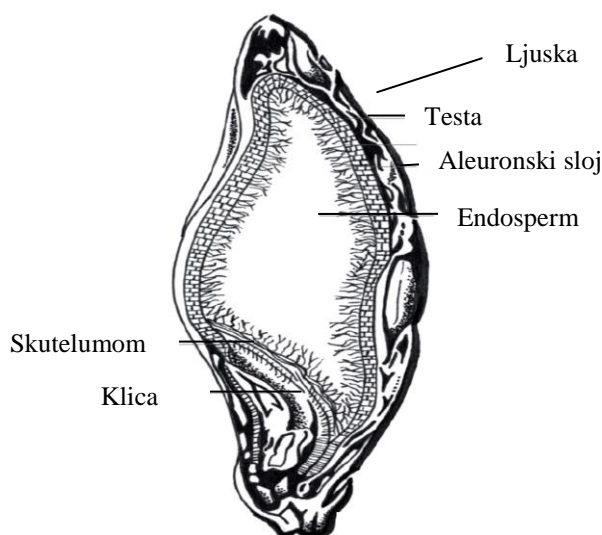
Anatomska struktura jezgra ječma je predstavljena na slikama 13 i 14. Sastoji se od okolnog omotača formirane od leme (dorzalne ljuske ili ljuske) i palee (ventralni ljuska ili ljuska), perikarpa, teste, aleuronskog sloja, endosperma i klice ili embriona. Palea je preklopljena duž ivica dorsalnom ljuskom koja, u većini sorti, završava apikalno u dugom sloju. U ventralnoj brazdi (naboru) jezgra postoji bazalna četkica, dlakava struktura, ostaci neplodnog floreta (Kunze, 2010).

Neke od karakteristika zrna su dragocene za razlikovanje jedne sorte od druge, posebno kada karakterizacija mora da se uradi na ovršenim zrnima. U neoljuštenom ječmu ljuspice ostanu vezane za perikarp, kada je zrno vršeno (Kent i Evers, 1994), dok su u ljuštenom ječmu ljuspice otkinute kada se vrši zrno. Ljuska i perikarp se sastoje uglavnom od celuloze, hemiceluloze, lignina i lignana. Ljuska se sastoji uglavnom od celuloze, male količine polifenola, gorkih materija i taninske kiseline koji mogu imati negativan uticaj na kvalitet piva. Ona takođe sadrži najveću količinu minerala, kao i embrion i endosperm (Izydorczyk i Dexter, 2004).

Aleuronski sloj (slika 13) okružuje endosperm i sastoji se od ćelija bogatih proteinima koji sadrže enzime koji su uključeni u mobilizaciju rezervi endosperma (Jadhav i sar., 1998). Aleuron igra ključnu ulogu u regulaciji ekspresije endosperm-razgrađujućih enzima u toku klijanja. Druge supstance, kao što su masti, polifenoli i pigmenti, su deponovane u stabilnim proteinskim strukturama ovog sloja. Predstavljajući do približno 75% ječmenog zrna, endosperm je skrobna masa u matrici proteina i predstavlja izvor hranljivih materija za embrion u razvoju (Jadhav i sar., 1998).

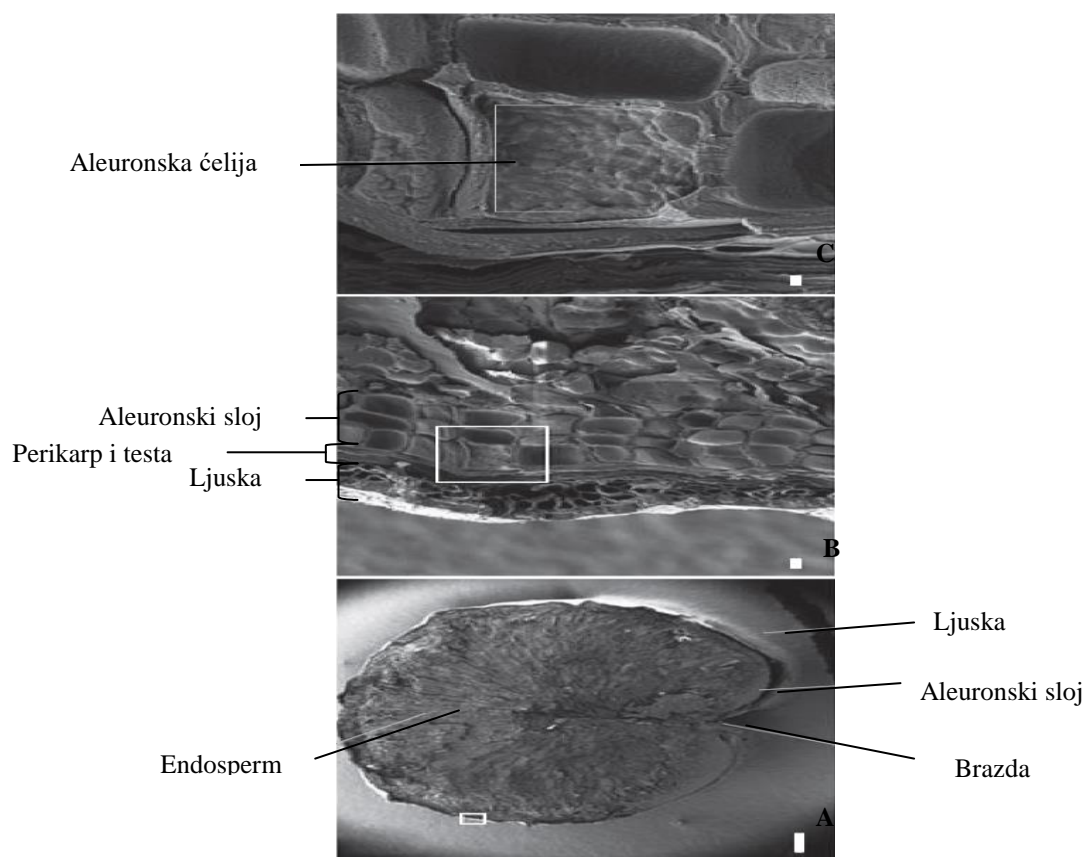
Embrion se nalazi na kraju perikarpa na njegovoj dorzalnoj strani i odvojen je od endosperma tankim slojem tkiva, skutelumom. Embrion predstavlja oko 2.5% po masi ječmenog zrna i bogat je proteinima (34%), lipidima (14 - 17%) i pepelom (5 - 10%), a i veoma je bogat šećerima (saharoza, 15%, rafinoza, 5% i fruktozani 10%) (Izydorczyk i Dexter, 2004).

Ćelijski zidovi skuteluma se sastoje uglavnom od hemiceluloze i proteina (17-20%) i takođe sadrže neke od fenolnih jedinjenja (uglavnom ferulna kiselina), minerale, fitin i šećere (uključujući saharozu, rafinozu, fruktane) (Izydorczyk i Dexter, 2004). Ovo tkivo luči hormone koji stimulišu sintezu enzima i njihovo oslobađanje. Enzimi hidrolizuju skrob i proteine iz endosperma u cilju proizvodnje hrane za rastuću sadnicu.



Slika 13. Zrno ječma u preseku po dužini

Izvor: Arendt i Zannini (2013)



Slika 14. Struktura zrna ječma segmentirane poprečno (a) sa detaljima ljuske (b) i skrobnog endosperma (c).

Izvor: Arendt i Zannini (2013)

2.3.2.2. Nutritivna vrednost ječma

Zrno ječma ima zdrav nutritivni profil. Ono ima visok sadržaj dijetnih vlakana, naročito β -glukana, a takođe i vitamina i minerala. Postoji velika varijacija u sadržaju različitih hemijskih sastojaka ječma zbog genotipa i okoline, kao i zbog interakcije između njih. Glavne komponente su skrob, dijetetska vlakna i proteini (Aman i Newman, 1986; Oscarsson i sar., 1996).

Kompoziciona distribucija proteina u zrnu ječma je prikazana u Tabeli 12. Masti, pepeo i šećeri niskih molekularnih težina su manje prisutne komponente (Aman i sar., 1985). Glavna prehrambena vlakna u ječmu su β -glukan i arabinoksilan, koji predstavljaju 3-11% i 4-7% suve materije (Aman i Graham, 1987; Miler i Fulcher, 1994). Sadržaj β -glukana je takođe veoma različit u različitim vrstama ječma.

Ječam sa voskastim i visoko-amiloznim skrobovima imaju veći sadržaj β -glukana nego ječam sa normalnim skrobom (Ullrich, 1986; Oscarsson i sar., 1996). Ječam sadrži 2% - 3% minerala (Newman i Newman, 2008). Minerali su svrstani u dve glavne grupe, makro i mikro elemente, na osnovu njihove koncentracije u hrani. Mineralni elementi u ječmu su uglavnom koncentrisani u embrionu, perikarpu i aleuronskom sloju (Markoni i sar., 2000). Embrion pokazuje visoke koncentracije Mn (>30%), dok aleuronske subfrakcije imaju najveću koncentraciju Mg. Distribucija Cu, Zn i Fe je takođe mnogo veća na ventralnoj strani u poređenju sa dorzalnom stranom. Najprisutniji makroelementi u ječmu su P, K i Si, a među mikroelementima su glavni predstavnici Fe, Mn i Zn. U nutritivnom smislu fosfor je najvažniji element, a u zrnu ječma je prisutan u obliku fitinske kiseline.

Zrno ječma sadrži sve vitamine i holin sa izuzetkom vitaminima A, D, K, B₁₂ i C. Od glavnih žitarica, ječam sadrži najveću količinu u masti rastvorljivog vitamina E (tokoli, Kerchoffs i sar., 2002). Ječam sadrži svih osam izomera, četiri tokoferola (α -T, β -T, γ -T i δ -T) i četiri tokotrienola (α -T3, β -T3, γ -T3 i δ -T3) (Morrison, 1978).

2.3.2.3. Antioksidativni profil ječma

Polifenoli, kao što su proantocijanidinski oligomeri, uključujući procijanidine B3 i C3 i prodelfinidin B3 i C3 su prisutni u mekinjama ječma (McMurrough i sar., 1996) i pokazano je da ispoljavaju slične ili veće antioksidativne aktivnosti nego katehin (Tamagava i sar., 1999). Ječam sadrži širok spektar fenolnih antioksidanata, uključujući derivate benzojeve i cimetne kiseline, flavonole, flavone, flavanone, čalkone, proantocijanidine, kvinone i amino fenolna jedinjenja prisutna u slobodnim i vezanim formama (Hernanz i sar., 2001).

Sadržaji vezane ferulne kiseline (50 mg/kg) i *p*-kumarinske kiseline (3 mg/kg) u ječmu su mnogo niži nego kod ostalih žitarica (Clifford, 1999). Tokom fermentacije ječmenih mekinja, može nastati novi ljubičasti pigment koji se zove hordeumin, koji je vrsta antocijanin-taninskog pigmenta.

Aktivnost vezanja slobodnih radikala od strane ovog fenolnog jedinjenja se povećava sa dužinom fermentacije (Tamagava i sar., 2000). Pretpostavlja se da je aktivnost vezanja slobodnih radikala hordeuma rezultat aktivnosti proantocijanidina.

2.3.3. OVAS

Ovas je žitarica poreklom iz Mediterana (Iberijsko poluostrvo, severozapadna Afrika) i Bliskog istoka (Iran, Irak i Turska). Međutim, ovas se i dalje smatra kao jedna od najstarijih kultura koju gaji čovečanstvo. Zrna ovsa koja datiraju iz 10500 godine pre nove ere su pronađena u pećini Franchti u Grčkoj (Hansen i Renfrew, 1978; Youngs i sar., 1982, Murphy i Hoffman, 1992)).

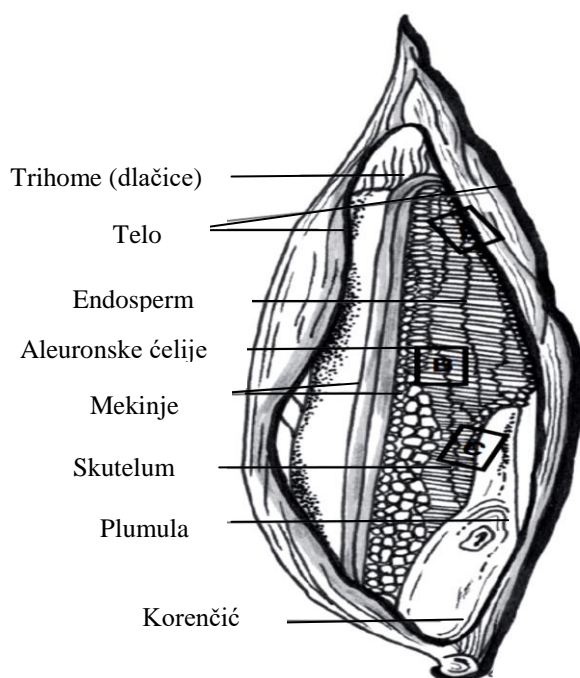
Ovas je donešen u SAD i južnu Kanadu između 1500 - 1800, kao stočna hrana od strane imigranata i istraživača iz Velike Britanije i Španije, a isto tako i u Australiju i Novi Zeland, gde je postao važan zimski usev. Danas je proizvodnja ovsa šesta po statistici svetske proizvodnje, nakon kukuruza, pšenice, ječma, sirka i prosa. Ovas predstavlja ~ 1% od ukupne proizvodnje žitarica. Širom sveta, proizvodnja ovsa je u stalnom opadanju, jer je potražnja ovsa za ishranu konja naglo smanjena, a i farme su postale mehanizovane.

Ipak, u poslednjih pet godina proizvodnja ovsa se stabilizovala na nešto više od 24 miliona tona. Kanada, Rusija, SAD, 27 država Evrope (EU) i Australija predstavljaju ~ 77% svetske ponude zrna ovsa, semena i ovsa industrijske klase. Prinos u većini regiona kreće se od 1,4 do 3,7 tona/ha⁻¹, a prosečan globalni prinos je 2,24 tona/ha⁻¹. Najveći prinos se javlja u Irskoj sa 7,1 suvih tona/ha⁻¹ i više od tri puta je veći od prosečnog globalnog prinosa.

2.3.3.1. Opis i struktura zrna ovsa

Struktura zrna ovsa je prikazana na slici 15. Krupa (plod) nalazi se na suprotnoj strani od embriona. Krupa je čvrsto pokrivena trupom ili ljuskom koja se razvila iz leme i palee.

Ljuska predstavlja oko 30 - 40% od ukupne mase zrna i uglavnom se sastoji od celuloze i hemiceluloze (Welch, 1995) sa jednim manjim delom lignina ili povezanih fenolnih jedinjenja. Unutar zaštitne ljuske, krupa ima sličan izgled kao druge uobičajene žitarice (Slika 15), kao što su pšenica i ječam iako je plod (krupa) ječma duži i tanji nego kod pšenice ili ječma. Ona je, međutim, pokrivena brojnim trihomama (ili kosastim izbočinama) lociranim uglavnom na distalnom kraju jezgra.



Slika 15. Struktura i anatomija zrna ovsa.

Izvor: Arendt i Zannini (2013)

Krupa (plod) se sastoji od tri glavna dela: mekinja, endosperma i klica. Klica čini 3% od težine ploda, mekinje su 38 - 40% i skrobni endosperm je 58 - 60% (Lásztity, 1998). Razlike su kako zbog različitih vrsta kao i zbog životne sredine u kojoj rastu. Polazeći od spoljne strane ploda, mekinjasti slojevi ploda, a posebno aleuronski sloj, naročito su bogati vitaminima, mineralima, fitatom i antioksidantima (Marlett, 1993; Kent i Evers, 1994). Mekinjasti sloj se sastoji od perikarpa, omotača semena, aleuronskog sloja i veći deo ispod aleurona, skrobnog endosperma kojeg ima više nego u pšeničnim mekinjama.

Hemijski, ovas mekinje sadrže 67,9% ugljenih hidrata, 15 - 22% dijetetskih vlakana i proteina, 10,4% β -glukana, 8,6% masti, 1,3 mg/100 g niacina, 171 mg/100g magnezijuma, 6,4 mg/100 g gvožđa, 0,17 mg/100 g bakra, 441 mg/100 g kalijuma i manje od 0,5 mg/100 g α -tokoferola (Marlett, 1993). Endosperm je primarno mesto za skladištenje proteina, skroba, lipida i β -glukana i ograđen je samo jednim tipom ćelija. β -glukani se uglavnom nalaze u zidu ćelija endosperma. Oni su nerazgranati polisaharidi β -D-glukopiranozil jedinica sa 70% 1 - 4 povezanih i do 30% 1-3 povezanih (Butt i sar., 2008). Većina proteina, lipida i β -glukana se nalaze u perifernim regionima skrobnog endosperma, dok u unutrašnjim regionima zrna, skrob dominira (Miller i Fulcher, 2011).

Sa hemijske tačke gledišta, klica ovasa sadrži visoke nivoe proteina i lipida, ali veoma malo skroba. Proteinska tela klice (skutelarna parenhima) sadrže fitinske globoide koji sekvstriraju veći deo fosfora u plodu, kao i gvožđe, magnezijum, mangan, kalijum i kalcijum doduše u manjim količinama (Buttrose, 1978). Botanički gledano, embrion predstavlja oko 3% od ukupne mase zrna. Formirana je od embrionalne ose i skuteluma i predstavlja pouzdanu strukturu sposobnu metaboličke aktivnosti.

2.3.3.2. Nutritivna vrednost ovasa

Ovas (*Avena sativa*) je odličan izvor energije iz njegovih ugljenih hidrata i bogat je izbalansiranim proteinima sa korisnim sastavom esencijalnih amino-kiselina, povoljnom profilu masnih kiselina, sa visokom količinom nezasićenih masnih kiselina i velikom količinom u vodi rastvorljivih β -glukana i antioksidanata (Hahn i sar., 1990; Butt Sadik i sar., 2008). On je takođe dobar izvor nekoliko mikronutrijenata, uključujući minerale, kao što su bakar, cink, kalcijum, gvožđe, magnezijum i mangan, tokoferola, tiamina (B1), riboflavina (B2) i piridoksina (B6) (Souci i sar., 2008 ; Belitz i sar., 2009).

Ovas takođe sadrži nekoliko fitojedinjenja, uključujući fenolne kiseline, flavonoide, sterole i fitinsku kiselinu. Ona daju dobre količine rastvorljivih i nerastvorljivih vlakana. Rastvorljiva vlakna ovasa su u posebnom obliku poznatom kao β -glukan. Istra-

živanja pokazuju da kada se ovaj oblik vlakana konzumira kao deo zdrave niskomasne ishrane, ona mogu da smanje rizik od koronarne bolesti srca smanjivanjem nivoa holesterola u krvi. Bilal i sar., (2014), su pronašli da postoji metabolički uticaj dijete sa mnogo vlakana ovsa (dobijenih od ovsenih mekinja) na nivo glukoze u krvi i ukupni holesterol kod grupa mužjaka pacova sa aloksan indukovanim dijabetesom i indukovanom hiperholesterolemijom. Nerastvorna vlakna ovsa stvaraju veliku masu u crevima i tako mogu razblažiti delovanje karcinogena, čime se smanjuje rizik od raka debelog creva.

Takođe je objavljeno da konzumacija ovsa povećava sposobnost širenja arterija. Pored toga, ovas ima jedinstvene polifenole sa antioksidativnom aktivnosti koji se nazivaju avenantramidi, koji se nalaze samo u zrnu ovsa. Ovsena zrna karakteriše posebno dobar hemijski sastav, a kombinacija nutrijenata prisutnih u ovoj sirovini ga čini korisnim sastavnim delom ljudske ishrane (Hahn i sar., 1990; Bartnikowska i sar., 2000; Butt Sadik i sar., 2008).

Najveći deo ovsenih proteina je izgrađen od globulina (oko 80% ukupnih proteina), a ostatak (odnosno oko 20%) od prolamina i glutenina (Pedo i sar., 1999; Bartnikowska i sar., 2000; Salehifar i Shahedi, 2007; Sontag-Strohm i sar., 2008). Visok procenat globulina je tipičan samo za ovsene proteine (Tabela 12) jer u ostalim žitaricama, ova frakcija predstavlja samo oko 10-15% svih proteina (Bartnikowska i sar., 2000, Salehifar i Shahedi, 2007; Kohajdova i Karovičova, 2008).

Tradicionalno, žitarice (pšenica, ječam i ovas) predstavljaju vodeće poljoprivredne proizvode u velikom broju zemalja širom sveta. Za većinu stanovništva one su i dalje glavna hrana. Preko 50% energetske vrednosti jednog prosečnog dnevnog obroka u ishrani svetskog stanovništva je obezbeđena od strane ove grupe proizvoda. Osim visokog udela koji imaju u ishrani stanovništva, žitarice predstavljaju osnovu za intenzivniji razvoj stoke, a takođe su značajna industrijska sirovina (Đorović i sar., 2006).

2.3.3.3. Antioksidativni profil ovsas

Iako je β -glukan najpoznatije zdravstveno benefitno jedinjenje u zobi, druga jedinjenja kao što su nutritivno atraktivne masne kiseline i steroli u lipidima, kao i druga manja bioaktivna jedinjenja mogu povećati zdravi imidž ovsas. Fenolna jedinjenja i tokoli se uglavnom smatraju odgovornim za antioksidativne aktivnosti ovsas (Hammond, 1983; Forssell i sar., 1990). Steroli iz ovsas takođe imaju antioksidativne osobine (White i Armstrong, 1986; Kahlon, 1989). Forssell i sar. (1992) navode da je lecitin iz ovsas bolji antioksidans od lecitina iz soje ili uljane repice. Emmons i sar. (1999) su utvrdili da je sadržaj ukupnih fenolnih jedinjenja u ovsu značajno u korelaciji sa antioksidativnom aktivnosti. Ovas sadrži uglavnom tokole rastvorljive u lipidima (vitamin E) i vodorastvorane vitamine B grupe. Glavni tokoli u ovsu su α -tokoferoli i α -tokotrienoli (Hammond, 1983).

Ovas i ovseni proizvodi sadrže visoke količine tiamina i pantotenske kiseline (Lockhart i Hurt, 1986) i posebno su bogati biotinom u poređenju sa drugim žitaricama (Lasztiti, 1998). Fenolna jedinjenja deluju kao deo odbrambenog mehanizma biljaka, štiteći biljku od patogena, štetočina i drugih uslova stresa (suše, ultraljubičaste svetlost, itd). Oni poseduju antimikrobna, antioksidativna i antikarcinogena svojstva (Pratt, 1992). Ovas sadrži hinone benzoeve kiseline, derivate cimetine kiseline, flavone, flavonole, flavanone, antocijanidine, aminofenole i prekursore ovih jedinjenja (Collins i Webster, 1986). Ovseno brašno sadrži 87 mg/kg fenolnih kiselina, a glavna komponenta je ferulna kiselina (Sosulski i sar., 1982).

Avenantramidi su posebni fenoli u ovsu, koji se smatraju centralnim jedinjenjima mehanizma odbrane (Collins, 1989; Dimberg i sar., 1993). Avenantramidi su pokazali da imaju jaku antioksidativnu aktivnost (Peterson i sar., 2001) i avenantramidi se javljaju kao konstitutivne komponente zrna ovsas (Mattila i sar., 2005). U listovima ovsas avenantramidi nisu otkriveni, sve dok listovi nisu inokulisali sa patogenom zvanim rđa ovsene krunice, *Puccinia coronata* f. *Sp. avenae* (Miiagava i sar., 1995) ili drugim gljivičnim elicitorom kao što je viktorin. Klijanje značajno povećava količinu avenantramida (Kaukovirta-Norja i sar., 2001).

2.4. KLIJANCI OVSA, JEČMA I PŠENICE KAO KOMPONENTE FUNKCIONALNE HRANE

U poslednjim decenijama prošlog veka pažnja stručnjaka, koji se bave zdravom ishranom, se sve više okretala prema određivanju biološke vrednosti nutritivnih klijanaca (Penas i sar., 2008). Brojne studije su pokazale da se nutritivni i hemijski profil menja posle klijanja zrna žitarica, kao što su pšenica, ječam i ovas (Price, 1988). Proces klijanja podrazumeva niz aktivnih i složenih biohemijskih i fizioloških reakcija, što dovodi do opsežnih promena u sastavu i / ili morfologiji (Lin i sar., 2006; Chiou i sar., 1997). Klijanci se formiraju iz semena u toku klijanja. Klijanci su izvanredni izvor proteina, vitamina i minerala i sadrže i hranjive materije bitne za održavanje zdravlja, kao što su glukozinolati, fenoli, jedinjenja koja sadrže selen i flavonoidi. (Sangronis i Machado, 2007).

2.4.1. PŠENIČNI KLIJANCI

Klijanci su poznati veoma dugo, uglavnom u istočnim zemljama, a poslednjih nekoliko godina su postali veoma popularni i široko prihvaćeni kao funkcionalna hrana zbog svojih nutritivnih i zdravstvenih osobina. Hidrolitički enzimi aktivirani tokom procesa klijanja pšenice dovode do degradacije skroba i drugih polisaharida, kao i proteina, što dovodi do povećanja redukovanih šećera, rastvorljivih dijetalnih vlakana, peptida i aminokiselina, kao i oslobađanja nerastvornih fenolnih jedinjenja, koji su kovalentno vezani za polisaharide ćelijskog zida (Hung i sar., 2012).

Biohemijski procesi, koji se javljaju tokom klijanja, mogu da generišu biološki aktivne komponente, kao što su riboflavin, tiamin, biotin, pantotensku kiselinu, niacin, vitamin C, tokoferol i fenolna jedinjenja i mogu povećati njihovu biodostupnost (Moongngarm i Saetung, 2010). Klijanje pšenice je predloženo kao jeftin i efikasan metod za unapređenje antioksidativnog kapaciteta brašna povećanjem količine antioksidanata male molekulske mase (Alvarez-Jubete i sar., 2010). Poboljšanjem efikasnosti hidrolitičkih enzima, klijanje podržava biohemijske mehanizme kod ljudi, i

stoga se može smatrati nekom vrstom predvarenja koje pomaže da se razbiju visokomolekulska kompleksna jedinjenja u njihove gradivne komponente za koje se smatra da imaju mnoge fiziološke aktivnosti koje utiču na bolesti opasne po život (Komatsuzaki i sar., 2007).

Za razliku od povećanja nivoa bioaktivnih jedinjenja tokom klijanja, druge osobine klijane pšenice važne za pečenje hleba se drastično smanjuju, čineći tako njihovo korišćenje ograničenim.

Osim toga, zbog povećanog sadržaja slobodnih aminokiselina i redukujućih šećera, klijana pšenica može potencijalno promovisati Maillardovu reakciju (Abderahim i sar., 2012). Žilić i sar. (2014) su utvrdili da klijanje brašna od integralnog žita povećava njegovu nutritivnu vrednost. Tokom klijanja intenzivna je biosinteza tokoferola, niacina i riboflavina u embrionalnoj osi. Povećanje koncentracije fenolnih jedinjenja uslovljeno biosintezom ili oslobađanjem tih jedinjenja putem indukovane enzimske hidrolize tokom klijanja, doprinosi povećanju antioksidativnog kapaciteta cele pšenice / brašna.

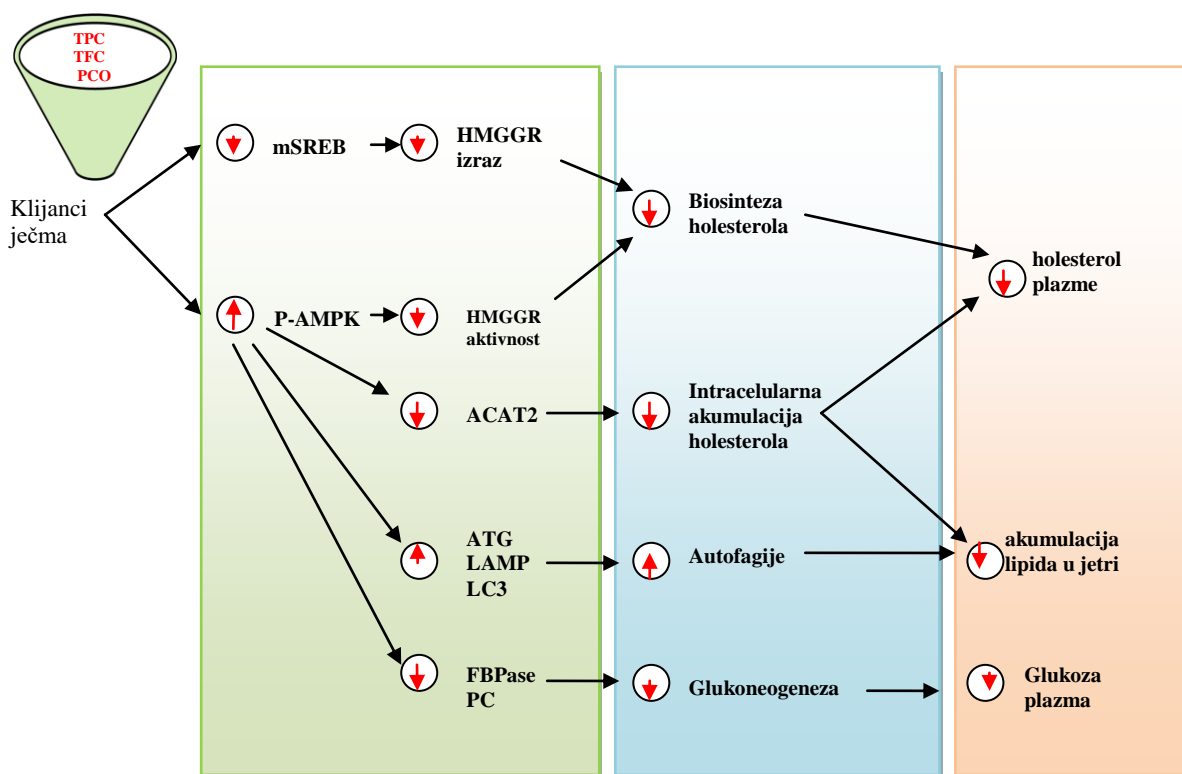
2.4.2. JEČMENI KLIJANCI

Ječam je jedan od najvažnijih svetskih useva. To je zato što njegova zrna nisu samo odličan izvor energije, nego se takođe i široko koristi u procesuiranim namirnicama zbog svog jedinstvenog ukusa i fiziološke koristi. Ječmeni klijanci privukli su veliku pažnju poslednjih nekoliko godina kao funkcionalna hrana u mnogim zemljama, a posebno u Japanu i Koreji. Objavljeno je da listovi ječma poseduju korisna svojstva, kao što antioksidativna, hipolipidemična, antidepresivna, kao i antidiabetične efekte (Kamiiama i Shibamoto, 2012; Yu i sar., 2002). Ovako raznolik spektar zdravstvene koristi je verovatno zbog prisustva širokog spektra sekundarnih metabolita koji se nalaze u ječmu.

Na primer, Ferreres i sar., (2009) su objavili da ječam sadrži 28 fenoliranih glikona koji su rastvorljivi u vodi, a čija je najprisutnija komponenta izoorientin-7-O-glikozid (lutonarin). Nedavno je utvrđeno da su saponarin i lutonarin odgovorni za jako antioksidantno delovanje mladih zelenih listova ječma (Kamiiama i Shibamoto,

2012; Benedet i sar., 2007). Ekstrakti ječmenih klijanaca (BS) sadrže polikosanole sa značajnim nivoima polifenola. Polikosanoli se uglavnom nalaze u vosku biljne kutikule i prirodna su mešavina dugolančanih alkohola koji imaju između 24 i 32 atoma ugljenika i mogu smanjiti koncentraciju holesterola u plazmi putem AMPK zavisne fosforilacione inhibicije HMGCR (Sing i sar., 2006).

Seo i sar. (2013), su objavili da koncentracija polikosanola (PCs) raste u fazi rasta ječmenih izdanaka do 10 dana posle klijanja, a zatim se smanjuje. PCs su mešavina zasićenih linearnih, dugolančanih (C_{20} - C_{34}) primarnih alkohola iz voskova biljaka, a snižavaju holesterol, sprečavaju oksidaciju lipoproteina male gustine (LDL) i agregaciju trombocita (Singh i sar., 2006; Viola i sar., 2008; Sakouhi i sar., 2010). Veruje se takođe da su ova jedinjenja efikasna u prevenciji ateroskleroze i tromboembolijskih poremećaja. Lee i sar. (2015), su pokazali da klijanci ječma (BS) regulišu AMP-aktivirane protein kinaze (AMPK), sterolni regulatorni element vezujućih proteina-2 (SREBP2) i acetil-CoA acetiltransferazu-2 (ACAT2) sa višestrukim biološkim mehanizmima, što rezultira smanjenim nivoima plazma LDL holesterola i koncentraciji glukoze, vodeći poboljšanju stanja steatoze jetre. Klijanci ječma indukuju akumulaciju hepatičnih lipida aktiviranjem autofagijskog puta (Slika 16).



Slika16. Uticaj klijanca ječma na metabolizam holesterola i glukoze

Ilona i sar. (2011), su utvrdili da je sadržaj ukupnih fenolnih jedinjenja i vitamina E različitih sorti ječma povećan posle njegovog natapanja i klijanja u poređenju sa celim zrnima.

2.4.3. OVSENI KLIJANCI

Poslednjih nekoliko godina, ovas je privukao istraživačku i komercijalnu pažnju uglavnom zbog visokog sadržaja β -glukana i fenolnih jedinjenja sa visokim antioksidativnim aktivnostima (Gray i sar., 2000; Liu i sar., 2004; Malkki i sar., 2004; Peterson i sar., 2001).

Proces klijanja je, takođe, jedna od metoda koja je korišćena za poboljšanje funkcionalnosti proteina iz semena ovsa (Kaukovirta - Norja i sar., 2004).

Tokom klijanja, proteini semena ovsa se razgrađuju i tako se povećava sadržaj rastvorljivih proteina (Wu, 1983) i time su poboljšana svojstva proteina ovsa bez potrebe za njihovom hemijskom modifikacijom.

3.0. MATERIJAL I METODE

Eksperimentalni deo ove doktorske disertacije je urađen u laboratorijama: Odeljenja za Organsku hemiju Tehnološkog Fakulteta Novi Sad, Univeziteta u Novom Sadu i Poljoprivrednog Fakulteta Novi Sad, Univeziteta u Novom Sadu.

3.1. HEMIKALIJE

Standardi i reagensi koji su korišćeni za kvantifikaciju i kvalifikaciju ukupnog sadržaja fenolnih jedinjenja (TPC) i ukupnog sadržaja flavonoida (TFC) su bili: galna, protokatehinska, vanilinska i siringinska kiselina. Katehinska, epikatehinska, kafena, hlorogenska, *p*-kumarna, ferulna, *p*-hidroksibenzoeva i sinapinska kiselina, kao i kvercetin, rutin, luteolin, miricetin, apigenin, isoramnetin, kempferol, Folin-Ciocalteu reagens i troloks reagens. nabavljeni su od Sigmee (Sigma - Aldrich Co., St Louis, SAD). 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH), 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolin-6-sulfonske kiseline) (ABTS⁺) radikali su korišćeni za analizu antioksidativnog kapaciteta zamrznutih klijanaca (FDS). Pepsin i pankreatin su korišćeni za simulaciju želudačnih i crevnih fluida (SGF, SIF) probave fenolnih jedinjenja. α -glukozidaza, 4-nitrofenil α -D-glukopiranozid i natrijum diklofenak korišćeni su za procenu antihiperglihemijske i antiinflamatorne aktivnosti. Svi drugi upotrebljeni reagensi i hemikalije u eksperimentalnom radu bili su analitičke čistoće, proizvedeni u Lach-Ner (Brno, Češka Republika).

3.2. BILJNI MATERIJAL I USLOVI KLIJANJA

Šest sorti žitarica ispitivanih u ovoj disertaciji: pšenica Spelt, Simonida, (WSSPE, WSSIM) ječam, hibrid "NS565" (*Hordeum vulgare L. ssp distichum.*) (BSNS) i ne-hibridna sorta "Golozrni" (*Hordeum vulgare var nudum.*) (BSG), i ovas Golozrni, Jadar (OSG, OSJ) su prikazani u slici (Slika 17). Sve sorte je donirao Institut za ratarstvo i povrtarstvo (NS seme), Novi Sad, Srbija. Klijanje je izvršeno prema metodi koju je opisao Vale i sar. (2014) sa malim izmenama. Čista semena su prečišćena sa rastvorom vodonik-peroksida (H_2O_2) (5%, v/v) tokom 5 minuta i zatim natopljena u vodi tokom 6h u mraku, isušena i isprana destilovanom vodom. 40g natopljenog semena su raširene na filter papir u kružne keramičke tacne za klijanje i ostavljene preko noći, 15h u mraku, na sobnoj temperaturi.

Ciklus klijanja se sastojao od svetlog režima (10.000 luksa) tokom 18h i tamnog režima od 6h. Ukupni tretman je trajao sedam dana, gde su se za šest dana su ritmički naizmenično izmenjivali svetli i tamni režim. Prva tri dana kružne keramičke tacne su prekrivene perforiranim parafilmom i prskane vodom nekoliko puta u toku dana. Posle tri dana, parafilm je uklonjen i korišćen je ovlaživač vazduha. Višak tečnosti je dekantovan jednom dnevno. Klijanci su sakupljeni posle sedam dana klijanja, a zatim zamrznute na $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ i osušene liofilizacijom u liofilizatoru Alpha 2-4 LSC Martin Christe, Osterode, Germani. Osušeni klijanci su samleveni u komercijalnom mlinu (Moulinex, Francuska), a zatim propušteni kroz sito od 0,5 mm. Dobijeni prah klijanaca (SP) (Slika 18) je upakovan u vakuumske plastične kese i usklađšten na -20°C .



pšenica Simonida



pšenica Spelta



ječam NS565



ječam Golozrni



ovas Golozrni



ovas Jadar

Slika 17. Sorte ispitivanih žitarica



Prah klijanaca pšenice Simonida



Prah klijanaca pšenice Spelta



Prah klijanaca ječma NS565



Prah klijanaca ječma Golozrni



Prah klijanaca ovsja Golozrni



Prah klijanaca ovsja Jadar

Slika18. Šest sorti ispitivanih klijanaca

3.3. EKSTRAKCIJA LIOFILIZIRANIH KLIJANACA

Količina od 10 g homogenizovanih praškastih uzoraka liofilizovanih klijanaca (LK) ekstrahovana je sa 100 ml metanola (70%, v/v). Zatim je ekstrakcija nastavljena u ultrazvučnom kupatilu na sobnoj temperaturi tokom 20 min, a potom je smeša mešana korišćenjem laboratorijskog šejkera na 200 rpm (Unimax 1010, Heidolph Instruments GmbH, Kelheim, Nemačka) zaštićena od svetla tokom 2h, na sobnoj temperaturi. Dobijeni ekstrakti su filtrirani upotrebom filter papira (Whatman paper No.1). Dobijeni ekstrakti sakupljeni su u volumetrijskom balonu koji je pokriven aluminijskom folijom u cilju zaštite od svetlosti i čuvani na 4°C.

3.4. ANALITIČKE PROCEDURE

Sve spektrofotometrijska merenja su izvedena korišćenjem UV 1800 spektrofotometra (Shimadzu, Kioto, Japan), osim kod testa α -glukozidaze. Merenja kod ovog testa su izvršena koristeći Multiskan GO čitač mikroploča (Thermo Fisher Scientific Inc, Waltham, MA, SAD).

Za HPLC analizu je korišćen Prominence hromatografski sistem Shimadzu, koji se sastojao od LC-20AT binarne pumpe, CTO-20A termostata i SIL-20A autosimplera povezanog sa SPD-20AV UV / VIS detektorom (Shimadzu, Kioto, Japan).

3.4.1. ODREĐIVANJE FITOHEMIJSKOG SADRŽAJA U KLIJANCIMA

3.4.1.1. Ukupan sadržaj fenolnih jedinjenja (TPC)

Ukupni sadržaj fenolnih jedinjenja (TPC) određen je korišćenjem Folin-Ciocalteu reagensa prema modifikovanoj metodi (Singleton, i sar., 1999). Reakciona smeša pripremljena je mešanjem 0,1 ml prečišćenog ekstrakta, 7,9 ml destilovane vode, 0,5 ml Folin-Ciocalteu reagensa i 1,5 ml 20% rastvora Na_2CO_3 . Uporedo je pripremljena i kontrola: 8 ml destilovane vode, 0,5 ml Folin-Ciocalteu reagensa i

1,5ml 20% rastvora Na₂CO₃. Alikvot 0,1 ml ekstrakta u metanolu (koncentracije 0,1 g/ml) 1 g / ml je dodat u 7,9 ml destilovane vode i 0,5 ml Foline-Ciocalteu reagensa. Nakon 2 h izmerene su apsorbance na $\lambda_{max} = 750$ nm sa UV-1800 spektrofotometrom (Shimadzu, Kioto, Japan). Izvršeno su kvantitativna merenja, zasnovana na standardnom kalibracionom krivom sa koncentracijama galne kiseline u opsegu od (0,1 do 1,0 mg/ml). TPC je izražen kao ekvivalent galne kiseline (GAE) u mg/100 g suve mase klijanaca. Podaci su prikazani kao srednja vrednost \pm SD za tri ponavljanja.

3.4.1.2. Ukupan sadržaj flavonoida (TFC)

Ukupno sadržaj flavonoida (TFC) je određivan korišćenjem kolorimetrijsku testa (Zhishen i sar. 1999). Alikvot (1 ml) ekstrakta (koncentracija 0,1g / ml) je dodat u odmerni sud od 10 ml koja je sadržala 4ml destilovane H₂O. Na samom početku reakcije je dodato 0,3ml 5% NaNO₂ i 0,3 ml 10% AlCl₃ 5 minuta kasnije. Nakon 6 minuta, dodano je 2 ml 1M NaOH rastvora i odmerni sud od 10ml dopunjen je destilovanom H₂O. Rastvor je dobro pomešan, a apsorpcija je merena na 510nm sa UV-1800 spektrofotometrom (Shimadzu, Kioto, Japan) sa kontrolom koja je pripremljena na isti način, samo zamenom ekstrakta sa destilovanom vodom. Izvršena su kvantitativna merenja, zasnovana na standardnoj kalibracionoj krivi sa koncentracijama rutina u opsegu od (0,025 do 0,5 mg/ml). TFC je izraže kao ekvivalent rutina (Re) u mg/100 g suve mase klijanaca. Podaci su prikazani kao srednja vrednost \pm SD za tri ponavljanja.

3.4.1.3. Određivanje sadržaja polifenolnih jedinjenja HPLC metodom

Kvantifikacija polifenolnih jedinjenja u ekstraktu liofilizovanih klijanaca izvršena je tečnom hromatografijom visoke rezolucije (High Performance Liquid Chromatography, HPLC) na uređaju Shimadzu Prominence (Shimadzu, Kioto, Japan), koji

sadrži LC-20AT binarnu pumpu, CTO-20A termostat i SIL-20A automatski dozator povezan sa SPD-20AV UV/Vis detektorom.

Hromatogrami su snimljeni pri različitim talasnim dužinama: 280 nm za derivate *p*-hidroksibenzoeve kiseline (galna, protokatehinska, vanilinska i siringinska kiselina) i za elaginsku kiselinu, 320 nm za derivate hidroksicimetne kiseline (kafena, hlorogenska, kumarinska, ferulna, sinapinska i ruzmarinska kiselina) i za gentisinsku kiselinu, 360 nm za flavonoide (kvercetin, rutin, luteolin, miricetin, kempferol, katehin, epikatehin i epikatehinalat) i 520 nm za antocijane.

Razdvajanje je izvršeno na Luna C-18 RP koloni, 5 μm , 250 x 4,6 mm (Phenomenex, Torens, Kalifornija, SAD), koja je zaštićena pretkolonom C18, 4 x 30 mm (Phenomenex, Torens, Kalifornija, SAD). Kao mobilna faza korišćen je sistem rastvarača: A (acetonitril) i B (1% mravlja kiselina) pri protoku od 1 ml/min i primenom sledećeg linearnog gradijenta: 0 - 10 min od 10 do 25% A; 10 - 20 min linearan porast do 60% A, od 20 do 30 min linearan porast do 70% A. Kolona je uravnotežena na početne uslove, 10% A, 10 min uz dodatnih 5 min za stabilizaciju. Standardi polifenolnih jedinjenja su rastvarani u 50% metanolu, a uzorci ekstrahovani vodom. Svi uzorci i rastvarači su filtrirani pre analize kroz membranske filtre veličine pora 0,45 μm (Millipore, Bedford, Masačusets, SAD). Identifikacija i kvantifikacija dobijenih pikova izvršena je sa LC Solution Software (Shimadzu, Kioto, Japan).

3.4.1.4. Sadržaj ukupnog hlorofila (TChl), hlorofila a (Chl a) i hlorofila b (Chl b)

Sadržaji ukupnog hlorofila (TChl), hlorofila a (Chl a) i hlorofila b (Chl b) su određeni spektrofotometrijskom metodom (Lichtenthaleru 1987). Absorbancija acetonskih ekstrakata klijanaca je merena na 645 i 663 nm sa UV-1800 spektrofotometrom (Shimadzu, Kioto, Japan), a sadržaj hlorofila je izračunat prema sledećim formulama:

$$\text{TChl} = 20.20 \times A_{645} + 8.02 \times A_{663}$$

$$\text{Chl a} = 11.24 \times A_{663} - 2.04 \times A_{645}$$

$$\text{Chl b} = 20.13 \times A_{645} - 4.19 \times A_{663}$$

gde su A_{645} i A_{663} absorpcije acetonskih ekstrakata klijanaca na 645 i 663 nm. Rezultati su izraženi kao mg hlorofila po 100 g suve mase klijanaca.

3.4.1.5. Ukupan sadržaj karotenoida (TCX)

Ukupni sadržaj karotenoida u acetonskom ekstraktu klijanaca, koji je pored hlorofila sadrže i karotene i ksantofile (TCX), su mereni na 470 nm (karoteninoidni region) i određivani prema metodi po Lichtenthaleru (1987). Ukupni karotenoidi su izračunati prema sledećoj formuli:

$$\text{TCX} = [(1000 \times \text{Abs}_{470 \text{ nm}} - 1.90 \times \text{Chl a} - 63.14 \times \text{Chl b}) / 214]$$

Rezultati su izraženi kao mg karotenoida po 100 g suve mase klijanaca.

3.5. ODREĐIVANJE BIOLOŠKE AKTIVNOSTI KLIJANACA

3.5.1. ANTIOKSIDATIVNI KAPACITET DPPH TEST (AC_{DPPH})

Slobodni DPPH radikali se najčešće upotrebljavaju u antioksidativnim testovima za određivanje sposobnosti prirodnih sekundarnih metabolita prisutnih u ekstraktima da predaju labilan vodonikov atom slobodnim radikalima. Ovaj mehanizam predstavlja najčešći i najjednostavniji mehanizam antioksidativne zaštite ($\text{DPPH}^{\bullet} + \text{AH} \rightarrow \text{DPPH-H} + \text{A}^{\bullet}$). DPPH radikal je stabilan slobodni radikal.

Zbog nesporenog elektrona DPPH^{\bullet} apsorbuje svetlost u vidljivom delu spektra, na talasnoj dužini od 517 nm (jarko ljubičasta boja). Kada se ovaj elektron spari u

prisustvu antioksidanata, apsorbanca na ovoj talasnoj dužini opada, odnosno boja se menja od ljubičaste do žute. Ova promena se može pratiti i ESR spektrometrijski, direktnim praćenjem promene koncentracije DPPH[•]. Transformacija boje iz ljubičaste u žutu, i sniženje ESR signala je stehiometrijski proporcionalna broju elektrona koji su predati.

Kapacitet „skevindžer“ aktivnosti slobodnih radikala – RSC (Radical Scavenging Capacity) određuje se spektrofotometrijski na osnovu redukcije ljubičasto obojenog DPPH radikala u žuto obojenu formu DPPH-H. Intenzitet boje srazmeran je broju „uhvaćenih“ radikala.

Uzorci su pripremljeni na isti način kao, i za određivanje TPC. Reakciona smeša je pripremljena u mikrotitar ploči sa 96 otvora.

Rastvori i reagensi:

1. 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil radikal (DPPH[•]) - 0,0035 g radikala rastvoreno je u 10 ml metanola.
2. Etanolni rastvor troloksa (10 mM) - 25 mg rastvoreno je u 10 ml etanola.

Spektrofotometrijsko određivanje: U otvore mikrotitar ploče dodato je 250 μ l rastvora DPPH[•] i 10 μ l uzorka. Mikrotitar ploče su držane u mraku na sobnoj temperaturi u toku 50 min nakon čega su apsorbanca očitane na 515 nm sa UV-1800 spektrofotometrom (Shimadzu, Kioto, Japan), koristeći metanol kao slepu probu. Za izradu kalibracione krive je korišćen troloks, a rezultati su izraženi kao ekvivalenti troloksa (TE) u 100 g uzorka tj. suvog ekstrakta klijanaca (mg TE/100 g).

3.5.2. ANTIOKSIDATIVNI KAPACITET - ABTS TEST (AC_{ABTS})

Ova metoda se zasniva na antioksidativnoj sposobnosti uzorka da veže ABTS^{+•} u hidrofилnom medijumu. Sposobnost ekstrakata klijanaca da vezuju ABTS^{+•}, tj AC_{ABTS} , je određivana metodom prema Tumbas Šaponjac i sar. (2014) merenjem varijacije apsorpcije na 414 nm nakon 35 min. Antioksidativni kapacitet (AC_{ABTS}) uzorka je izračunat pomoću sledeće jednačine:

$$AC_{ABTS} (\%) = [(A_C - A_S) / A_C] \times 100$$

gde su A_C i A_S absorpcije kontrole i uzorka. Rezultati su izračunati kao inhibitorne koncentracije ekstrakta (mg/ml) neophodne za smanjenje početne $ABTS^{+\bullet}$ absorpcije do 50% (IC_{50}^{ABTS}). Rezultati su izraženi kao mg ili mmol troloks ekvivalenta (TE) po 100 g suve mase klijanaca.

3.5.3. ODREĐIVANJE REDUKCIONE SPOSOBNOSTI (RP)

Antioksidativna sposobnost određenih jedinjenja povezana sa njihovom redukcijom sposobnošću (Meir i sar., 1995). Redukciona sposobnost je određena metodom po Oyaizu (1986), prilagođenoj za mikrotitar ploču sa 96 otvora. Za izradu kalibracione krive je korišćen troloks kao standardni antioksidant, a rezultati su izraženi kao mg ekvivalenta troloksa u 100 g uzorka, tj. suve mase klijanaca (mg TE/100 g).

Rastvori i reagensi:

1. 1% kalijum-fericijanid
2. 10% trihlorsirćetna kiselina - 10 g CCl_3COOH rastvoreno je u 100 ml destilovane vode;
3. 0,1% ferihlorid - 0,01 g $FeCl_3$ rastvoreno je u 10 ml destilovane vode;
4. natrijum-fosfatni pufer pH 6,6, natrijum-fosfatni pufer pH 6,6 je dobijen mešanjem 62,5 ml rastvora A i 37,5 ml rastvora B:
 - rastvor A: 200 mmol/l NaH_2PO_4
(7,8g $NaH_2PO_4 \times 2H_2O$ rastvoreno je u 250 ml destilovane vode) i
 - rastvor B: 200 mmol/l Na_2HPO_4
(17,9g $Na_2HPO_4 \times 12H_2O$ rastvoreno je u 250 ml destilovane vode)

Spektrofotometrijsko određivanje: Pomešano je 1ml testiranog ekstrakta (FDS), različitih koncentracija 0,5, 1,0, 2,5, 5,0, 10, 20, 30 i 40 mg/ml sa 1 ml fosfatnog pufera (pH 6,6) i 1 ml 1% kalijum fericijanid $K_3 [Fe (CN)_6]$. adekvatno raz-

blaženog (finalna apsorbanca po metodi treba da bude u opsegu od 0,2 do 0,8) ili 25 μ l ekstrakta (slepa proba), 25 μ l natrijum-fosfatnog pufera pH 6,6 i 25 μ l 1% kalijum-fericijanida. Rastvori su temperirani u vodenom kupatilu 20 min na 50°C. Prohlađeni su, a zatim je u rastvore dodato 1ml 10% trihlorsirćetne kiseline. Potom su rastvori centrifugirani na 3000 o/min u toku 10 min. Nakon centrifugiranja, u 2 ml pažljivo odvojenog supernatanta (rastvor iznad taloga) dodato je 2 ml destilovane vode i 0,4ml 0,1% ferihlorida. Apsorbance su izmerene na talasnoj dužini od 700 nm sa UV-1800 spektrofotometrom (Shimadzu, Kioto, Japan). Rezultati i $R_{p0,5}$ vrednost su izraženi kao mg ili mmol troloks ekvivalenta (TE) po 100 g BS.

3.5.4. POTENCIJAL INHIBICIJE ENZIMA α -GLUKOZIDAZE (AHGA)

Potencijal inhibicije α -glukozidaze je određen korišćenjem metode po Tumbas Šaponjac i sar. (2014).

Rastvori i reagensi:

1. Pufer: 10 mM kalijum-fosfat, pH 7;
2. Supstrat: 4-nitrofenil α -D-glukopiranozid (2 mM) - 3,01 mg supstrata rastvoreno je u 5 ml pufera;
3. Uzorak rastvoren u puferu;
4. Enzim: α -glukozidaza - 1,35 mg enzima rastvoreno je u 1 ml pufera, odmeren je alikvot od 40 μ l u posudu od 10 ml i dopunjeno do crte.

Spektrofotometrijsko određivanje:

Za ovaj test je 100 mg uzorka preliveno sa 1 ml pufera, smeša je promešana na vorteksu u toku jednog minuta, zatim centrifugirana u trajanju od 2 min, a zatim je odvojen supernatant. Reakcione smeše su pripremljene u otvorima mikrotitar ploča na sledeći način: 100 μ l supstrata je pomešano sa 20 μ l uzorka i 100 μ l rastvora enzima. Apsorbanca 4-nitrofenola oslobođenog iz 4-nitrofenil- α -D-glukopiranozida izmerena je na 405 nm, pre i nakon inkubacije od 10 min na 37°C i upoređena sa kontrolnom apsorbancom, za izračunavanje potencijala inhibicije. Potencijal inhibicije (%) je izračunat na osnovu jednačine:

$$\% \text{ inhibicije} = (\Delta A_{\text{kontrola}} - \Delta A_{\text{uzorka}}) / \Delta A_{\text{kontrola}} \times 100$$

gde su $\Delta A_{\text{kontrola}}$ i ΔA_{uzorka} razlike apsorbanci reakcione smeše kontrole i sa uzorkom pre dejstva enzima i nakon 10 minuta inkubacije sa enzimom.

Slepa proba kontrole se sastojala od 100 μl supstrata i 120 μl pufera, kontrola od 100 μl supstrata, 20 μl pufera i 100 μl enzima, slepa proba za uzorak od 100 μl supstrata, 20 μl uzorka i 100 μl pufera. Slepa proba kontrole i uzorka se nije pripremala u triplikatu (samo jedan otvor). Apsorbance kontrole i uzorka su merene u triplikatu (tri otvora), a od njih su oduzete vrednosti za odgovarajuće slepe probe.

3.5.5. ODREĐIVANJE ANTIINFLAMATORNE AKTIVNOSTI (AIA) TESTOM DENATURACIJE PROTEINA

Postoje određeni problemi u korišćenju životinja u eksperimentalnim farmakološkim istraživanjima, kao što su etička pitanja i nedostatak obrazloženja za njihovo korišćenje kada su dostupne druge pogodnije metode.

U ovoj studiji je izabran test proteinske denaturacije za *in vitro* procenu antiinflamatornih karakteristika klijanaca. Denaturacija proteina tkiva je jedan od dobro dokumentovanih uzroka inflamatornih bolesti i artritisa. Proizvodnja auto antigena u pojedinim artritičnim bolestima može biti usled denaturacije proteina *in vivo*. Jedinjenja koja mogu sprečiti denaturaciju proteina stoga mogu biti korisna za razvoj antiinflamatornih lekova (Dei i sar., 2011 i Chandra i sar., 2012). Metod: Reakciona smeša (5ml) se sastojala od 0,2 ml albumina jaja (od svežeg jajeta kokoške), 2,8 ml fosfatnog pufera (PBS, pH 6,4) i 2 ml različitih koncentracija test ekstrakta klijanaca tako da konačne koncentracije postaju 2,5, 5, 10, 20, 40 i 80 mg/ml. Slični volumen (2 ml) destilovane H₂O služio je kao kontrola.

Zatim su smeše inkubirane na $37 \pm 2^{\circ}\text{C}$ u Buchi inkubatoru (Grejno kupatilo B-491, Švajcarska) 15min, a zatim je smeša zagrevana na 70°C tokom 5min. Posle

hlađenja, njihova apsorpcija je merena na 660nm koristeći UV-1800 spektrofotometar (Shimadzu, Kioto, Japan).

Natrijum diklofenak u koncentracijama od (0,25, 1,25, 2,50, 5,00, 7,50, 10,00, 15,00 i 20,00 mg/ml) je korišćen kao referentni lek i tretiran slično u cilju određivanja apsorpcije (Dei i sar, 2011, Chandra i sar., 2012a). Procenat inhibicije denaturacije proteina je izračunat pomoću sledeće formule:

$$\text{AIA \%} = [(\text{AC} - \text{AS}) / \text{AC}] \times 100$$

gde su AC i AS apsorbanca uzorka i kontrole. Rezultati su izračunati kao inhibitorne koncentracije ekstrakta (mg/ml) neophodnog za inhibiciju 50% denaturacije proteina ($\text{IC}_{50}^{\text{AIA}}$).

3.6. IN VITRO SIMULACIJA DIGESTIJE U ŽELUDAČNOJ I INTESTINALNOJ TEČNOSTI

In vitro digestija i oslobađanje polifenola određeno je simulacijom uslova digestije u želudačnoj i intestinalnoj tečnosti. Želudačna (SGF) i intestinalna (SIF) tečnost su pripremljene po metodi Saikia i sar. (2015).

Priprema želudačne tečnosti: 0,02 g NaCl pomešano je sa 0,032 g pepsina i 0,07 ml HCl. Smeši je dodata voda do 1000 ml i pH je podešen na 1,2.

Za ispitivanje je odmereno 1,4 ml SGF u epruvetu od 10 ml, dodato 100 mg uzorka i inkubirano na 37°C u toku 2 h uz mućkanje (80 o/min). Nakon inkubacije, rastvor je profiltriran i neutralisan dodatkom 0,2 M NaOH.

Priprema intestinalne tečnosti: 0,068 g monobaznog kalijum fosfata rastvoreno je u 25 ml vode, dodato je 0,77 ml 0,2 M NaOH, 0,1 g pankreatina i dopunjeno je vodom do 1000 ml. pH je podešen na 6,8.

Za ispitivanje je odmereno 2,4 ml SIF u epruvetu od 10 ml, dodato 100 mg uzorka i inkubirano na 36,6°C u toku 2 h bez mućkanja. Nakon inkubacije, rastvor je profiltriran i enzimska aktivnost je inhibirana podešavanjem pH na 1,2 dodatkom

100 μ l 3 M hlorovodonične kiseline na 2 ml filtrata. Nakon 15 min rastvor je neutralisan (pH=7) dodatkom 900 μ l 0,2 M natrijum-hidroksida.

U oba uzorka određen je sadržaj ukupnih polifenolnih jedinjenja metodom Folin-Ciocalteu (Singleton i sar., 1999).

3.7. STATISTIČKA ANALIZA

Svi podaci su prikazani kao srednja vrednost \pm standardna devijacija od najmanje tri nezavisna eksperimenta. Podaci su analizirani analizom varijanse (ANOVA postupak), zatim Tukey-Kramer testom višestrukog poređenja za procenu značajne razlike između parova srednjih vrednosti. Nivo značajnosti je 95% u svim slučajevima ($p \leq 0,05$). Step linearne veze između dve varijable je merena korišćenjem Pearsonovog koeficijenta korelacije (r). IC₅₀ vrednosti su izračunate korišćenjem best-fit modela regresije. Svi podaci su analizirani korišćenjem softvera Microsoft Office Excel 2007.

4.0. REZULTATI I DISKUSIJA

4.1. FITOHEMIJSKA ANALIZA

4.1.1. UKUPNI SADRŽAJ FENOLNIH JEDINJENJA (TPC)

Fenolna jedinjenja kao sekundarni metaboliti biljaka i generišu se tokom metaboličkog puta šikiminske kiseline. Fenilalanin amonialiaza je ključni enzim koji katalizuje biosintezu fenolnih jedinjenja iz aromatične aminokiseline fenilalanina. Fenoli se obično mogu naći konjugovani sa šećerima i organskim kiselinama. Fenolna jedinjenja se smatraju kao glavna grupa jedinjenja koja doprinosi antioksidativnom kapacitetu žitarica (Zhao i sar., 2008). Osim toga, u poslednjih nekoliko godina, fenolna jedinjenja se intenzivno istražuju zbog njihovih potencijalnih pozitivnih efekata na zdravlje (De Pascual-Tereza i sar., 2010). Ječam sadrži širok spektar antioksidativnih fenolnih jedinjenja i amino fenolnih jedinjenja prisutnih u slobodnim i vezanim oblicima (Hernanz i sar., 2001).

Liyana-Pathirana i Shahidi, (2006) su objavili da je celo zrno žitarica, na primer pšenice, dobar izvor fenolnih kiselina koje se nalaze pretežno u spoljašnjem sloju u vezanoj formi. U poslednjih nekoliko godina, ovas je, uglavnom zbog visokog sadržaja β -glukana i fenolnih jedinjenja sa visokim antioksidativnim aktivnostima, privukao istraživačku i komercijalnu pažnju (Liu i sar., 2004;. Malkki i sar., 2004;. Tian i sar., 2010). Ovas takođe sadrži još nekoliko fitohemikalija, uključujući flavonoide, sterole i fitinsku kiselinu (Hammond, 1983;. Forssell i sar., 1990; White i Armstrong, 1986; Kahlon, 1989).

Brojne studije su pokazale da se nutritivni i hemijski profil pšenice, ječma i ovasa menja nakon klijanja žitarica (Price, 1988; Ilona i sar., 2011;. Iiming i sar., 2015). Proces klijanja podrazumeva niz aktivnih i složenih biohemijskih i fizioloških reakcija,

što dovodi do velikih promena u kompoziciji i/ili morfologiji biljke (Lin i sar., 2006;. Chiou i sar., 1997).

Rezultati TPC ispitivanih klijanaca su prikazani u Tabeli 13. Kao što se može videti u Tabeli 13. najviše TPC je prisutno u BSNS ($p \leq 0,05$) zatim u OSG, WSSIM i BSG. Ne postoji značajna razlika između ukupnog sadržaja fenolnih jedinjenja u uzorcima OSG i WSSIM. Najniži TPC je registrovan u OSJ i WSSPE odnosno i ne postoji značajna razlika u njihovom sadržaju između tih klijanaca. TPC u uzorku BSNS bio je 1,97, tj. 1,91 puta veći nego u uzorcima OSJ i WSSPE. Alvarez-Jubete i sar. (2010) su utvrdili da je TPC kod klijanaca heljde (670 mg GAE/100 g s. m.) sličan onome u BSNS, a u uzorcima klijanca pšenice (110 mg GAE/100 g s.m.) su manje od vrednosti za WSSIM i WSSPE.

Tabela 13. Ukupni sadržaj fenolnih jedinjenja (TPC) i ukupni sadržaj flavonoida (TFC) u uzorcima klijanca (FDS).

FDS	TPC	TFC
BSG	479,02 ± 11,70	285,05 ± 10,55
BSNS	713,25 ± 26,86	288,29 ± 23,27
WSSPE	373,37 ± 19,62	216,52 ± 3,25
WSSIM	607,21 ± 55,32	195,46 ± 5,21
OSG	632,93 ± 20,63	240,61 ± 3,50
OSJ	367,25 ± 2,57	115,39 ± 3,44

Rezultati su prikazani kao srednja vrednost ± SD ($n = 3$), gde je TPC u mg GAE/100g s.m. i TFC u mg RE/100 g s.m.

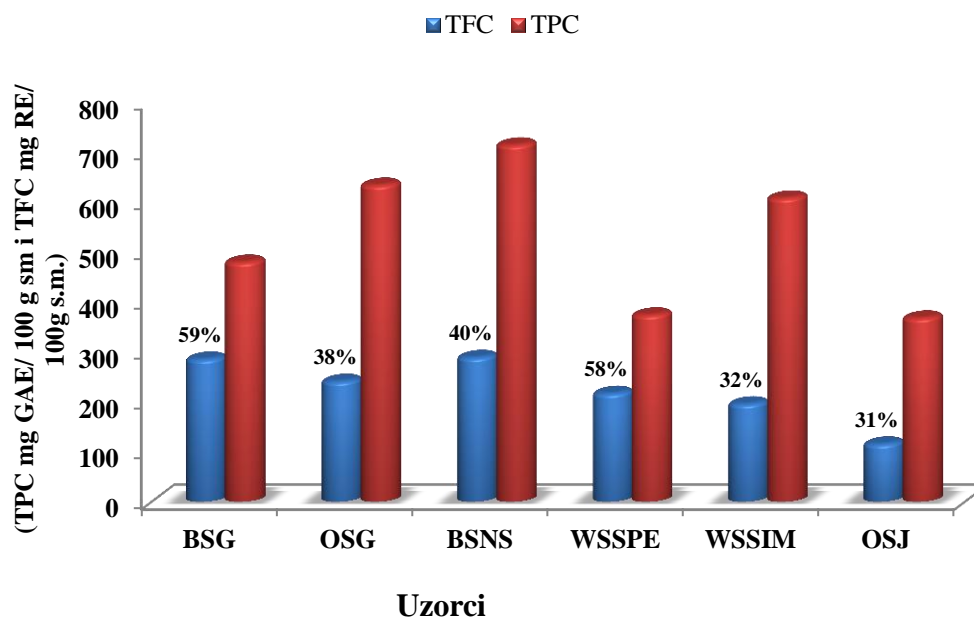
Ilona i sar. (2011) su objavili da je TPC u ječmenom sladu (320 mg GAE/100 g s. m.) i da je viši nego u neprerađenom ječmu (196 mg GAE/100 g s. m.) sorte „Klas”, a oba ova sadržaja su niža u poređenju sa podacima ispitivanih klijanaca u

ovoj doktorskoj disertaciji. Pajak i sar. (2014) su odredili TPC u klijancima zlatnog pasulja, suncokreta, brokolija i rotkvice nakon pet dana klijanja. Poređenjem TPC svih ispitivanih klijanaca žitarica (Tabela 13) može se zaključiti bio je on veći u odnosu na sadržaj u zlatnom pasulju (360 mg GAE/100g s. m.), osim kod OSJ čiji je TPC sličan sadržaju u zlatnom pasulju. Sadržaj TPC u uzorku BSNS je bio sličan sadržaju u klijancima brokolija (750 mg GAE/100 g s. m.), ali utvrđeno je da svi klijanci ispitani u okviru ove doktorske disertacije imaju niže vrednosti od vrednosti TPC u uzorku klijanaca brokolija. Tian i sar. (2010) navode da je ukupan sadržaj fenolnih jedinjenja porastao kod 6-dnevnih klijanca ovsa u poređenju sa njihovim sadržajem u semenkama ovsa. Vrednost TPC dostigla je vrednost 95 mg GAE/100 g s.m., ali i ova vrednost niža je u poređenju sa ispitivanim klijanacima žitarica. Sadržaj TPC u svim ispitivanim literaturnim uzorcima može zavisiti od roda, vrsta, sorte/genotipa, vremena žetve i uslova klijanja.

4.1.2. UKUPAN SADRŽAJ FLAVONOIDA (TFC)

Flavonoidi su prisutni u skoro svim biljkama i zahvaljujući svojoj hemijskoj strukturi poseduju antikancerogena, antiinflamatorna i antialergijska svojstva. Žitarice sadrže male količine flavonoida, osim što ječam sadrži merljive količine katehina i nekih di- i tri-procijanidina (McMurrough i Baert, 1994). Alvarez-Jubete i sar. (2010) su primetili da se sadržaj flavon- i flavonol glikozida u heljdi povećava tokom klijanja.

Rezultati TFC ispitivanih klijanaca žitarica prikazan je u tabeli 13. Rezultati pokazuju da su uzorci BSNS i BSG imali veće vrednosti, a nije bilo značajne razlike u TFC između tih klijanaca ($p \leq 0,05$), a zatim slede uzorci OSG, WSSPE, i WSSIM. Ne postoji značajna razlika u sadržaju TFC između OSG i WSSPE, kao ni između WSSPE i WSSIM ($p \leq 0,05$). Najniži TFC je registrovan u OSJ ($p \leq 0,05$). Analizirajući ove dobijene rezultate (slika 19), uočeno je da je TFC učestvuje nepravilno u procentu TPC i ima sledeći redosled: BSG je imao veći procenat i učestvovao je sa oko 59% u TPC > WSSPE 58% > BSNS 40% > OSG 38% > WSSIM 32%, dok je u uzorku OSJ učestvovao sa oko 31%.



Slika 19. Distribucija i procenat TFC u poređenju sa TPC

De Nicola i sar. (2013) su određivali TFC u sedam dana starim klijancima kupusa (*Brassica oleracea L. spp.*). Ovi autori su utvrdili da se TFC kreće u rasponu od 560 do 970 mg katehin ekvivalenata/100 g klijanaca. Takođe, sadržaj TFC zavisi od roda, vrste, sorte/genotipa, vremena žetve i uslovima klijanja.

4.1.3. HPLC ANALIZA FENOLNIH JEDINJENJA

Fenolne kiseline se javljaju u biljkama kao slobodne fenolne kiseline, estri, glikozidi, i / ili vezani kompleksi (Ross i sar., 2009). Ispitivani uzorci FDS su podvrgnuti HPLC analizi da bi se odredio profil najprisutnijih biološki aktivnih jedinjenja fenolnih jedinjenja. Prema rezultatima prikazanim u tabeli 14 može se videti da je epikatehin dominantno fenolne jedinjenje u oba klijanca ječma (BS). Pored epikatehina, oba BS sadrže značajne količine katehina, protokatehinske i galne kiseline. Za razliku BSNS, BSG sadrži *p*-hidroksibenzoeve kiseline i veće količine ferulne kiseline. U skladu sa spektrofotometrijskim rezultatima prikazanim u tabeli 13, HPLC analiza je potvrdila da BSNS sadrži značajno veći ($p \leq 0,05$) iznos ukupnih fenolnih jedinjenja od BSG. Isto tako, ovi rezultati su potvrdili da flavonoidi imaju značajan udeo u ukupnim fenolima koji su na raspolaganju u uzorcima BSNS i BSG (slika 19). U oba klijanca pšenice (WS) dominantna jedinjenja su vanilinska, protokatehinska, sirin-

ginska, galna i sinapinska kiselina. Za razliku od BS, uzorak WS ne sadrži epikatehin. Važno je napomenuti da WS sadrže veoma male količine flavonoida, u poređenju sa klijancima ječma i ovsa. Ovi rezultati su u skladu sa vrednostima za TFC koji su prikazani u tabeli 13, osim uzorka OSJ koja je imao manji iznos za TFC. Klijanci ovsa (OS) istraživani u ovoj studiji su imali različite profile fenolnih kiselina. Miricetin je imao najveću vrednost u oba uzorka OS, dok je kemferol bio oko 13 puta značajno veći ($p \leq 0,05$) za OSG u poređenju sa OSJ. Uzorak OSG takođe sadrži značajnu količinu *p*-hidroksibenzojeve kiseline i rutina, dok je uzorak OSJ imao 1,5 puta veću vrednost ($p \leq 0,05$) za rutin i oko 20 puta veću za sinapinsku kiselinu u poređenju sa OSG. HPLC analiza je potvrdila da OSG sadrži značajno veći ($p \leq 0,05$) ukupan iznos fenolnih jedinjenja od OSJ (Tabela 13).

Zaključno, BSNS ima najveću vrednost ($p \leq 0,05$) za fenolne kiseline i flavonoide, zatim slede uzorci BSG, OSG, WSSPE, OSJ i WSSIM. Carvalho i sar. (2015) su objavili da su našli značajne količine katehina u različitim sortama ječma. Yu i sar. (2001) su istraživali fenolne kiseline u ekstraktima sa toplom vodom, kiselinom, amilazom i celuloznih hidrolizata različitih sorti ječma i našli su da su hlorogenska, protokatehinska i *p*-hidroksibenzojeve kiselina dominantne. Pajak i sar. (2014) su objavili da sedam dana stari klijanci zlatnog pasulja, rotkvice, brokolija i suncokreta sadrže sledeće slobodne fenolne kiseline i flavonoide određene HPLC: galnu, protokatehinsku, kafenu, *p*-kumarinsku, ferulnu, hlorogensku i sinapinsku kiselinu. Dok su flavonoidi: kvercetin, kampferol, luteolin i apigenin. Rezultati dobijeni od pomenutih autora pokazuju da je najveća vrednost ukupnih slobodnih fenolnih kiselina registrovana klijancima brokolija (39,94 mg/100g s.m.), dok je najniža vrednost pronađena u klijancima zlatnog pasulja (9,95 mg/100g s.m.).

Na osnovu navedenih rezultata, može se zaključiti da su vrednosti za klijance u bile značajno veće od onih objavljenih od pomenutih autora. Razlike između sadržaja fenolnih jedinjenja objavljenih u različitim studijama može biti rezultat više faktora, kao što su metodologija (postupka ekstrakcije, različitih osetljivost na degradaciju, vrste hromatografije i kvantifikacije), biljnih vrsta, uslova rasta i skladištenja (Naczki i Shahidi, 2004; Perez-Balibrea i sar., 2011; Ross i sar., 2009).

Tabela 14. Sadržaj fenolnih kiselina i flavonoida ispitivanih žitnih klijanaca (mg/100g SM) određen HPLC metodom

PC	BSNS	BSG	WSSIM	WSSPE	OSG	OSJ
Katehin	163,93	97,63	-	-	-	-
Galna kiselina	145,65	71,99	25,91	26,04	20,72	18,77
Protokatehinska kiselina	152,86	52,53	29,63	29,77	27,25	24,06
<i>p</i> -Hidroksibenzoeva kiselina	nd	15,83	7,60	8,04	44,38	20,90
Vanilna kiselina	19,94	11,04	70,20	54,20	-	-
Kafena kiselina	-	-	2,07	2,34	-	-
<i>p</i> -Kumarinska kiselina	-	-	6,48	4,97	-	-
Ferulna kiselina	14,57	96,30	2,49	2,21	1,48	-
Siringinska kiselina	-	-	26,49	44,50	-	-
Sinapinska kiselina	19,50	2,95	20,02	22,75	2,17	41,28
Rutin	-	-	5,19	7,05	37,23	56,70
Miricetin	2,59	9,98	1,13	7,05	146,62	97,11
Kvercetin	0,67	9,75	0,77	2,95	12,52	-
Kempferol	3,29	1,10	-	-	117,50	9,17
Luteolin	-	-	-	-	1,72	-
Apigenin	-	-	-	-	33,79	-
Izoramnetin	-	-	-	-	29,00	-
Hlorogenska kiselina	20,32	nd	-	-	-	-
Epikatehin	555,59	227,32	-	-	-	-
Σ	1098,91	596,42	197,98	267,99	474,38	267,99

4.1.4. SADRŽAJ UKUPNOG HLOROFILA (TCHL), HLOROFILA A (CHL A) I HLOROFILA B (CHL B)

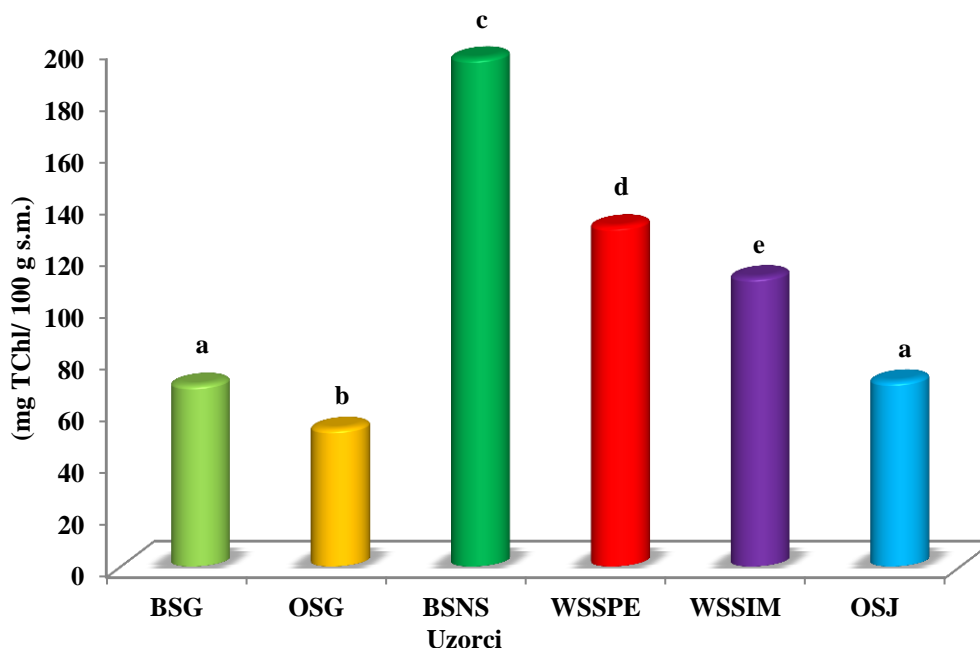
Rezultati sadržaja hlorofila u FDS (tabela 15) su pokazali da je najveća vrednost za TChl registrovana u uzorku BSNS ($p \leq 0.05$), a zatim slede WSSPE, WSSIM, BSG i OSJ. Postoje statistički značajne razlike u sadržaju ukupnog hlorofila između svih ispitivanih klijanaca (Slika 20). Najniža vrednost TChl sadržaj je utvrđena u uzorku OSG ($p \leq 0,05$), a ne postoji značajna statistička razlika između sadržaja u uzorcima OSG i BSG (slika 20). Uzorak BSNS poseduje 3,69 puta više vrednosti TChl, u poređenju sa uzorkom OSG koji je imao najnižu vrednost.

Tabela 15. Sadržaj ukupnog hlorofila (TChl), hlorofila a (Chl a), hlorofila b (Chl b) i ukupan sadržaj karotenoida (TCKS) za uzorke klijanca (FDS)

<i>FDS</i>	<i>TChl</i>	<i>Chl a</i>	<i>Chl b</i>	<i>TCX</i>
BSG	70,16±0,43	47,27±0,23	14,96±0,18	15,13±0,11
BSNS	196,23±2,13	130,55±1,62	43,53±0,33	37,58±0,36
WSSPE	131,32±1,82	88,17±1,45	28,31±0,17	22,84±1,05
WSSIM	111,69±1,42	75,52±0,97	23,55±0,30	22,01±0,06
OSG	53,17±1,25	35,45±0,41	11,72±0,70	13,94±0,10
OSJ	71,47± 0,78	48,16±0,46	15,24±0,39	16,29±0,38

Rezultati su prikazani kao srednja vrednost \pm SD ($n = 3$). Jedinice su mg/100 g s.m.

De Nicola i sar. (2013) su odredili TChl u sedam dana starim uzorcima klijanca biljaka iz roda *Brassica oleracea L. spp.* Određene TChl vrednosti su bile u rasponu od 20 do 70 mg/100 g s.m. Ispitivani uzorak BSNS poseduje 2,80-puta do 9,81 puta veće vrednosti za TChl od onih određenih u radu De Nicola i sar. (2013), dok su vrednosti uzorke ispitivane u ovom radu BSG, OSG i OSJ, pronađeno da su u rasponu vrednosti publikovanih od strane istih autora. Generalno, klijanci žitarica su bogati hlorofilom, ali su i njihovi sadržaji uporedivi sa sadržajem ukupnog hlorofila u uzorcima klijanca iz roda *Brassica*.

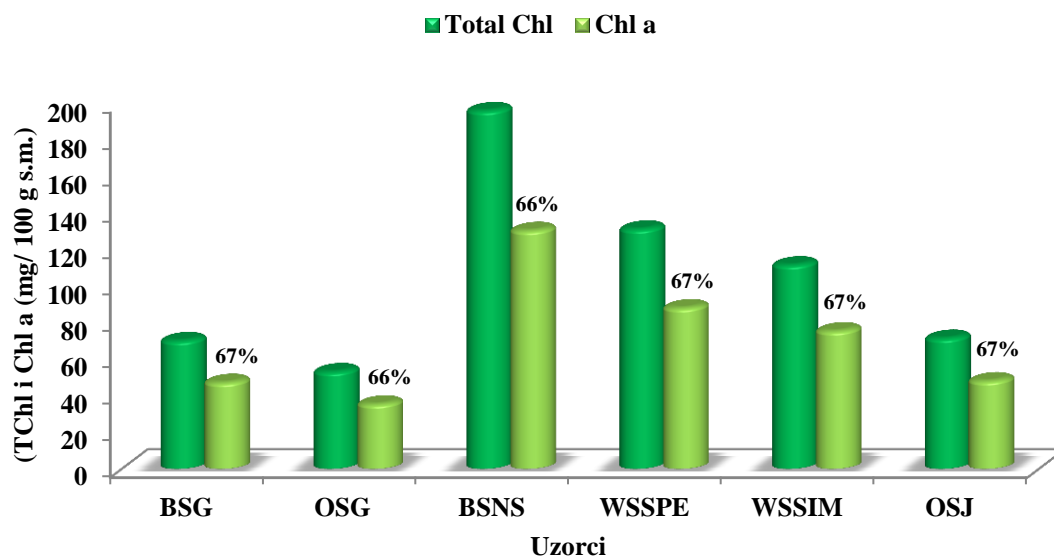


Slika 20. TChl sadržaj u (mg/100g s.m.) u uzorcima klijanaca.

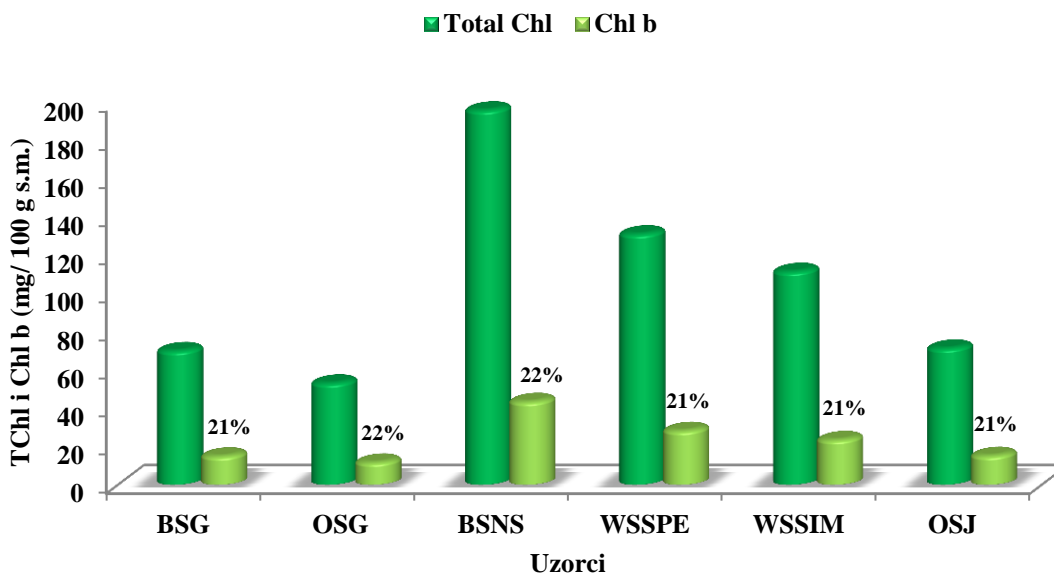
Rezultati su prikazani kao srednja vrednost \pm SD ($n = 3$). Ista slova u barovima predstavljaju statistički neznačajnu razliku ($p \leq 0,05$).

Vrednosti za sadržaj hlorofila a (Chl a) prikazane su u tabeli 15. Količina Chl a u BSNS je najveća ($p \leq 0,05$), a zatim slede uzorci WSSPE, WSSIM, BSG i OSJ. Postoje statistički značajne razlike u sadržaju Chl a između svih ispitivanih uzoraka klijanaca. Najniži sadržaj Chl a je prisutan u OSG ($p \leq 0,05$), a ne postoji statistički značajna razlika u sadržaju između uzoraka OSG i BSG. Kao što se vidi na slici 21, primetno je da Chl a u svim ispitivanim FDS učestvovao sa oko 66 i 67% sadržaja TChl. Vrednosti za hlorofil b (Chl b) su takođe prikazane u tabeli 15. Rezultati za hlorofil b (Chl b) su pokazali značajnu statističku razliku, a uzorak BSNS ima najveću vrednost za Chl b ($p \leq 0,05$), koja je uporediva sa vrednostima dobijenim sa drugim istraživanim kljancima. A zatim slede uzorci WSSPE, WSSIM, BSG i OSJ. Postoji značajna statistička razlika između uzoraka klijanaca. Najniži sadržaj Chl b je prisutan u OSG ($p \leq 0,05$), dok ne postoji statistički značajna razlika između uzoraka OSG i BSG. Količina Chl b predstavlja oko 20 - 21% od utvrđene TChl u svih ispitivanim vrstama suvih klijanaca (slika 22). Sadržaj Chl a u svim ispitivanom uzorcima je oko 3 puta veću od vrednosti Chl b. Što se tiče hlorofila, vredno je napomenuti da ovaj biljni

izoprenoidni lipid može biti i prooksidans, u prisustvu svetlosti i antioksidans u mraku. Endo i sar. (1985) navode da je Chl a pokazao najveći antioksidativni kapacitet u poređenju sa Chl b i njegovim izvedenim jedinjenjima. Odnos sadržaja Chl a i Chl b (Chl a/b odnos) je pokazatelj funkcionalnosti pigmenata i svetlosne adaptacije fotosintetskog aparata (Lichtenthaler, 1987).



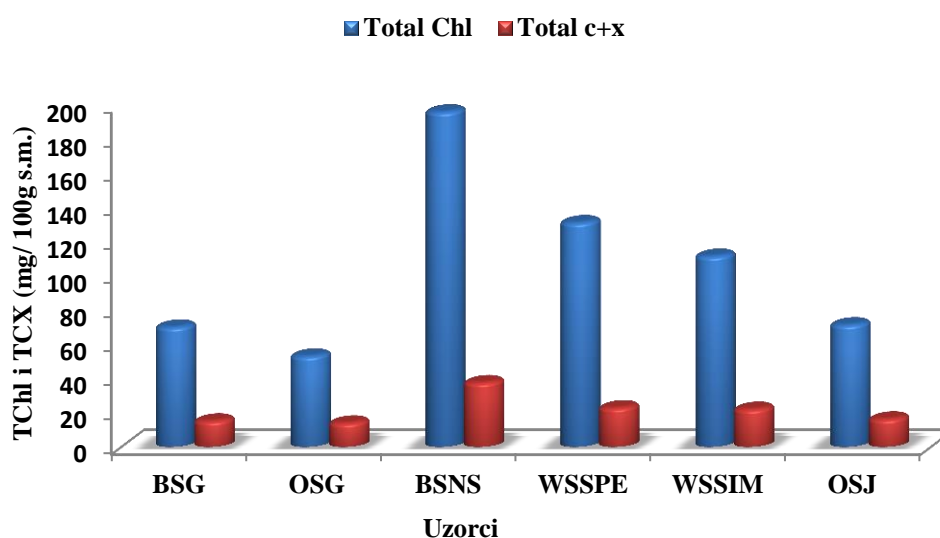
Slika 21. Procenat udela Chl a u TChl kod uzorka klijanica



Slika 22. Procenat udela Chl b u TChl kod uzorka klijanaca

4.1.5. UKUPAN SADRŽAJ KAROTENOIDA (TCX)

Ukupni karotenoidi uključuju karotene i ksantofile (TCX). A to su žuti, naranđasti i crveni pigmenti rastvorljivi u lipidima koji se često javljaju u biljkama, voću i povrću. Nekoliko njih su antioksidativni nutrijenti koji deluju uglavnom kao sekundarni antioksidanti u hrani i deluju inhibitorno na singlet kiseonika. Oni takođe mogu sprečiti oksidaciju vezanjem slobodnih radikala u odsustvu singlet kiseonika. TCX za BSNS i BSG su prikazani u tabeli 15. BSNS je imao najveću vrednost ($p \leq 0,05$) zatim slede WSSPE, WSSIM, OSJ i BSG. Ne postoji značajna razlika između uzoraka WSSPE i WSSIM, kao ni između OSJ i BSG. Uzorak OSG je imao najnižu vrednost TCX i nije uočena značajna razlika između uzoraka OSG i BSG ($p \leq 0,05$). Uzorak BSNS je imao 2,48, 2,69, 1,65, 1,71 i 2,30 puta veći sadržaj TCX nego što je to kod uzoraka BSG, OSG, WSSPE, WSSIM i OSJ. U principu, klijanci ječma sadrže značajne količine karotenoida u poređenju sa Brassica povrćem. Podsdek (2007) je objavio da je količina karotena u prokelju ju rasponu od 0,26 mg/100 g, u belom kupusu 6,1 mg/100 g, dok je iznos ksantofila bio umereno visok 0,78 – 3,50 mg/100 g u klijancima brokolija i prokelju. Istraživanje u ovoj disertaciji pokazuju da su klijanci ječma, pšenice i ovska pokazali veće vrednosti TCX od brokolija i klijanaca kupusa. Važno je napomenuti da je doprinos TCX sadržaja i TChl sadržaja bio kompatibilan u svim sortama klijanaca kao što je prikazano na slici 23.



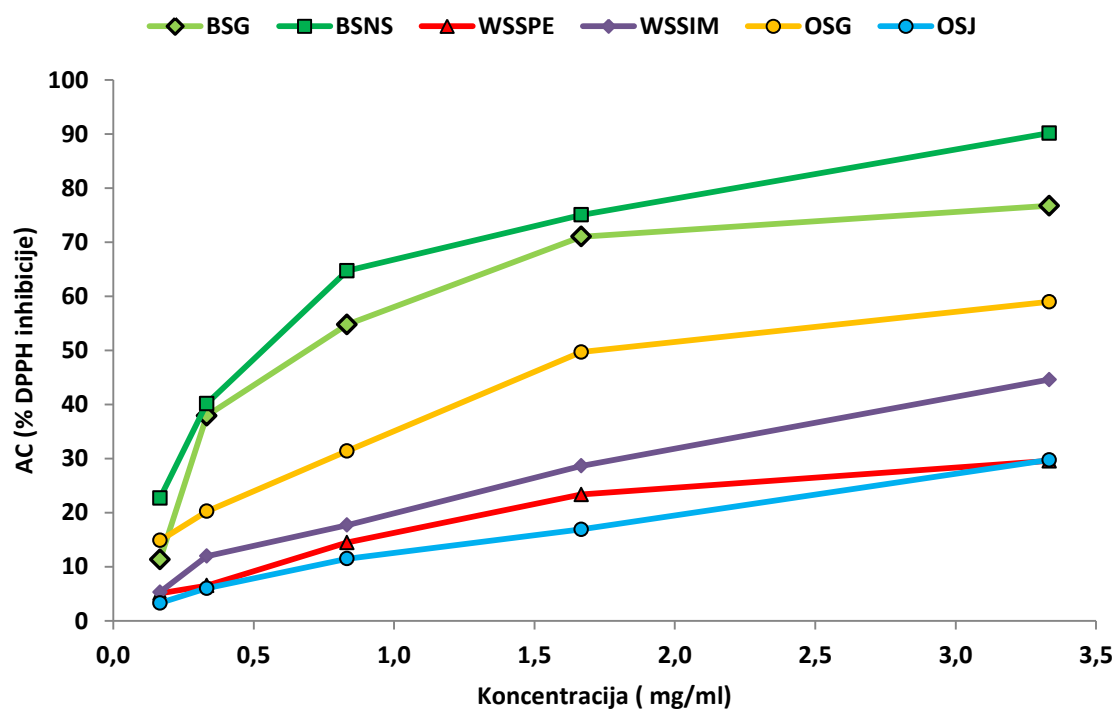
Slika 23. Doprinos TCX sadržaja u skladu sa TChl sadržajem od ukupnih prirodnih pigmentata za sorte uzoraka klijanaca (FDS)

4.2. BIOAKTIVNOST KLIJANACA

4.2.1. ANTIOKSIDATIVNI KAPACITET

4.2.1.1. DPPH test

U cilju testiranja biološke aktivnosti sušenih klijanaca (FDS) u ovoj studiji je korišćenjem DPPH testa ispitivan njihov antioksidativni kapacitet. *In vitro* test baziran na DPPH radikalima (DPPH[•]) korišćen je za određivanje antioksidativnog kapaciteta (AC) ekstrakata klijanaca. Ovaj test se veoma često koristi za određivanje kapaciteta hvatanja slobodnih radikala kod različitih biljaka. Kada antioksidant hvata slobodne radikale donacijom vodonika, boja i njen intenzitet u rastvoru DPPH[•] se menja, u zavisnosti od antioksidativnog kapaciteta ekstrakata. Primećeno je da % inhibicije u DPPH testovima ekstrakata klijanaca direktno zavisi od koncentracije FDS uzoraka, i povećava se sa povećanjem njihove koncentracije, što pre svega zavisi od količine polifenola. AC_{DPPH} za uzorke FDS je ispitivan i rezultati su prikazani na slici 24. BSNS je pokazao značajno veći ($p \leq 0,05$) AC_{DPPH}% 90,19% pri koncentraciji 3,33 mg/ml, u odnosu na druge sorte u svim koncentracijama. Antioksidativna aktivnost na DPPH radikale se smanjio po sledećem redosledu: BSNS > BSG > OSG > WSSIM, dok su uzorci OSJ i WSSPE pokazali najmanji ($p \leq 0,05$) AC_{DPPH}% (29,77 i 29,59% pri 3,33 mg/ml). Mehanizam antioksidanata zasniva se da oni doniraju atom vodonika DPPH radikalima stvarajući stabilne molekulske strukture DPPH-H (Baumann i sar., 1979). IC₅₀ je definisan kao neophodna koncentracija pri kojoj su radikali generisanih reakcionih sistema inhibirani 50% i ovaj parameter služi kao indikator aktivnosti hvatanja radikala.



Slika 24. Uticaj FDS na transformaciju DPPH radikala

Vrednost IC_{50} izražava količinu FDS ekstrakta potrebnu za smanjenje apsorbancije DPPH od 50% (Antolovich i sar., 2002). Vrednost se može grafički odrediti, a onda korišćenjem jednačine regresije se izračunava IC_{50} . Veća IC_{50} vrednost odgovara nižoj antioksidativnoj aktivnosti hvatanja DPPH radikala. Vrednosti IC_{50} za uzorke FDS u svim DPPH testovima su izračunate i navedene u tabeli 16.

Tabela 16. IC_{50} vrednosti FDS u DPPH testu i drugi AC parametri

FDS	IC_{50}^{DPPH} (mg/ml)	$1/IC_{50}^{DPPH}$ ARP (ml/mg)	TEAC ($IC_{50}^{TEAC} / IC_{50}^{uzorak} \cdot 10^5$)	mmol TE/100 g s.m.	mg TE/100 g s.m.
BSNS	$0,54 \pm 0,04^a$	$1,88 \pm 0,16^a$	$525,08 \pm 44,16^a$	$2,40 \pm 0,20^a$	$600,77 \pm 50,53^a$
BSG	$0,73 \pm 0,02^b$	$1,36 \pm 0,03^b$	$381,65 \pm 8,22^b$	$1,70 \pm 0,04^b$	$426,14 \pm 9,17^b$
OSG	$2,12 \pm 0,24^c$	$0,48 \pm 0,05^c$	$133,38 \pm 14,53^c$	$0,57 \pm 0,06^c$	$141,49 \pm 15,41^c$
OSJ	$8,86 \pm 0,07^d$	$0,11 \pm 0,00^d$	$31,61 \pm 0,25^d$	$0,13 \pm 0,00^d$	$33,58 \pm 0,27^d$
WSSPE	$5,67 \pm 0,75^d$	$0,18 \pm 0,02^d$	$50,00 \pm 6,84^d$	$0,24 \pm 0,03^d$	$59,67 \pm 8,16^d$
WSSIM	$4,69 \pm 0,53^d$	$0,22 \pm 0,03^d$	$60,24 \pm 7,12^d$	$0,27 \pm 0,03^d$	$66,62 \pm 7,88^d$

Rezultati su prikazani kao srednja vrednost \pm SD ($n = 3$). Ista slova u kolonama predstavljaju statistički nebitne razlike ($p \leq 0,05$).

IC₅₀ vrednosti određene DPPH metodom, kretale su se u rasponu od 0,54 ± 0,04 do 8,86 ± 0,07 mg/ml. Najniža IC₅₀^{DPPH} vrednost zabeležena je u BSNS, a najviša u OSJ (p ≤ 0,05). FDS koji imaju manju IC₅₀^{DPPH}, imaju veću antioksidativnu aktivnost. Kao što je prikazano u tabeli 16, postoji velika statistički značajna razlika u ovoj vrednosti, između FDS klijanaca (p ≤ 0,05), dok ne postoji značajna razlika između OSJ, WSSEP i WSSIM. Shen i sar. (2016) objavili su da je IC₅₀^{DPPH} vrednost crnog brdskog ječma (0,19 mg/ml) manja od vrednosti za uzorke FDS. Porast IC₅₀^{DPPH} vrednosti se objašnjava prisustvom veće količine TPC u crnom brdskom ječmu (171,77 mg GAE/100 g) nego u FDS. Mogući razlog za ovo, pored različitog porekla uzoraka, bi mogle biti i različite metode ekstrakcije crnog brdskog ječma (alkalna hidroliza) koje su primenjene u ovim ispitivanjima.

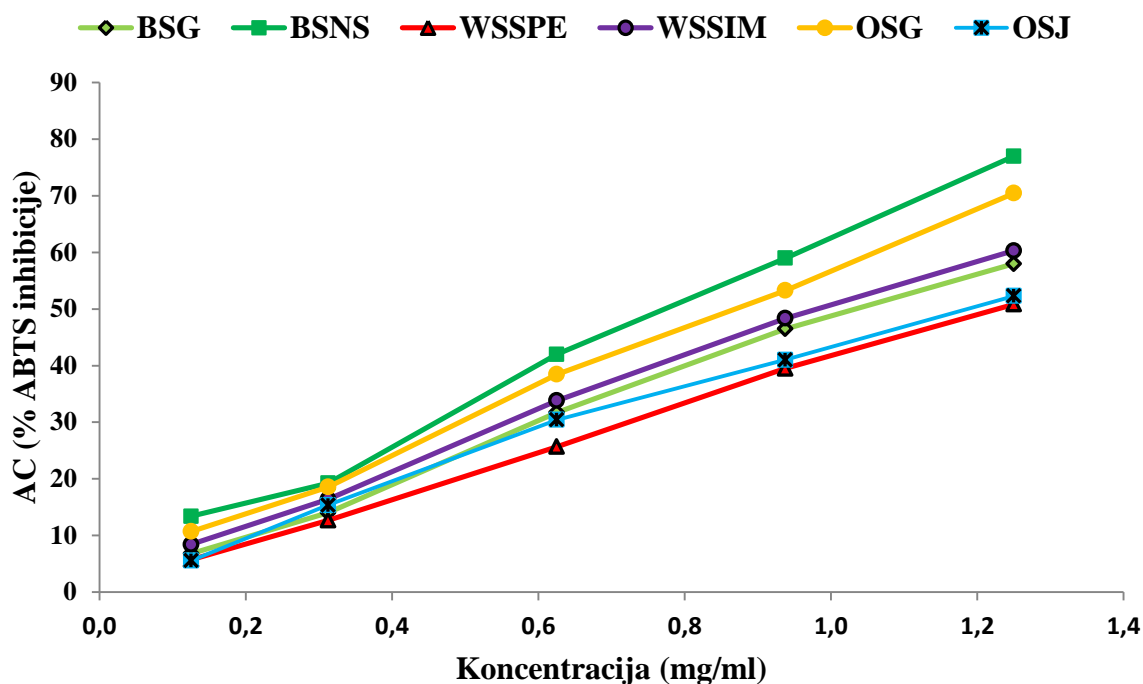
Smanjenje antioksidativne sposobnosti (ARP) je suprotno od IC₅₀ vrednosti, što je veći ARP to je efikasniji antioksidant. Najviše vrednosti ARP su određene za uzorke BSNS i BSG (1,88, 1,36 ml/mg), zatim slede OSG, WSSIM i WSSPE. Uzorak OSJ je imao najnižu vrednost ARP (0,11 ml/mg). Antioksidativni kapacitet uzorka je izražen kao troloks ekvivalentne antioksidativne vrednosti kapaciteta (TEAC) koristeći formulu $TEAC = (IC_{50}Troloks/IC_{50}uzorka) \times 10^5$ (Hagen i sar., 2007). BSNS je pokazao značajno veće (p ≤ 0,05) TEAC_{DPPH} vrednosti u odnosu na druge uzorke FDS. Uzorak OSJ je imao najniže vrednosti (p ≤ 0,05) TEAC_{DPPH}. U ovim testovima TE vrednosti za BSNS su bile 1,37, 3,94, 16,61, 10,50, i 8,72 puta veće u odnosu na BSG > OSG > OSG > WSSPE i WSSIM. Alvarez-Jubete i sar. (2010) su istraživali antioksidativni kapacitet amaranta, kinoe, klijanaca heljde i klijanaca pšenice. Oni su objavili da klijanci heljde i klijanci pšenice poseduju 666 i 73,7 mg TE/100 g s.m. Rezultati ove doktorske disertacije ukazuju da su nivoi TE vrednosti BSNS bili slični kao kod TE vrednosti klijanaca heljde, a utvrđeno je da su TE vrednosti BSG, kao i ostale TE vrednosti FDS niži od TE vrednosti klijanaca heljde. Za WSSIM i WSSPE je u ovm radu utvrđeno da imaju vrednosti slične vrednostima utvrđenim za pšenicu (Alvarez-Jubete i sar., 2010).

Uzorci BSNS, BSG i OSG su pokazali veći AC u poređenju sa uzorcima klijanca pšenice koji su ispitivali Alvarez-Jubete i sar. (2010). Pajak i sar. (2014) ispitujući uzorke klijance zlatnog pasulja, rotkvice, brokolija i suncokreta su utvrdili,

primenom DPPH testa, da su se AC vrednosti kretale u rasponu od 141 za zlatni pasulj do 607 mg TE/100 g s.m. za klijance rotkvice. Pajak i sar. (2014) su takođe utvrdili da uzorci klice suncokreta imaju najviši AC_{DPPH} (1147 mg TE/100 g s.m.), dok je kod klijanaca brokolija registrovan najniži AC_{DPPH} (365 mg TE/100g s.m.). Prema tim rezultatima, AC_{DPPH} kod uzoraka BSNS i BSG su veći od AC_{DPPH} vrednosti zlatnog pasulja i brokolija, a niži od AC_{DPPH} suncokreta, a AC_{DPPH} uzorka BSNS je bio sličan AC_{DPPH} klijanca rotkvice. AC_{DPPH} uzorka OSG je u ovm radu imao istu vrednost kao AC_{DPPH} vrednost zlatnog pasulja (141 mg T /100 g s.m.).

4.2.1.2. ABTS test

ABTS katjon radikal ($ABTS^{\bullet+}$) se, pored DPPH radikala, često koristi za određivanje sposobnosti prirodnih jedinjenja da predaju vodonikov atom slobodnim radikalima, koji je najčešći i najjednostavniji mehanizam antioksidativne zaštite. Zbog toga je antioksidativna aktivnost ekstrakata FDS praćena i $ABTS^{\bullet+}$ metodom. Sposobnost uzoraka FDS da hvataju $ABTS^{\bullet+}$, tj. vrednosti AC_{ABTS} , su utvrđene primenom modifikovane metode (Tumbas Šaponjac i sar., 2014). Procenti inhibicije u ABTS testu za uzorke FDS su zavisni od koncentracije i povećavaju se tokom povećanja koncentracije FDS. Rezultati ABTS testa su pokazali da je uzorak BSNS imao najveću „skevindžer“ aktivnost na slobodne radikale od 77%, pri koncentraciji od 1,25 mg/ml. Zatim slede uzorci OSG, WSSIM, BSG, OSJ i WSSPE sa određenim vrednostima od 70%, 60%, 58%, 52%, i 50% redom za navedenu koncentraciju (slika 25). Uzorci BSNS i OSG su pokazali najveću ABTS inhibiciju.



Slika 25. Uticaj FDS na transformaciju ABTS radikala

Ne postoji statistički značajna razlika između uzoraka BSG i WSSIM, kao i između OSJ i WSSPE. WSSPE je imao najniže vrednosti u % AC_{ABTS} ($p \leq 0,05$; tabela 17). Što se tiče vrednosti IC_{50} , niža vrednost ukazuje veću aktivnost u hvatanju slobodnih radikala uzorka. Redosled vrednosti IC_{50} za uzorke FDS bio je: BSNS <OSG <WSSIM <BSG <WSSPE (Tabela 17). Što je veća vrednost za ARP to je antioksidant efikasniji. Najviše vrednosti ARP su utvrđene kod BSNS i OSG (1,27, 1,15 ml/mg), zatim slede WSSIM, BSG, OSJ i WSSPE. WSSPE je imao najnižu vrednost ARP (0,82 ml/mg). Svi rezultati su u saglasnosti sa % AC_{ABTS} . Antioksidativni kapacitet uzorka je izražen i kao troloks ekvivalent antioksidativnih vrednosti kapaciteta (TEAC) koristeći formulu $TEAC = (IC_{50} \text{ troloks} / IC_{50} \text{ uzorak}) \times 10^5$, (Hagen i sar., 2007).

Kao što je prikazano u tabeli 17 uzorak BSNS je pokazao značajno veće vrednosti ($p \leq 0,05$) za $TEAC_{ABTS}$ u odnosu na druge FDS uzorke. Vrednosti $TEAC_{ABTS}$ za WSSPE i OSJ su bile najniže ($p \leq 0,05$). U ovim testovima TE vrednosti za BSNS su bile 1,19, 1,32, 1,35, 1,48, i 1,59 puta veće u odnosu na OSG > WSSPE > BSG > WSSPE i OSJ. TE vrednosti u ovom radu (tabela 17) su se kretale od 173,80 kod OSJ do 276,19 (mgTE/100 g s.m.) kod BSNS. Pajak i sar. (2014) su utvrdili AC za klijance

zlatnog pasulja, rotkvice, brokolija i suncokreta primenom ABTS testa. Vrednosti su bile u rasponu od 1133 TE/100 g s.m. u klijancima zlatnog pasulja do 2467 mg TE/100 g s.m. u klijancima rotkvice. Pajaki sar. (2014) su utvrdili da su klijanci rotkvice pokazali najvišu AC_{ABTS} (2476 mg TE/100g SM). Prema tim rezultatima, svi FDS u ovom radu su pokazali niže AC_{ABTS} od gore navedenih podataka.

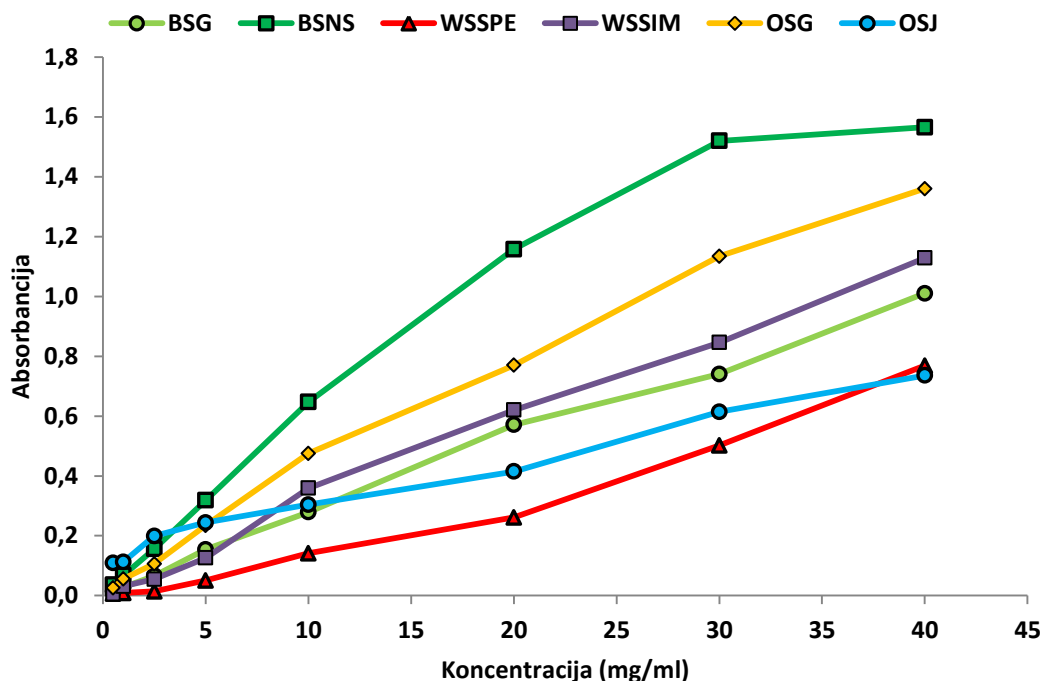
Tabela 17. Vrednosti IC_{50} za uzorke FDS u ABTS testu i drugi AC parametri

FDS	IC_{50}^{ABTS} (mg/ml)	$1/IC_{50}^{ABTS}$ ARP (ml/mg)	TE ($IC_{50}^{TE}/$ $IC_{50}^{Uzorak}) \cdot 10^5$	mmol TE/100 g s.m.	mg TE/100 g s.m.
BSNS	$0,79 \pm 0,02^a$	$1,27 \pm 0,03^a$	$241,83 \pm 5,24^a$	$1,11 \pm 0,02^a$	$276,69 \pm 5,99^a$
BSG	$1,04 \pm 0,03^b$	$0,96 \pm 0,03^b$	$183,28 \pm 5,24^b$	$0,82 \pm 0,02^b$	$204,64 \pm 5,85^b$
OSG	$0,87 \pm 0,01^c$	$1,15 \pm 0,02^c$	$218,94 \pm 2,94^c$	$0,93 \pm 0,01^c$	$232,24 \pm 3,12^c$
OSJ	$1,16 \pm 0,06^d$	$0,86 \pm 0,04^d$	$163,63 \pm 8,22^d$	$0,69 \pm 0,03^d$	$173,80 \pm 8,73^d$
WSSPE	$1,21 \pm 0,03^d$	$0,82 \pm 0,02^d$	$156,60 \pm 3,29^d$	$0,75 \pm 0,02^d$	$186,90 \pm 3,93^d$
WSSIM	$1,00 \pm 0,01^b$	$1,00 \pm 0,01^b$	$189,81 \pm 1,33^b$	$0,84 \pm 0,01^b$	$209,92 \pm 1,47^b$

Rezultati su prikazani kao srednja vrednost \pm SD (n = 3). Ista slova u kolonama predstavljaju statistički neznačajne razlike ($p \leq 0,05$).

4.2.1.3. Test redukcione sposobnosti (Rp)

Redukciona sposobnost povezana je sa antioksidativnom aktivnošću i može da služi kao značajan indikator antioksidativne aktivnosti (Oktai sar., 2003). Jedinjenja sa redukcionom sposobnošću su elektron donori i mogu redukovati oksidovane intermedijere tokom lipidnih peroksidacionih procesa, tako da oni mogu delovati i kao primarni i kao sekundarni antioksidanti (Chandai sar., 2009). U ovom testu, žuta boja rastvora se menja u različite nijanse zelene i plave u zavisnosti od redukcione sposobnosti svakog jedinjenja. Prisustvo redukujućih agenasa, odnosno antioksidanata, iz uzoraka klijanaca, izaziva redukciju Fe^{3+} do Fe^{2+} jona.



Slika 26. Redukciona sposobnost uzoraka klijanaca

Rp svih ekstrakata FDS se povećala sa povećanjem koncentracije. Slika 26 prikazuje rast apsorbancije svih FDS uzoraka sa povećanjem koncentracija FDS ekstrakata. Pri koncentraciji FDS uzoraka od 10 mg/ml, na primer, dobijene vrednosti za Rp su pokazali da BSNS ima najveći potencijal hvatanja slobodnih radikala na osnovu apsorbancije (0,65) pri koncentraciji 10 mg/ml. Zatim slede uzorci OSG, WSSIM, OSJ, BSG i WSSPE sa vrednostima 0,48, 0,36, 0,30, 0,28, i 0,14 koje su dobijene pri navedenoj koncentraciji (slika 26). BSNS i OSG su pokazali najveće Rp vrednosti. Svi FDS uzorci osim OSJ i WSSPE su ispoljili veću redukcionu sposobnost. Rezultati su prikazani u tabeli 18, kao i vrednosti $IC_{0,5}$. Što je niža $IC_{0,5}$ vrednost to je veća sposobnost uzorka da hvata slobodne radikale. Redosled je sledeći: BSNS < OSG < WSSIM < BSG < OSJ i WSSPE (tabela 20). Veća razlika ($p \leq 0,05$) je uočena između uzorka BSNS koji je imao najniži $IC_{0,5}$ (9,35) i uzorka OSJ, i WSSPE koji su imali o najveće $IC_{0,5}$ (24,58, 25,83). Generalno, postoji statistički značajna razlika između svih uzoraka FDS, osim kod OSJ i WSSPE, gde značajna razlika nije primećena u ($p \leq 0,05$).

Tabela 18. $IC_{0,5}$ vrednosti u FDS uzorcima i ostali Rp parametri

FDS	$IC_{0,5}^{RP}$ (mg/ml)	ARP $1/IC_{0,5}^{Rp}$ (ml/mg)	TE_{Rp} ($IC_{0,5}^{TE_{Rp}} /$ $IC_{0,5}^{Uzorak}) * 10^5$	mmol TE/100 g s.m.	mg TE/100 g s.m.
BSNS	9,35 ± 0,06 ^a	0,11 ± 0,00 ^a	764,86 ± 4,97 ^a	3,50 ± 0,02 ^a	875,12 ± 5,68 ^a
BSG	19,72 ± 1,08 ^b	0,05 ± 0,00 ^b	363,29 ± 19,34 ^b	1,62 ± 0,09 ^b	415,67 ± 22,13 ^b
OSG	12,24 ± 0,48 ^c	0,08 ± 0,00 ^c	584,53 ± 22,80 ^c	2,48 ± 0,10 ^c	668,80 ± 26,08 ^c
OSJ	24,58 ± 0,04 ^d	0,04 ± 0,00 ^d	290,91 ± 0,46 ^d	1,23 ± 0,00 ^d	332,85 ± 0,52 ^d
WSSPE	25,83 ± 0,17 ^d	0,04 ± 0,00 ^d	276,78 ± 1,79 ^d	1,32 ± 0,01 ^d	316,68 ± 2,04 ^d
WSSIM	17,58 ± 0,49 ^e	0,06 ± 0,00 ^e	406,87 ± 11,25 ^e	1,80 ± 0,05 ^e	465,53 ± 12,87 ^e

Rezultati su prikazani kao srednja vrednost ± SD (n = 3). Ista slova u kolonama predstavljaju statistički neznačajne razlike ($p \leq 0,05$).

Rezultati za FDS uzorke su izraženi kao troloks ekvivalent antioksidativnog kapaciteta (TE_{Rp}) koristeći formulu $TE_{Rp} = (IC_{0,5} \text{ troloks} / IC_{0,5} \text{ uzorak}) \times 10^5$ (Hagen i sar., 2007). Kao što je prikazano u tabeli 20, BSNS je pokazao značajno veću TE_{Rp} vrednost u odnosu na druge FDS uzorke ($p \leq 0,05$). Za OSJ i WSSPE vrednosti su bile najniže ($p \leq 0,05$). U ovim testovima TE vrednosti u BSNS su 1,30, 1,88, 2,11, 2,63, i 2,76 puta veće u odnosu na OSG > WSSPE > BSG > OSJ > i WSSPE. Dobijeni TE rezultati u tabeli 18 su se kretali od 1,23 za OSJ do 3,50 mgTE/100 g SM za BSNS. Alvarez-Jubete i sar. (2010) su istraživali antioksidativni kapacitet klijanaca amaranta, kinoe, heljde i pšenice. Oni su utvrdili Rp testom da klijanci heljde i pšenice imaju 739 i 210 mg TE/100 g s.m. Rezultati prikazani u tabeli 18 su pokazali da su vrednosti TE u BSNS bili veći od TE klijanaca heljde i pšenice, dok su svi ostali FDS uzorci imali niže vrednosti od heljde, ali veće od pšenice. Pajak i sar. (2014) su istraživali Rp u klijancima zlatnog pasulja, rotkvice, brokolija i suncokreta. Ovi autori su utvrdili da klijanci suncokreta imaju najveću Rp vrednost od 11,05 mmol/100 g suve materije i 1,20 u klijancima pasulja, dok je ova vrednost za klijance brokolija i rotkvice bila 8,64, odnosno 10,49.

Fenolna jedinjenja se smatraju antioksidantima koji imaju sposobnost terminacije slobodnoradikalskih reakcija. Njihova aktivnost zavisi od mnogih faktora kao što su energija disocijacije veze O-H, mogućnost delokalizacije i rezonantne stabilizacije nesporenog elektrona slobodnog radikala fenolnog jedinjenja i sternih smetnji volumi-

noznih grupa vezanih za aromatični prsten (Jaiaprakashi sar. 2007; Abdille i sar., 2005 i Hodžić i sar., 2009.). Konstante brzina reakcija fenolnih jedinjenja sa slobodnim radikalima određuju njihovu antioksidativnu efikasnost (Vang i Mazza, 2002, Kouri i sar., (2007).

4.2.2. ANTIINFLAMATORNA AKTIVNOST (AIA KLIJANACA FDS)

Inflamacija je pojava patofiziološkog odgovora na povrede, infekcije ili pro-padanje tkiva okarakterisana toplotom, crvenilom, bolom, oticanjem i poremećenim funkcionisanjem. Takođe, inflamacija je normalni zaštitni odgovor na povredu tkiva izazvanu fizičkom traumom, štetnim hemijskim ili mikrobiološkim agensima. To je odgovor tela da deaktivira ili uništi napadajuće organizme, kako bi se uklonile iriti-rajuće materije i stvorili uslovi za reparaciju tkiva. Ovo se pokreće oslobađanjem he-mijskih medijatora iz oštećenog tkiva i ćelija koje migriraju (Anonymous, 2005). Naj-češće korišćeni lekovi za tretiranje upalnih stanja su nesteroidni lekovi. Postoje odre-đeni problemi u vezi sa upotrebom životinja u eksperimentalnim farmakološkim istraživanjima, kao što su etička pitanja i nedostatak obrazloženja za njihovo korišće-nje kada su dostupne druge pogodne metode. U ovoj doktorskoj disertaciji je izabran test denaturacije proteina za *in vitro* procenu antiinflamatornih osobina hidroalkohol-nih (metanolskih) ekstrakata. Metod antidenaturacije albumina iz jaja je izabran u cilju procene antiinflamatorne aktivnosti (AIA) osušenih klijanaca (FDS). U ovom testu de-naturacija je indukovana termičkom obradom. Natrijum diklofenak je korišćen kao pozitivna kontrola. Već je dokazano da konvencionalni nesteroidni antiinflamatorni lekovi (NSAID), kao fenilbutazon i indometazin ne deluju samo inhibicijom proizvod-nje endogenog prostaglandina blokiranjem enzima ciklooksigenaze (COX) već i spre-čavanjem denaturacije proteina (Ullah i sar., 2014).

Denaturacija proteina tkiva je jedan od dobro dokumentovanih uzroka infla-matornih bolesti i bolesti artritisa. Proizvodnja autoantigena u pojedinim bolestima artritisa može biti usled denaturacije proteina *in vivo* (Umapathi i sar., 2010).

Prema podacima prikazanim na slici 27 uzorci FDS su ispoljili koncentracijski zavisnu inhibiciju denaturacije proteina (albumina) u celom opsegu koncentracija

(2,50, 5,00,10,00 i 20,00 mg/ml). Međutim, taj efekat nije primećen pri niskim koncentracijama (0,25, 1,25), dok je natrijum diklofenak, kao referentni lek, imao pozitivan efekat na denaturaciju proteina u koncentraciji opsega od 0,25, 1,25, 2,50, 5,00, 10,00 i 20,00 mg/ml. Efekat natrijum diklofenaka je bio viši u poređenju sa vrednostima dobijenim za uzorke FDS. Pri niskim koncentracijama, koje počinju od 2,5 do 20 mg/ml, BSNS je pokazao veću inhibiciju denaturacije proteina ($p \leq 0,05$), dok su WSSIM i OSG pokazali slično ponašanje, a WSSPE i OSJ pokazuju manju inhibiciju denaturacije proteina.

Ovo je dalje i potvrđeno, poređenjem njihovih IC_{50}^{AIA} vrednosti. IC_{50}^{AIA} vrednosti su prikazane u tabeli 19. Utvrđeno je da je uzorak BSNS značajno efikasnije ($p \leq 0,05$) sprečava denaturaciju proteina u odnosu na druge FDS uzorake. Vrednosti IC_{50}^{AIA} su bile u rasponu od $1,43 \pm 0,07$ za BSNS do $4,77 \pm 0,56$ za OSJ koji je imao i najveću IC_{50} vrednost. Međutim, svi FDS uzorci su pokazali manju AIA od natrijum diklofenaka ($IC_{50}^{AIA} = 0.79$ mg/ml).

Tabela 19. antiinflamatorna aktivnost, IC_{50}^{AIA} za uzorke FDS

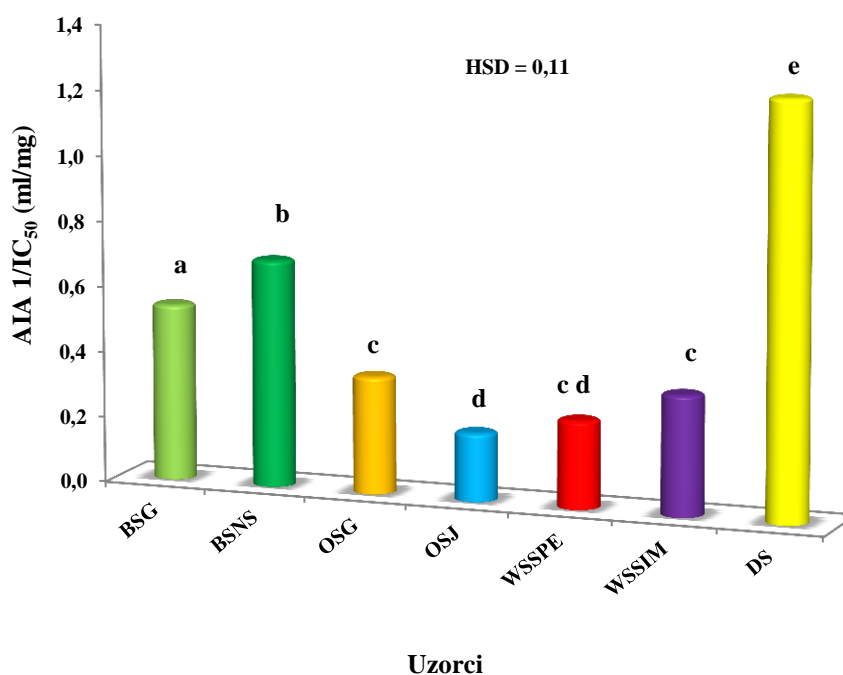
<i>FDS</i>	<i>IC_{50}^{AIA} (mg/ml)</i>
BSG	$1,86 \pm 0,20$
BSNS	$1,43 \pm 0,07$
OSG	$2,77 \pm 0,05$
OSJ	$4,77 \pm 0,56$
WSSPE	$3,70 \pm 0,38$
WSSIM	$2,71 \pm 0,03$
DS	$0,79 \pm 0,00$

Podaci prikazani predstavljaju srednja vrednost \pm standardna devijacija ($n = 3$).

Ullah i sar. (2014), primenom iste eksperimentalne metode, su zaključili da je etanolni ekstrakt korena kurkume posedovao značajnu AIA, dok je za acetilsalicilnu kiselinu vrednost AIA bila i veća.

Svi FDS uzorci su pokazali mnogo niže vrednosti za AIA od onih nađenih u literaturi. Podaci za AIA žitarica ili klijanaca žitarica, određena na osnovu testa denaturacije proteina, nisu nađeni u literaturi. Chandra i sar. (2012a) su zaključili da cvet *Mikania scandens* ima značajan antiinflamatorni efekat, određen denaturacijom proteina, *in vitro*; on ima IC_{50} 0,007 mg/ml. Chandra i sar. (2012b) su takođe objavili da sušeno zrelo seme kafe (*Coffea arabica* Linn.) ima vrednost IC_{50} 0,004 mg/ml, a natrijum diklofenak (DS) 0,63 mg/ml; slična vrednost za IC_{50} DS 0,79 mg/ml dobijena je i tokom eksperimentalnog rada u okviru ove doktorske disertacije. Na osnovu rezultata, računatim kao IC_{50} vrednost, FDS uzorci pokazuju manju AIA od semena kafe i cveta *Mikania scandens* koji se koriste za neke medicinske svrhe u Indiji.

Što se tiče inverzne vrednosti za IC_{50} ($1/IC_{50}$), prikazane na slici 27, može se zaključiti da je BSNS imao najveću vrednost za AIA, zatim sledi BSG, dok nije pronađena značajna razlika između ovih vrednosti kod uzoraka WSSIM, OSG i WSSPE. A, ne postoji statistički značajne razlike ovih vrednosti za WSSPE i OSJ ($p \leq 0,05$).



Slika 27. antiinflamatorna aktivnost ($1/IC_{50}$) za FDS i DS

Rezultati su prikazani kao srednja vrednost \pm SD ($n = 3$). Ista slova u barovima predstavljaju statistički neznačajnu razliku ($p \leq 0,05$).

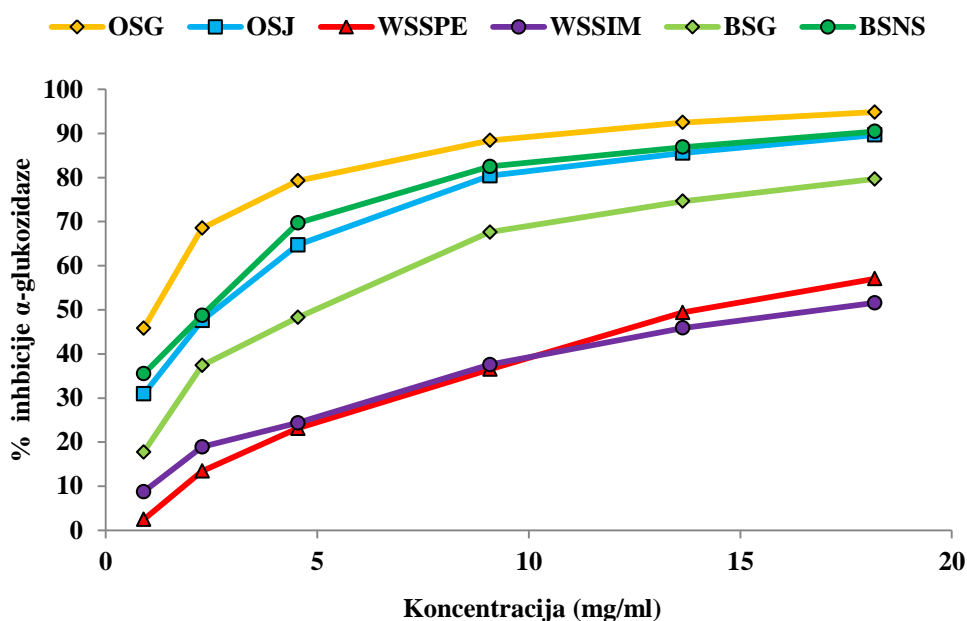
Objavljeno je da listovi ječma poseduju korisna svojstva, kao što su antihiperlipidemično, antidepresivno i antidijabetsko delovanje (Kamiyama i Shibamoto, 2012). Ovaj raznovrstan asortiman zdravstvenih koristi je verovatno uzrokovan širokim spektrom sekundarnih metabolita koji se nalaze unutar klijanaca žitarica. Može se pretpostaviti da je *in vitro* bioaktivnost ispitivanih uzoraka FDS uslovljena prisustvom velikog broja bioaktivnih jedinjenja, predstavljenih u tabelama 13 i 14, kao i sinergističkom efektu između tih prisutnih jedinjenja.

4.2.3. ANTIHIPERGLIKEMIJSKA AKTIVNOST (AHGA)

Kontrola hiperglikemije je od suštinskog značaja u strategiji lečenja dijabetesa. Inhibitori enzima α -glukozidaze i α -amilaze igraju ulogu u upravljanju postprandijalne hiperglikemije kod dijabetičara (Tundis i sar., 2010). Inhibicija α -glukozidaze se smatra efikasnom strategiju za kontrolu dijabetesa smanjenjem absorpcije glukoze (Hara i Honda, 1990). Antioksidativni sistem odbrane, koji normalno modulira nivo oksidativnog stresa, se menja u prisustvu dijabetesa i uključen je u patogenezu dijabetesa i njegovih komplikacija (Puls i sar., 1977). Inhibitori glukozidaze su takođe interesantni zbog svog obećavajućeg terapijskog dejstva protiv bolesti, kao što su HIV infekcija, metastatski karcinom i bolesti lizozomnog skladištenja (Jabeen i sar., 2013). Ekstrakti bogati polifenolima su poznati da imaju inhibitorski potencijal za α -glukozidazu (α -GIP). α -GIP je koristan test za procenu potencijalnog antihiperglikemijskog efekta klijanaca (Donkor i sar., 2012).

Istraživanja su pokazala da unos biljnog materijala bogatog polifenolima može izazvati antihiperglikemijske efekte kod životinja i kod ljudi, eventualno putem inhibicije α -glukozidaze i/ili α -amilaze (Hogan i sar., 2010).

Potencijal FDS uzoraka testiranih na inhibiciju α -glukozidaze predstavljen je na slici 28. α -GIP je testirana u koncentracionom opsegu 0,90 – 18,18 mg/ml. U svim FDS uzorcima kao što je prikazano na slici 28, primetan je opšti trend da inhibicija α -glukozidaze raste sa povećanjem koncentracije FDS.



Slika 28. Uticaj uzoraka FDS na inhibiciju α - glukozidaze (%)

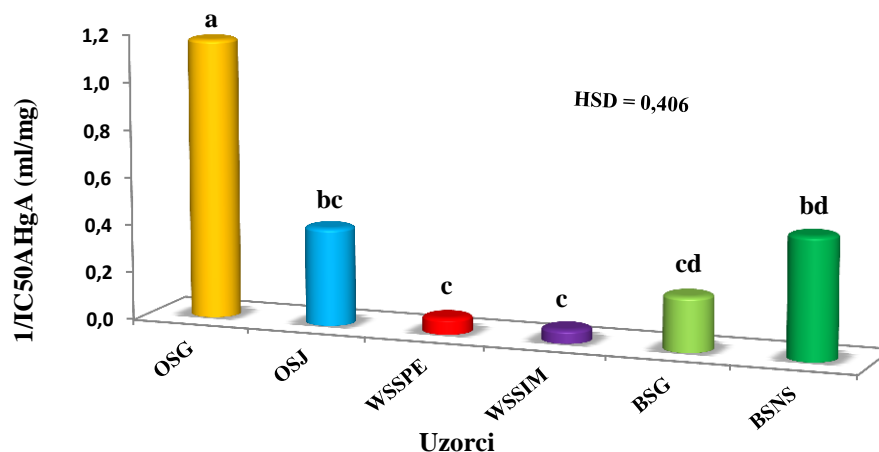
OSG je pokazao značajno veći AHgA ($p \leq 0,05$) u odnosu na druge FDS uzorke, zatim slede BSNS, OSJ i BSG. Sa druge strane WSSIM i WSSPE su pokazali niske inhibitorne efekte. Na osnovu IC_{50}^{AHgA} vrednosti (Tabela 20), može se videti da su vrednosti IC_{50}^{AHgA} u rasponu od $0,90 \pm 0,24$ za OSG, koja je imala i najnižu IC_{50}^{AHgA} vrednost, a za WSSIM od $17,28 \pm 0,82$, koji je imao i najveći IC_{50}^{AHgA} .

Tabela 20. antihiperглиkemijska aktivnost (AHgA) izračunata kao IC_{50}^{AHgA} vrednosti za FDS.

FDS	IC_{50}^{AHgA} (mg/ml)
BSG	$4,40 \pm 0,55$
BSNS	$1,97 \pm 0,13$
OSG	$0,90 \pm 0,24$
OSJ	$2,47 \pm 0,39$
WSSPE	$14,61 \pm 1,35$
WSSIM	$17,28 \pm 0,82$

Prikazani podaci predstavljaju srednju vrednost \pm standardna devijacija ($n = 3$).

Donkor i sar. (2012) navode da je veća inhibicija α -glukozidaze utvrđena u proklijanom sirku (20% AHgA) i proklijanjoj raži (12% AHgA). Proklijani ječam je pokazao veću inhibitornu aktivnost α -glukozidaze, u odnosu na ovas i pirinač, dok je sličan sa pšenicom i heljdom.



Slika 29. antihiperглиkemijska aktivnost uzoraka FDS ($1 / IC_{50}^{AHgA}$)

Rezultati su prikazani kao srednja vrednost \pm SD ($n = 3$). Ista slova u barovima predstavljaju statistički neznačajnu razliku ($p \leq 0,05$).

Tumbas Šaponjac i sar. (2014) su istraživali uticaj fitohemikalija iz tropa kupine i maline na inhibicioni potencijal α -glukozidaze. Ovi autori su utvrdili da su vrednosti za IC_{50}^{AHgA} 0,078, odnosno 0,097 u kupini (sorte “Thornfree”, “Čačanska bestrna”), odnosno 1,825, odnosno 0,198 u malini (sorte “Willamette”, “Meeker”). Prema tim rezultatima može se videti da je OSG imao IC_{50}^{AHgA} manji od maline sorte “Willamette”, dok je uzorak BSNS imao sličan IC_{50}^{AHgA} . Svi ostali uzorci FDS su imali niski inhibicioni potencijal α -glukozidaze.

Tumbas Šaponjac i sar. (2015) su istraživali uticaj fitohemijskih jedinjenja dve sorte jagoda (“Clery” i “Marmolada”) na inhibiciju α -glukozidaze. Ovi autori su našli da je IC_{50}^{AHgA} za jagodu sorte “Marmolada” bio 0,60, dok je za sortu “Clery” bio 1,90 mg/ml. Slično ovim vrednostima su bile i IC_{50}^{AHgA} vrednosti za OSG i BSNS u našim istraživanjima. Step en inhibicije α -glukozidaze je zavisi od fitohemijskog sadržaja uzoraka. Istraživanja u okviru ove doktorske disertacije sugerise da različita polifenolna jedinjenja, prisutna u uzorcima FDS, mogu uticati na različite faze u digestiji skroba na sinergistički način. Efikasnost inhibicije različitih pojedinačnih fenolnih komponenti zavisi od njihovog mesta delovanja, njihovog mehanizma i njihovog afini-

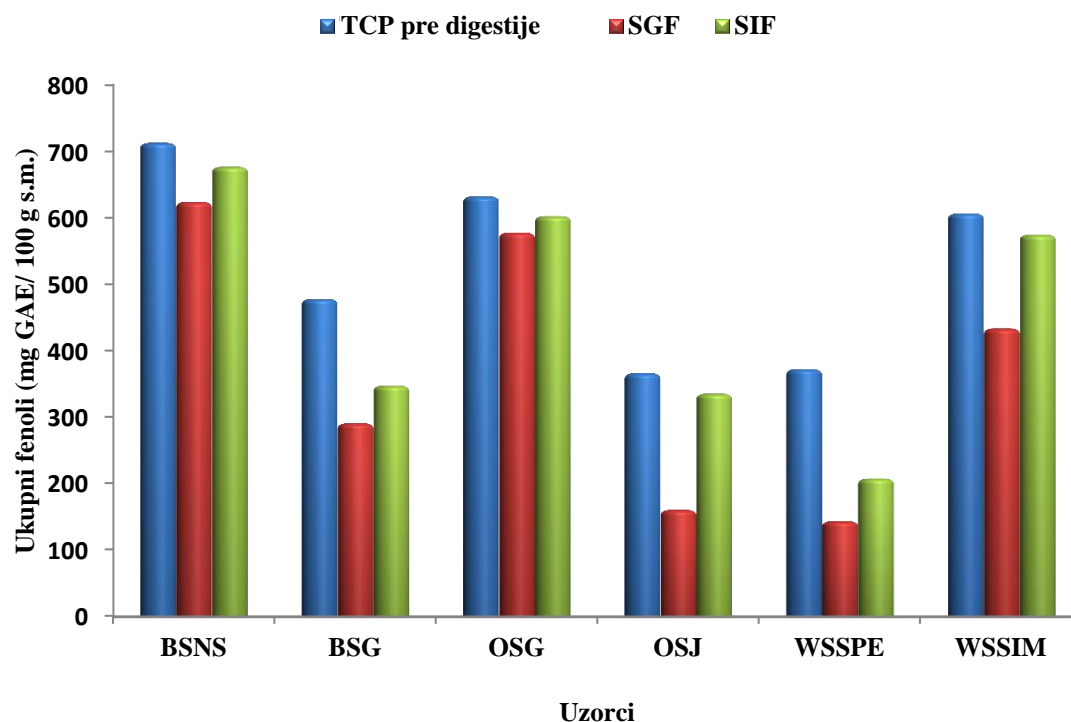
teta vezivanja, koji bi mogao biti modulisan sinergističkim ili antagonističkim delovanjem (Boath i sar., 2012). Ovo je takođe utvrđeno i u istraživanjima od Mekdugal i sar. (2008) i Giampieri i sar. (2012). Ovi autori su pokazali da su derivati kafene kiseline i protokatehinska kiselina delotvorni inhibitori α -glukozidaze. Giampieri i sar., (2012) su takođe objavili da je oralnom primenom protokatehinske kiseline na pacovima sa dijabetesom, uzrokovanim streptozotocinom tokom 45 dana tretmana, sprečilo povećanje glukoze u plazmi i glikoziliranog hemoglobina, kao i smanjene nivoa insulina i hemoglobina u plazmi.

4.3. IN VITRO GASTROINTESTINALNO VARENJE FDS UZORAKA POD SIMULIRANIM USLOVIMA

In vivo zdravstveni efekti polifenola zavise od njihove unesene količine i od njihove biološke raspoloživosti. Simulacija gastro-intestinalnom (GI) digestijom FDS uzoraka je određeno *in vitro* testom putem podvrgavanjem praškastih uzoraka želudačnim i crevnim tečnostima, odvojeno, pod simuliranim uslovima (pH, temperatura i mućkanje). Upoređivanje vrednosti TPC u digestivnim tečnostima posle simulirane digestije FDS uzoraka je prikazano na slici 30. Može se uočiti da je crevno varenje izazvalo veće oslobađanje polifenola iz uzoraka FDS od želudačnog varenja, što ukazuje na dobru stabilnost uzoraka u crevnoj tečnosti. Simulacija digestije je u crevnim tečnostima (SIF) oslobodila je 95% od ukupnih fenolnih jedinjenja prisutnih u BSNS, a 88% u želudačnim tečnostima (SGF). Od ukupnih fenolnih jedinjenja prisutnih u BSG simulacija digestije je oslobodila u SIF oko 73%, a oko 61% u SGF. Od ukupnih fenolnih jedinjenja prisutnih u OSG simulacija digestije je oslobodila u SIF oko 95%, a 91% u SGF. Od ukupnih fenolnih jedinjenja prisutnih u OSJ simulacija digestije oslobodila u SIF oko 92%, a 44% u SGF, dok su WSSPE i WSSIM oslobodile oko 56%, odnosno 94% u SIF, a 39% , odnosno 72% u SGF.

Profili TPC, oslobođenih posle simuliranih digestija iz FDS uzoraka, zavise od njihove otpornosti ili osetljivosti na probavne enzime (pepsin i pankreatin), pH opsega (u crevnim tečnostima 6,8 i u želudačnim tečnostima 1,2) strukturnih karakteristika.

Ovo tumačenje se slaže sa istraživanjima Adom i Liu (2002). Sa druge strane, Green i sar. (2007) su pokazali da su pH uslovi, a ne digestivni enzimi odgovorniji za osetljivost i oslobađanje fenolnih jedinjenja, kao što su katehini, epigalokatehin i epigalokatehin-galati. Saikia i sar. (2015) su utvrdili da je oslobađanje fenolnih jedinjenja iz tropa star fruit (*Averrhoa carambola*) tokom digestije bilo veće u želudačnim fluidima nego u crevim tečnostima.



Slika 30. *In vitro* gastrointestinalno oslobađanje polifenola iz FDS u simuliranim stomačnim i crevnim tečnostima.

Rezultati su izraženi kao srednja vrednost tri nezavisna eksperimenta.

4.4. KORELACIJA IZMEĐU SADRŽAJA FITOHEMIKALIJA I ANTIOKSIDATIVNE I BIOLOŠKE AKTIVNOSTI FDS

Za analizu korelacije, korišćene su recipročne vrednosti ($1/IC_{50}^{DPPH}$, $1/IC_{50}^{ABTS}$ i $1/IC_{0,5}^{RP}$) parametara IC_{50}^{DPPH} , IC_{50}^{ABTS} i $IC_{0,5}^{RP}$. Tako izražene vrednosti bolje predstavljaju parametre aktivnosti, jer prate rastući trend efikasnosti uzoraka u primenjenim testovima.

Ove vrednosti su ispitivane u korelaciji sa vrednostima TPC, TFC, TChl, Chl a, Chl b i TCX kvantifikovanih u uzorcima FDS. U cilju procene korelacionih odnosa

između vrednosti Pirsonov koeficijent korelacije (r) je analiziran i dobijene su značajne korelacije ($0,8 \leq r < 1$). Rezultati korelacione analize su prikazani u Tabeli 21. Može se uočiti vrlo dobra korelacija između TPC i antioksidativnog kapaciteta merenim ABTS testom (0,949), kao i između TPC i redukcionne sposobnosti ($r = 0,876$). Dok je DPPH test pokazao umerenu korelaciju ($r = 0,561$) sa TPC.

Ovi rezultati sugerišu da su fenolna jedinjenja svojim prisustvom uslovljavaju *in vitro* antioksidativnu aktivnost. S druge strane, rezultati DPPH testa je pokazao vrlo dobru korelaciju ($r = 0,851$) sa TFC. Dobra pozitivna korelacija je nađena između $1/IC_{50}^{ABTS}$ i TFC, dok je uočena niska korelacija između $1/IC_{0,5}^{RP}$ i TFC ($r = 0,461$). Vale i sar. (2014) su utvrdili da su klijanci crvenog kupusa pokazali maksimalnu antioksidativne aktivnosti na DPPH radikale posle 7 dana klijanja.

Dobijeni rezultati korelacione analize u skladu sa rezultatima Aires i sar. (2011) koji su utvrdili umereno pozitivnu korelaciju između TPC i antioksidativne aktivnosti na DPPH radikale ($r = 0,640$) u Brassica povrću (*Brassica oleracea L.* i *Brassica rapa L.*). Kao što je prikazano u tabeli 21 ne postoji uočena korelacija između TChl, Chl a, Chl b, TCX i $1/IC_{50}^{ABTS}$ aktivnosti, ni između tih prisutnih fitohemikalija i redukcionne sposobnosti, a umerene vrednosti korelacije su nađene između prisustva gore navedenih fitohemikalija i antioksidativne aktivnosti na DPPH radikale, r vrednosti kretale su se od 0,502 za TChl do 0,570 za TCX.

Tabela 21. Korelacioni koeficijent (r) između TPC, TFC, TChl, Chl a, Chl b, TCX i recipročnih vrednosti IC_{50} za DPPH, ATBS, RP, AIA i AHgA za FDS

$1/IC_{50}$	TPC	TFC	TChl	Chl a	Chl b	TCX
$1/IC_{50}^{DPPH}$	0,561	0,815	0,502	0,520	0,522	0,570
$1/IC_{50}^{ABTS}$	0,949	0,514	0,000	0,000	0,000	0,144
$1/IC_{0,5}^{RP}$	0,876	0,461	0,000	0,000	0,000	0,011
$1/IC_{50}^{AIA}$	0,712	0,842	0,551	0,545	0,567	0,622
$1/IC_{50}^{AHgA}$	0,440	0,151	- 0,320	- 0,331	- 0,288	- 0,200

Za analizu korelacije, korišćene su recipročne vrednosti ($1/IC_{50}^{AIA}$ i $1/IC_{50}^{AHgA}$) parametara IC_{50}^{AIA} i IC_{50}^{AHgA} . Ove vrednosti su ispitivane u korelaciji sa vrednostima TPC, TFC, TChl, Chl a, Chl b i TCX kvantifikovanih u FDS (tabela 21). Najveći koeficijent korelacije ($r=0,842$) ostvaren je između TFC i $1/IC_{50}^{AIA}$, a umerene vrednosti korelacije ($r=0,702$) su nađene između TPC i IC_{50}^{AIA} . Sadržaj hlorofila i karoteinoida su takođe u umerenoj korelaciji sa IC_{50}^{AIA} i vrednosti su se kretale od $r=0,551$ za TChl do ($r=0,622$) za TCX. TPC i TFC su pokazali širok spektar umerenih i slabih korelacija ($r=0,445, 0,151$) sa α -GIP. Negativne vrednosti korelacija nađene su između TChl, Chl a, Chl b, i TCX i α -GIP (tabela 21). Može se zaključiti da vrednosti antioksidativne aktivnosti, redukcione sposobnosti, kao i antiinflamatorne i antihiper-glikemijske aktivnosti zavise ne samo od količine prisutnih fenolnih jedinjenja već i njihovih strukturnih karakteristika (broja i položaja hidroksilnih grupa), a takođe i od mehanizma antioksidativnog delovanja.

5.0. ZAKLJUČAK

U radu su ispitani fitohemijski profil, antioksidativna i *in vitro* biološka aktivnost ekstrakata klijanaca šest sorti žitarica: pšenica Spelt i Simonida, (WSSPE, WSSIM); ječam, hibrid “NS565” (*Hordeum vulgare L. ssp distichum.*) (BSNS) i ne-hibridni “Golozrni” (*Hordeum vulgare var nudum.*) (BSG) i ovas Golozrni i Jadar (OSG, OSJ).

U cilju poređenja šest istraživanih vrsta klijanaca ispitivanja su obuhvatila određivanje TPC, TFC, TChl, Chla, Chlb i TCX vrednosti i testiranje njihove biološke aktivnosti (antioksidativnog kapaciteta, redukcione sposobnosti, antiinflamatorne i antihiperglikemijske aktivnosti), kao i sposobnost oslobađanja fenolnih jedinjenja iz uzoraka FDS tokom *in vitro* gastrointestinalnog varenja.

Rezultati spektrofotometrijskih ispitivanja ukazuju da je najveći sadržaj ukupnih fenolnih jedinjenja (713,25 mg/100g s.m), flavonoida (288,29 mg/100g s.m), hlorofila (196,23 mg/100g s.m) i karotenoida (37,58 mg/100g s.m) utvrđen u uzorku BSNS.

Rezultati HPLC analize fenolnih jedinjenja pokazali su da je epikatehin dominantno fenolne jedinjenje u oba klijanca ječma (BS). Pored epikatehina, oba BS sadrže značajne količine katehina, protokatehinske i galne kiseline. U oba klijanca pšenice (WS) su detektovane vanilinska, protokatehinska, siringinska, galna i sinapinska kiselina dominantna jedinjenja. Miricetin je imao najveću vrednost u oba uzorka OS.

Rezultati su pokazali da klijanci obe sorte ječma (BSNS i BSG) imaju veći antioksidativni kapacitet na DPPH radikale u poređenju sa uzorcima klijanaca pšenice i ovasa. Antioksidativni kapacitet uzorka OSG veći je od tog kapaciteta za uzorke WSSIM, WSSPE i OSJ. IC₅₀ vrednosti određene DPPH metodom kretale su se u rasponu od 0,54 ± 0,04 - 8,86 ± 0,07 mg/ml. Najniži IC₅₀^{DPPH} utvrđen je u uzorku BSNS, a najviši IC₅₀^{DPPH} u OSJ (p ≤ 0,05). Uzorci FDS koji su imali manju IC₅₀^{DPPH},

imali su veću antioksidativnu aktivnost. Utvrđena je vrlo dobra statistički značajna razlika u ovoj vrednosti, između uzoraka FDS klijanaca ($p \leq 0,05$), dok značajna razlika nije primećena između uzoraka OSJ, WSSEP i WSSIM. Najviše vrednosti ARP su određene za BSNS i BSG (1,88, 1,36 ml/mg), zatim slede OSG, WSSIM i WSSPE. OSJ je imao najnižu vrednost ARP (0,11 ml/mg).

Antioksidativni kapacitet uzorka je izražen kao troloks ekvivalentne antioksidativne vrednosti kapaciteta (TEAC). BSNS je pokazao značajno veće ($p \leq 0,05$) TEAC_{DPPH} vrednosti u odnosu na druge uzorke FDS. OSJ je imao najniže vrednosti ($p \leq 0,05$) TEAC_{DPPH}. U ovim testovima TE vrednosti za BSNS su bile 1,37, 3,94, 16,61, 10,50, i 8,72 puta veće u odnosu na uzorke BSG > OSG > OSG > WSSPE i WSSIM.

Primenom ABTS testa BSNS je pokazao veći antioksidativni kapacitet (AC_{ABTS}), a zatim sledi OSG, dok nema statistički značajne razlike između uzoraka WSSIM i BSG. WSSPE i OSJ su pokazali najmanji antioksidativni kapacitet primenom ABTS test. Redosled vrednosti IC₅₀^{ABTS} za uzorke FDS bio je: BSNS < OSG < WSSIM < BSG < WSSPE. Najviše vrednosti ARP su nađene kod BSNS i OSG (1,27, 1,15 ml/mg), zatim slede WSSIM, BSG, OSJ i WSSPE. WSSPE je imao najnižu vrednost ARP (0,82 ml/mg). U ovim testovima TE vrednosti za BSNS su bile 1,19, 1,32, 1,35, 1,48, i 1,59 puta veće u odnosu na OSG > WSSPE > BSG > WSSPE i OSJ.

Rezultati određivanja redukcionne sposobnosti, su pokazali da je uzorak BSNS imao najveću redukcionu sposobnost, a zatim slede uzorci OSG > WSSIM > BSG, dok su OSJ i WSSPE imali nižu redukcionu sposobnost od navedenih uzoraka. Redosled vrednosti IC_{0,5} je bio sledeći: BSNS < OSG < WSSIM < BSG < OSJ i WSSPE. U ovim testovima TE vrednosti u BSNS su 1,30, 1,88, 2,11, 2,63, i 2,76 puta veće u odnosu na OSG > WSSPE > BSG > OSJ > i WSSPE.

Metod antidenaturacije albumina iz jaja je izabran u cilju procene antiinflamatorne aktivnosti (AIA) osušenih klijanaca (FDS). Svi uzorci FDS su ispoljili koncentracijski zavisnu inhibiciju denaturacije proteina (albumina) u celom opsegu ispitivanih koncentracija. Pri niskim koncentracijama (2,5 - 20 mg/ml), BSNS je pokazao veću inhibiciju denaturacije proteina ($p \leq 0,05$), dok su WSSIM i OSG pokazali slično ponašanje. Zatim sledi OSG, a WSSPE i OSJ pokazuju manju inhibiciju denaturacije proteina. Vrednosti IC₅₀^{AIA} su bile u rasponu od $1,43 \pm 0,07$ za BSNS do $4,77 \pm 0,56$

za OSJ koji je imao i najveću IC_{50} vrednost. Međutim, svi FDS uzorci su pokazali manju AIA od natrijuma diklofenaka ($IC_{50}^{AIA} = 0,79$ mg/ml).

Antihiperlikemijska aktivnost (AHgA) ustanovljena je primenom α -glukozidaza testa. Potencijal FDS uzoraka (0,90 – 18,18 mg/ml) testiranih na inhibiciju α -glukozidaze raste sa povećanjem koncentracije FDS. OSG je pokazao značajno veći AHgA ($p \leq 0,05$) u odnosu na druge FDS uzorke, zatim slede BSNS, OSJ i BSG. Sa druge strane WSSIM i WSSPE su pokazali niske inhibitorne efekte. Vrednosti IC_{50}^{AHgA} bile su u rasponu od $0,90 \pm 0,24$ za OSG, koji je imao i najnižu IC_{50} vrednost, do $17,28 \pm 0,82$ za WSSIM, koji je imao i najveći IC_{50} .

Simulacija gastro-intestinalnom (GI) digestijom FDS je određeno *in vitro* testom putem podvrgavanja praškastih uzoraka želudačnim i crevnim tečnostima, odvojeno, pod simuliranim uslovima (pH, temperatura i mućkanje). Crevno varenje izazvalo je veće oslobađanje polifenola iz uzoraka FDS od želudačnog varenja, što ukazuje na dobru stabilnost uzoraka u crevnoj tečnosti. Simulacija digestije u crevnim tečnostima (SIF) oslobodila je 95% od ukupnih fenolnih jedinjenja prisutnih u BSNS, a 88% u želudačnim tečnostima (SGF). Od ukupnih fenolnih jedinjenja prisutnih u BSG simulacija digestije je oslobodila u SIF oko 73%, a oko 61% u SGF. Od ukupnih fenolnih jedinjenja prisutnih u OSG simulacija digestije oslobodila je u SIF oko 95%, a 91% u SGF. Od ukupnih fenolnih jedinjenja prisutnih u OSJ simulacija digestije oslobodila je u SIF oko 92%, a 44% u SGF, dok su WSSPE i WSSIM oslobodile oko 56%, odnosno 94% u SIF, a 39% , odnosno 72% u SGF.

Može se zaključiti da antioksidativni kapacitet i redukciona sposobnost raste sa povećanjem koncentracije fenolnih jedinjenja u FDS, a zavisi i od strukturnih karakteristika tih fitohemikalija.

Korelacionom analizom određena je vrlo dobra korelacija između TPC i vrednosti $1/IC_{50}^{ABTS}$ ($r=0,949$), kao i između TPC i $1/IC_{0,5}^{RP}$ redukcionne sposobnosti ($r = 0,876$). Dok je zavisnost sa $1/IC_{50}^{ABTS}$ pokazala umerenu korelaciju ($r = 0,561$) sa TPC.

Antioksidativni kapacitet na DPPH radikale je pokazao vrlo dobru korelaciju ($r = 0,815$) sa TFC. Dobra pozitivna korelacija je nađena između $1/IC_{50}^{ABTS}$ i TFC, dok je uočena niska korelacija između $1/IC_{0,5}^{RP}$ i TFC ($r = 0,461$). Ne postoji uočena kore-

lacija između TChl, Chl a, Chl b, TCX i $1/IC_{50}^{ABTS}$ aktivnosti, ni između tih fitohemikalija i redukcijske sposobnosti, a umerene vrednosti korelacije su nađene između prisustva gore navedenih fitohemikalija i antioksidativne aktivnosti na DPPH radikale. Vrednosti korelacionog koeficijenta (r) su bile od 0,502 za TChl do 0,570 za TCX.

Najveći koeficijent korelacije ($r=0,842$) ostvaren je između TFC i $1/IC_{50}^{AIA}$, a umerene vrednosti korelacije ($r=0,702$) su nađene između TPC i IC_{50}^{AIA} . Sadržaj hlorofila i karoteinoida su takođe u umerenoj korelaciji sa IC_{50}^{AIA} i vrednosti su se kretale od $r=0,551$ za TChl do ($r=0,622$) za TCX. TPC i TFC su pokazali širok spektar umerenih i slabih korelacija ($r=0,445, 0,151$) sa α -GIP. Negativne vrednosti korelacija nađene su između TChl, Chl a, Chl b, i TCX i α -GIP.

Rezultati ove doktorske disertacije su pokazali da klijanci žitarica obezbeđuju visok sadržaj fitohemikalija koje poseduju značajnu antioksidativnu i biološku aktivnost, te se mogu koristiti za dobijanje novih funkcionalnih prehrambenih proizvoda.

6.0. LITERATURA

- Abderrahim, F., Huanatico, E., Repo-Carrasco-Valencia, R., Arribas, S. M., Gonzalez, M. C. & Condezo-Hoyos, L. (2012). Effect of germination on total phenolic compounds, total antioxidant capacity, Maillard reaction products and oxidative stress markers in canihua (*Chenopodium pallidicaule*). *Journal of Cereal Science*, 56(2), 410-417.
- Abdille, M. H., Singh, R. P., Jayaprakasha, G. K. & Jena, B. S. (2005). Antioxidant activity of the extracts from *Dillenia indica* fruits. *Food chemistry*, 90(4), 891-896.
- Adom, K. K. & Liu, R. H. (2002). Antioxidant activity of grains. *Journal of agricultural and food chemistry*, 50(21), 6182-6187.
- Agati, G., Matteini, P., Goti, A. & Tattini, M. (2007). Chloroplast-located flavonoids can scavenge singlet oxygen. *New Phytologist*, 174(1), 77-89.
- Aires, A., Fernandes, C., Carvalho, R., Bennett, R. N., Saavedra, M. J. & Rosa, E. A. (2011). Seasonal effects on bioactive compounds and antioxidant capacity of six economically important Brassica vegetables. *Molecules*, 16(8), 6816-6832.
- Akar, T., Avci, M. & Dusunceli, F. (2004). Barley: Post-harvest operations. *The Central Research Institute for Field Crops, Ankara, Turkey*.
- Alberts, D. S., Ritenbaugh, C., Story, J. A., Aickin, M., Rees-McGee, S., Buller, M. K. & Patel, J. (1996). Randomized, double-blinded, placebo-controlled study of effect of wheat bran fiber and calcium on fecal bile acids in patients with resected adenomatous colon polyps. *Journal of the National Cancer Institute*, 88(2), 81-92.
- Alvarez-Jubete, L., Wijngaard, H., Arendt, E. K. & Gallagher, E. (2010). Polyphenol composition and in vitro antioxidant activity of amaranth, quinoa buckwheat and wheat as affected by sprouting and baking. *Food chemistry*, 119(2), 770-778.

- Åman, P. & Graham, H. (1987). Mixed-linked β -(1 \rightarrow 3),(1 \rightarrow 4)-D-glucans in the cell walls of barley and oats-chemistry and nutrition. *Scandinavian Journal of Gastroenterology*, 22(sup129), 42-51.
- Åman, P. & Newman, C. W. (1986). Chemical composition of some different types of barley own in Montana, USA. *Journal of Cereal Science*, 4(2), 133-141.
- Åman, P., Hesselman, K. & Tilly, A. C. (1985). The variation in chemical composition of Swedish barleys. *Journal of cereal science*, 3(1), 73-77.
- Anderson, J. W., Hanna, T. J., Peng, X. & Kryscio, R. J. (2000). Whole grain foods and heart disease risk. *Journal of the American College of Nutrition*, 19(sup3), 291S-299S.
- Andlauer, W. F. (1999). Does cereal reduce the risk of cancer?. *Muehle+ Mischfuttertechnik (Germany)*. *Agris.FAO.org*
- Andlauer, W., Martena, M. J. & Fürst, P. (1999). Determination of selected phytochemicals by reversed-phase high-performance liquid chromatography combined with ultraviolet and mass spectrometric detection. *Journal of Chromatography A*, 849(2), 341-348.
- Anonymous (2000). 2: The wheat grain. *Plant Foods for Human Nutrition (formerly Qualitas Plantarum)*, 55, 15–20.
- Anonymous. New medical dictionary. 2nd ed. Oxford and IBH Publishing Co. Pvt. Ltd.: New Delhi; 2005.
- Antolovich, M., Prenzler, P. D., Patsalides, E., McDonald, S. & Robards, K. (2002). Methods for testing antioxidant activity. *Analyst*, 127(1), 183-198.
- Arendt, E. K. & Zannini, E. (2013). *Cereal grains for the food and beverage industries*. Elsevier.
- Aron, P. M., & Kennedy, J. A. (2008). Flavan-3-ols: Nature, occurrence and biological activity. *Molecular nutrition & food research*, 52(1), 79-104.
- Ashwell, M. (2002). Concepts Of Functional Foods. ILSI Europe Concise Monograph Series. *International Life Sciences Institute: Brussels*, 3-45.
- Augustin, L. S. A., Dal Maso, L., La Vecchia, C., Parpinel, M., Negri, E., Vaccarella, S. & Franceschi, S. (2001). Dietary glycemic index and glycemic load, and breast cancer risk: a case-control study. *Annals of Oncology*, 12(11), 1533-1538.

- Awika, J. M., Dykes, L., Gu, L., Rooney, L. W. & Prior, R. L. (2003). Processing of sorghum (*Sorghum bicolor*) and sorghum products alters procyanidin oligomer and polymer distribution and content. *Journal of agricultural and food chemistry*, 51(18), 5516-5521.
- Bacic, A. & Stone, B. (1980). A (1→ 3)-and (1→ 4)-linked β -d-glucan in the endosperm cell-walls of wheat. *Carbohydrate Research*, 82(2), 372-377.
- Baik, B. K. & Ullrich, S. E. (2008). Barley for food: characteristics, improvement, and renewed interest. *Journal of Cereal Science*, 48(2), 233-242.
- Barrôco, R. M., Van Poucke, K., Bergervoet, J. H., De Veylder, L., Groot, S. P., Inzé, D. & Engler, G. (2005). The role of the cell cycle machinery in resumption of postembryonic development. *Plant Physiology*, 137(1), 127-140.
- Bartnikowska, E., Lange, E. & Rakowska, M. (2000). Oat grain—underestimated source of nutritional and biologically active components. *Part II. Polysaccharides and nutritional fibre, mineral elements, vitamins* *Biuletyn Instytutu Hodowli i Aklimatyzacji Roślin*, (215), 223-237.
- Bartolome, B. & Gómez-Cordovés, C. (1999). Barley spent grain: release of hydroxycinnamic acids (ferulic and p-coumaric acids) by commercial enzyme preparations. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 79(3), 435-439.
- Baumann, J., Wurn, G. & Bruchlausen, F. V. (1979). Prostaglandin inhibiting O₂ – radical scavenging properties of some flavonoids and related phenolic compounds, naunyn, schmiedebergs. *ISI Iranian Journal*. 27-32.
- Belitz, H. D., Grosch, W. & Schieberle, P. (2009). Cereals and cereal products. *Food chemistry*, 670-745.
- Benedet, J. A., Umeda, H. & Shibamoto, T. (2007). Antioxidant activity of flavonoids isolated from young green barley leaves toward biological lipid samples. *Journal of agricultural and food chemistry*, 55(14), 5499-5504.
- Bilal, A., Parveen, R. & Kalsoom, S. (2014). Nutritional Composition and Metabolic Effects of Oat Dietary Fiber Extracts on Diabetic and Hypercholesterolemic Male Rats. *Pakistan Journal of Nutrition*, 13(9), p.527.
- Birben, E., Sahiner, U. M., Sackesen, C., Erzurum, S. & Kalayci, O. (2012). Oxidative stress and antioxidant defense. *World Allergy Organization Journal*, 5(1), 1.

- Bohn, L., Meyer, A. S. & Rasmussen, S. K. (2008). Phytate: impact on environment and human nutrition. A challenge for molecular breeding. *Journal of Zhejiang University Science B*, 9(3), 165-191.
- Bothmer, R. V., Seberg, O. L. E. & JACOBSEN, N. (1992). Genetic resources in the Triticeae. *Hereditas*, 116(s1), 141-150.
- Bouhnik, Y., Flourié, B., D'Agay-Abensour, L., Pochart, P., Gramet, G., Durand, M. & Rambaud, J. C. (1997). Administration of transgalacto-oligosaccharides increases fecal bifidobacteria and modifies colonic fermentation metabolism in healthy humans. *The Journal of nutrition*, 127(3), 444-448.
- 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.
- Brewer, M. S. (2011). Natural antioxidants: sources, compounds, mechanisms of action, and potential applications. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 10(4), 221-247.
- Brown, J. E. & Kelly, M. F. (2007). Inhibition of lipid peroxidation by anthocyanins, anthocyanidins and their phenolic degradation products. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 109(1), 66-71.
- Brown, J. P. (1980). A review of the genetic effects of naturally occurring flavonoids, anthraquinones and related compounds. *Mutation Research/Reviews in Genetic Toxicology*, 75(3), 243-277.
- Butt, M. S., Tahir-Nadeem, M., Khan, M. K. I., Shabir, R. & Butt, M. S. (2008). Oat: unique among the cereals. *European journal of nutrition*, 47(2), 68-79.
- Buttrose, M. S. & Lott, J. N. (1978). Inclusions in seed protein bodies in members of the Compositae and Anacardiaceae: comparison with other dicotyledonous families. *Canadian Journal of Botany*, 56(17), 2062-2071.
- Cartea, M. E., Lema, M., Francisco, M., Velasco, P., Sadowski, J. & Kole, C. (2011). Basic information on vegetable Brassica crops. *Genetics, Genomics and Breeding of Vegetable Brassicas*, 1-33.
- Carvalho, D.O., Curto, A.F. & Guido, L.F. (2015). Determination of phenolic content in different barley varieties and corresponding malts by liquid chromato-

- graphy-diode array detection-electrospray ionization tandem mass spectrometry. *Antioxidants*, 4(3), 563-576.
- Chanda S, Dave R. 2009. In vitro models for antioxidant activity evaluation and some medicinal plants possessing antioxidant properties: An overview. *African Journal of Microbiology Research*, 3(13): 981-996.
- Chandra, S., Chatterjee, P., Dey, P. & Bhattacharya, S. (2012a). Evaluation of in vitro anti-inflammatory activity of coffee against the denaturation of protein. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 2(1), S178-S180.
- Chandra, S., Dey, P., & Bhattacharya, S. (2012b). Preliminary in vitro assessment of anti-inflammatory property of Mikania scandens flower extract. *Journal of Advanced Pharmacy Education & Research*, 2(1), 25-31.
- Charalampopoulos, D., Wang, R., Pandiella, S. S. & Webb, C. (2002). Application of cereals and cereal components in functional foods: a review. *International journal of food microbiology*, 79(1), 131-141.
- Chen, X., Ba, Y., Ma, L., Cai, X., Yin, Y., Wang, K. & Li, Q. (2008). Characterization of microRNAs in serum: a novel class of biomarkers for diagnosis of cancer and other diseases. *Cell research*, 18(10), 997-1006.
- Chiou, R. Y. Y., Ku, K. L. & Chen, W. L. (1997). Compositional characterization of peanut kernels after subjection to various germination times. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45(8), 3060-3064.
- Christien Sloop & Tatjana Maslac. (2013). Annual Report on Wheat, Corn and Barley, GAIN Report Number: RB1302, 2013. *Serbian Official Statistics*.
- Clifford, M. N. (1999). Chlorogenic acids and other cinnamates—nature, occurrence and dietary burden¹. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 79, 362-372.
- Collins, F. W. & Webster, F. H. (1986). Oat phenolics: structure, occurrence, and function. *Oats: Chemistry and technology*, 227-295.
- Collins, F. W. (1989). Oat phenolics: avenanthramides, novel substituted N-cinnamoylanthranilate alkaloids from oat groats and hulls. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 37(1), 60-66.

- Crittenden, R. G. & Playne, M. (1996). Production, properties and applications of food-grade oligosaccharides. *Trends in food science & technology*, 7(11), 353-361.
- Crozier, A., Clifford, M. N. & Ashihara, H. (Eds.). (2008). *Plant secondary metabolites: occurrence, structure and role in the human diet*. John Wiley & Sons.
- Day, A. J., Bao, Y., Morgan, M. R. & Williamson, G. (2000). Conjugation position of quercetin glucuronides and effect on biological activity. *Free Radical Biology and Medicine*, 29(12), 1234-1243.
- De Candolle, A. (1886). *Origin of cultivated plants* (Vol. 49). Paul, Trench.
- De Nicola, R., Bagatta, M., Pagnotta, E. *et al.* (2013). Comparison of bioactive phytochemical content and release of isothiocyanates in selected Brassica sprouts. *Food Chemistry*, 141(1), 297-303.
- De Pascual-Teresa, S., Moreno, D. A. & García-Viguera, C. (2010). Flavanols and anthocyanins in cardiovascular health: a review of current evidence. *International journal of molecular sciences*, 11(4), 1679-1703.
- Delcour, J. A. & Hosney, R. C. (2010). Principles of cereal science and technology, AACC International. Inc., St. Paul, MN, USA, 229-235.
- Dexter, J. E. & P. J. Wood. (1996) "Recent applications of debranning of wheat before milling." *Trends in Food Science & Technology* 7 (2) 35-41
- Dey, P., Chandra, S., Chatterjee, P. & Bhattacharya, S. (2011). Neuropharmacological properties of Mikania scandens (L.) Willd.(Asteraceae). *Journal of advanced pharmaceutical technology & research*, 2(4), 255.
- Dimberg, L. H., Theander, O. L. O. F. & Lingnert, H. A. N. S. (1993). Avenanthramides—a group of phenolic antioxidants in oats. *Cereal Chemistry*, 70, 637-637.
- Donkor, O. N., Stojanovska, L., Ginn, P., Ashton, J. & Vasiljevic, T. (2012). Germinated grains—Sources of bioactive compounds. *Food chemistry*, 135(3), 950-959.
- Đorović, M., Milanović, M. & Stevanović, S. (2006). *Globalno tržište žita*, Marketing, Jugoslovensko udruženje za marketing, InterninaNet, godina 37, br. 2, Beograd.

- Edge, M. S., Jones, J. M. & Marquart, L. (2005). A new life for whole grains. *Journal of the American Dietetic Association*, 105(12), 1856-1860.
- Emmons, C. L., Peterson, D. M. & Paul, G. L. (1999). Antioxidant capacity of oat (*Avena sativa* L.) extracts. 2. In vitro antioxidant activity and contents of phenolic and tocol antioxidants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47(12), 4894-4898.
- Endo, Y., Usuki, R. & Kaneda, T. (1985). Antioxidant effects of chlorophyll and pheophytin on the autoxidation of oils in the dark. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 62, 1375-1378.
- Febles, C. I., Arias, A., Hardisson, A., Rodriguez-Alvarez, C. & Sierra, A. (2002). Phytic acid level in wheat flours. *Journal of Cereal Science*, 36(1), 19-23.
- Fernández-Real, J. M., Peñarroja, G., Castro, A., García-Bragado, F., López-Bermejo, A. & Ricart, W. (2002). Blood Letting in High-Ferritin Type 2 Diabetes Effects on vascular reactivity. *Diabetes care*, 25(12), 2249-2255.
- Ferrerres, F., Kršková, Z., Gonçalves, R. F., Valentão, P., Pereira, J. A., Dušek, J. & Andrade, P. B. (2009). Free water-soluble phenolics profiling in barley (*Hordeum vulgare* L.). *Journal of agricultural and food chemistry*, 57(6), 2405-2409.
- Finley, J. W. (2005). Proposed criteria for assessing the efficacy of cancer reduction by plant foods enriched in carotenoids, glucosinolates, polyphenols and selenocompounds. *Annals of Botany*, 95(7), 1075-1096.
- Forssell, P. M., Hulleman, S. H., Myllärinen, P. J., Moates, G. K. & Parker, R. (1999). Ageing of rubbery thermoplastic barley and oat starches. *Carbohydrate Polymers*, 39(1), 43-51.
- Forssell, P., Cetin, M., Wirtanen, G. & Mälkki, Y. (1990). Antioxidative effects of oat oil and its fractions. *Lipid/Fett*, 92(8), 319-321.
- Forssell, P., Kervinen, R., Alkio, M. & Poutanen, K. (1992). Comparison of methods for separating polar lipids from oat oil. *Lipid/Fett*, 94(9), 355-358.
- Freed, R. D., Everson, E. H., Ringlund, K. & Gullord, M. (1976). Seedcoat color in wheat and the relationship to seed dormancy at maturity. *Cereal Research Communications*, 147-149.

- Fujii, J. & Taniguchi, N. (1999). Down regulation of superoxide dismutases and glutathione peroxidase by reactive oxygen and nitrogen species. *Free radical research*, 31(4), 301-308.
- Gawlik-Dziki, U., Jeżyna, M., Świeca, M., Dziki, D., Baraniak, B. & Czyż, J. (2012). Effect of bioaccessibility of phenolic compounds on in vitro anticancer activity of broccoli sprouts. *Food Research International*, 49(1), 469-476.
- Giampieri, F., Tulipani, S., Alvarez-Suarez, J. M., Quiles, J. L., Mezzetti, B. & Battino, M. (2012). The strawberry: composition, nutritional quality, and impact on human health. *Nutrition*, 28(1), 9-19.
- Gibson, G. R., Beatty, E. R., Wang, X. & Cummings, J. H. (1995). Selective stimulation of bifidobacteria in the human colon by oligofructose and inulin. *Gastroenterology*, 108(4), 975-982.
- Gray, D. A., Auerbach, R. H., Hill, S., Wang, R., Campbell, G. M., Webb, C. & South, J. B. (2000). Enrichment of oat antioxidant activity by dry milling and sieving. *Journal of Cereal Science*, 32(1), 89-98.
- Green, R. J., Murphy, A. S., Schulz, B., Watkins, B. A. & Ferruzzi, M. G. (2007). Common tea formulations modulate in vitro digestive recovery of green tea catechins. *Molecular nutrition & food research*, 51(9), 1152-1162.
- Gry, J., Black, L., Eriksen, F. D., Pilegaard, K., Plumb, J., Rhodes, M. & Kroon, P. A. (2007). EuroFIR-BASIS—a combined composition and biological activity database for bioactive compounds in plant-based foods. *Trends in food science & technology*, 18(8), 434-444.
- Hagen, S. F., Borge, G. I. A., Bengtsson, G. B., Bilger, W., Berge, A., Haffner, K. & Solhaug, K. A. (2007). Phenolic contents and other health and sensory related properties of apple fruit (*Malus domestica* Borkh., cv. Aroma): Effect of postharvest UV-B irradiation. *Postharvest Biology and Technology*, 45(1), 1-10.
- Hahn, J. D., Chung, T. K., & Baker, D. H. (1990). Nutritive value of oat flour and oat bran. *Journal of animal science*, 68(12), 4253-4260.
- Halliwell, B. (1999). Antioxidant defence mechanisms: from the beginning to the end (of the beginning). *Free radical research*, 31(4), 261-272.

- Halliwell, B. (2001). Role of free radicals in the neurodegenerative diseases. *Drugs & aging*, 18(9), 685-716.
- Hammond, E. G. (1983). Oat lipids. *Lipids in cereal technology*. Academic Press Inc. London, 331-352.
- Hansen, J. & Renfrew, J. M. (1978). Palaeolithic–neolithic seed remains at Franchthi Cave, Greece.
- Hara, Y. & Honda, M. (1990). The inhibition of α -amylase by tea polyphenols. *Agricultural and Biological Chemistry*, 54(8), 1939-1945.
- Hernanz, D., Nuñez, V., Sancho, A. I., Faulds, C. B., Williamson, G., Bartolomé, B. & Gómez-Cordovés, C. (2001). Hydroxycinnamic acids and ferulic acid dehydrodimers in barley and processed barley. *Journal of agricultural and food chemistry*, 49(10), 4884-4888.
- Herrera, I. M., González, E. P. & Romero, J. G. (1998). [Soluble, insoluble and total dietary fiber in raw and cooked legumes]. *Archivos latinoamericanos de nutricion*, 48(2), 179-182.
- Hodzic, Z., Pasalic, H., Memisevic, A., Srabovic, M., Saletovic, M. & Poljakovic, M. (2009). The influence of total phenols content on antioxidant capacity in the whole grain extracts. *European Journal of Scientific Research*, 28(3), 471-477.
- Hogan, S., Zhang, L., Li, J., Sun, S., Canning, C. & Zhou, K. (2010). Antioxidant rich grape pomace extract suppresses postprandial hyperglycemia in diabetic mice by specifically inhibiting alpha-glucosidase. *Nutrition & metabolism*, 7(1), 1.
- Hollman, P. C. H. & Arts, I. C. W. (2000). Flavonols, flavones and flavanols—nature, occurrence and dietary burden. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80(7), 1081-1093.
- Home page [Online] (2015). The science of nutrition, Thompson, J. *et al.*, (2015)
http://wps.aw.com/bc_thompson_son_2/134/34392/8804426.cw/index.html
- Home page [Online] (2016)
<https://en.wikipedia.org/wiki/Barley#/media/File:BarleyEars.JPG>
- Home page [Online] Wikipedia (2016) <https://en.wikipedia.org/wiki/Barley>. 19-11-2016.

- Huang, D., Ou, B. & Prior, R. L. (2005). The chemistry behind antioxidant capacity assays. *Journal of agricultural and food chemistry*, 53(6), 1841-1856.
- Hung, P. V., Maeda, T., Yamamoto, S. & Morita, N. (2012). Effects of germination on nutritional composition of waxy wheat. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 92(3), 667-672.
- Iacopini, P., Baldi, M., Storchi, P. & Sebastiani, L. (2008). Catechin, epicatechin, quercetin, rutin and resveratrol in red grape: Content, in vitro antioxidant activity and interactions. *Journal of Food Composition and Analysis*, 21(8), 589-598.
- Ilona, B., Daina, K. & Zanda, K. (2011). Polyphenols and vitamin E as potential antioxidants in barley and malt. Faculty of Food Technology, Latvia University of Agriculture. Foodbalt (ESF) Project Contract No. 2009/0232/1DP/1.1.1.2.0/09/APIA/VIAA/122. 121 - 126.
- Izydorczyk, M. S. & Dexter, J. E. (2004). Barley: Milling and processing. *Encyclopedia of Grain Sciences*, 57.
- Jabeen, B., Riaz, N., Saleem, M., Naveed, M. A., Ashraf, M., Alam, U. & Jabbar, A. (2013). Isolation of natural compounds from *Phlomis stewartii* showing α -glucosidase inhibitory activity. *Phytochemistry*, 96, 443-448.
- Jacobs Jr, D. R., Meyer, H. E. & Solvoll, K. (2001). Reduced mortality among whole grain bread eaters in men and women in the Norwegian County Study. *European Journal of Clinical Nutrition*, 55(2), 137-143.
- Jadhav, S. J., Lutz, S. E., Ghorpade, V. M. & Salunkhe, D. K. (1998). Barley: chemistry and value-added processing. *Critical Reviews in Food Science*, 38(2), 123-171.
- Jayaprakasha, G. K. & Patil, B. S. (2007). In vitro evaluation of the antioxidant activities in fruit extracts from citron and blood orange. *Food Chemistry*, 101(1), 410-418.
- Jonas, M. S. & Beckmann, S. C. (1998). Functional foods: Consumer perceptions in Denmark and England.
- Kahlon, T. S. (1989). Nutritional implications and uses of wheat and oat kernel oil. *Cereal foods world (USA)*.

- Kamiyama, M. & Shibamoto, T. (2012). Flavonoids with potent antioxidant activity found in young green barley leaves. *Journal of agricultural and food chemistry*, 60(25), 6260-6267.
- Kasum, C. M., Jacobs, D. R., Nicodemus, K. & Folsom, A. R. (2002). Dietary risk factors for upper aerodigestive tract cancers. *International Journal of cancer*, 99(2), 267-272.
- Kaukovirta-Norja, A., Oksman-Caldentey, K. M., Heinio, R. L., Lehtinen, P., Pihlava, J. M. & Poutanen, K. (2001). Germination increased bioactivity and stability of whole grain oats. In *VTT SYMPOSIUM* (Vol. 213, pp. 96-96). VTT; 1999.
- Kaukovirta-Norja, A., Wilhelmson, A. & Poutanen, K. (2004). Germination: a means to improve the functionality of oat. *Agriculture and food science*, 13, 100-112.
- Kehrer, J.P. (1993). Free Radicals as Mediators of Tissue Injury and Disease. *Crit. Rev. Toxicol.* 23: 21 - 48.
- Kent, N. L. & Evers, A. D. (1994). Breakfast cereals and other products of extrusion cooking. *Technology of Cereals: An Introduction for Students of Food Science and Agriculture*. Pergamon Press, New York, USA, 244-256.
- Kerckhoffs, D. A., Brouns, F., Hornstra, G. & Mensink, R. P. (2002). Effects on the human serum lipoprotein profile of β -glucan, soy protein and isoflavones, plant sterols and stanols, garlic and tocotrienols. *The Journal of nutrition*, 132(9), 2494-2505.
- Kersting, M., Sichert-Hellert, W., Vereecken, C. A., Diehl, J., Beghin, L., De Henauw, S. & Phillipp, K. (2008). Food and nutrient intake, nutritional knowledge and diet-related attitudes in European adolescents. *International Journal of Obesity*, 32, S35-S41.
- Khanduja, K. L. & Bhardwaj, A. (2003). Stable free radical scavenging and antiperoxidative properties of resveratrol compared in vitro with some other bioflavonoids. *Indian Journal of Biochemistry and Biophysics*, 40(6), 416-422.
- Khansari, N., Shakiba, Y. & Mahmoudi, M. (2009). Chronic inflammation and oxidative stress as a major cause of age-related diseases and cancer. *Recent patents on inflammation & allergy drug discovery*, 3(1), 73-80.

- Klont, R. (1999). Healthy ingredients driving innovation, *World Food Ingred.*, March. 32-34
- Kohajdová, Z. & Karovicova, J. (2008). Nutritional value and baking application of spelt wheat. *Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria*, 7(3), 5-14.
- Köksel, H., Edney, M. J. & Özkaya, B. (1999). Barley bulgur: effect of processing and cooking on chemical composition. *Journal of Cereal Science*, 29(2), 185-190.
- Komatsuzaki, N., Tsukahara, K., Toyoshima, H., Suzuki, T., Shimizu, N. & Kimura, T. (2007). Effect of soaking and gaseous treatment on GABA content in germinated brown rice. *Journal of Food Engineering*, 78(2), 556-560.
- Kouri, G., Tsimogiannis, D., Bardouki, H. & Oreopoulou, V. (2007). Extraction and analysis of antioxidant components from *Origanum dictamnus*. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 8(2), 155-162.
- Kris-Etherton, P. M., Harris, W. S., Appel, L. J. & Nutrition Committee. (2002). Fish consumption, fish oil, omega-3 fatty acids, and cardiovascular disease. *circulation*, 106(21), 2747-2757.
- Kroon, P. A., Faulds, C. B., Ryden, P., Robertson, J. A. & Williamson, G. (1997). Release of covalently bound ferulic acid from fiber in the human colon. *Journal of agricultural and food chemistry*, 45(3), 661-667.
- Kunze, W. (2010). Technology of brewing and malting (4th International English Edition). *The research and teaching institute for brewing in Berlin (VLB) VLB's Publishing Department, Berlin.*
- Kwak, N. S. & Jukes, D. J. (2001). Functional foods. Part 1: the development of a regulatory concept. *Food Control*, 12(2), 99-107.
- Lásztity, R. (1998). Oat grain: a wonderful reservoir of natural nutrients and biologically active substances. *Food Reviews International*, 14(1), 99-119.
- Lee, J. H., Lee, S. Y., Kim, B., Seo, W. D., Jia, Y., Wu, C. & Lee, S. J. (2015). Barley sprout extract containing policosanols and polyphenols regulate AMPK, SREBP2 and ACAT2 activity and cholesterol and glucose metabolism in vitro and in vivo. *Food Research International*, 72, 174-183.

- Lee, J., Koo, N. & Min, D. B. (2004). Reactive oxygen species, aging, and antioxidative nutraceuticals. *Comprehensive reviews in food science and food safety*, 3(1), 21-33.
- Lichtenthaler, H.K. (1987). Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods in Enzymology*, 148, 350-382.
- Lin, P. Y. & Lai, H. M. (2006). Bioactive compounds in legumes and their germinated products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(11), 3807-3814.
- Liu, L., Zubik, L., Collins, F. W., Marko, M. & Meydani, M. (2004). The antiatherogenic potential of oat phenolic compounds. *Atherosclerosis*, 175(1), 39-49.
- Liu, S., Manson, J. E., Stampfer, M. J., Hu, F. B., Giovannucci, E., Colditz, G. A. & Willett, W. C. (2000). A prospective study of whole-grain intake and risk of type 2 diabetes mellitus in US women. *American journal of public health*, 90(9), 1409.
- Liyana-Pathirana, C. M. & Shahidi, F. (2005). Antioxidant activity of commercial soft and hard wheat (*Triticum aestivum* L.) as affected by gastric pH conditions. *Journal of agricultural and food chemistry*, 53(7), 2433-2440.
- Liyana-Pathirana, C. M. & Shahidi, F. (2006). Importance of insoluble-bound phenolics to antioxidant properties of wheat. *Journal of agricultural and food chemistry*, 54(4), 1256-1264.
- Liyana-Pathirana, C. M. & Shahidi, F. (2007). The antioxidant potential of milling fractions from breadwheat and durum. *Journal of Cereal Science*, 45(3), 238-247.
- Liyana-Pathirana, C., Dexter, J. & Shahidi, F. (2006). Antioxidant properties of wheat as affected by pearling. *Journal of agricultural and food chemistry*, 54(17), 6177-6184.
- Lockhart, H. B. & Hurt, H. D. (1986). Nutrition of oats. in "Oats, Chemistry and Technology", FW Webster, ed. AACC., St. Paul MN. 297-308.
- Lupea, A. X., Pop, A. & Cacig, S. (2008). Structure-radical scavenging activity relationships of flavonoids from *Ziziphus* and *Hydrangea* extracts. *Rev Chim*, 59(3), 309-13.

- Mälkki, Y., Myllymäki, O., Teinilä, K. & Koponen, S. (2004). *U.S. Patent No. 6,797,307*. Washington, DC: U.S. Patent and Trademark Office.
- Mandal, S., Ahuja, A., Shivapurkar, N. M., Cheng, S. J., Groopman, J. D. & Stoner, G. D. (1987). Inhibition of aflatoxin B1 mutagenesis in *Salmonella typhimurium* and DNA damage in cultured rat and human tracheobronchial tissues by ellagic acid. *Carcinogenesis*, 8(11), 1651-1656.
- Marconi, E., Graziano, M. & Cubadda, R. (2000). Composition and utilization of barley pearling by-products for making functional pastas rich in dietary fiber and β -glucans. *Cereal Chemistry*, 77(2), 133-139.
- Marlett, J. A. (1993). Comparisons of dietary fiber and selected nutrient compositions of oat and other grain fractions. *Oat bran*, 49-82.
- Martinez-Villaluenga, C., Peñas, E., Ciska, E., Piskula, M. K., Kozłowska, H., Vidal-Valverde, C. & Frias, J. (2010). Time dependence of bioactive compounds and antioxidant capacity during germination of different cultivars of broccoli and radish seeds. *Food Chemistry*, 120(3), 710-716.
- Marton, M., Mándoki, Z., Csapo-Kiss, Z. & Csapo, J. (2010). The role of sprouts in human nutrition. A review. *Acta Univ. Sapientiae*, 3, 81-117.
- Mattila, P., Pihlava, J. M. & Hellström, J. (2005). Contents of phenolic acids, alkyl- and alkenylresorcinols, and avenanthramides in commercial grain products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(21), 8290-8295.
- Matucci, A., Veneri, G., Dalla Pellegrina, C., Zoccatelli, G., Vincenzi, S., Chignola, R. & Rizzi, C. (2004). Temperature-dependent decay of wheat germ agglutinin activity and its implications for food processing and analysis. *Food Control*, 15(5), 391-395.
- McClements, D. J., Decker, E. A. & Weiss, J. (2007). Emulsion-based delivery systems for lipophilic bioactive components. *Journal of food science*, 72(8), R109-R124.
- McDougall, G. J., Ross, H. A., Ikeji, M. & Stewart, D. (2008). Berry extracts exert different antiproliferative effects against cervical and colon cancer cells grown *in vitro*. *Journal of agricultural and food chemistry*, 56(9), 3016-3023.

- McMurrough, I. & Baert, T. (1994). Identification of proanthocyanidins in beer and their direct measurement with a dual electrode electrochemical detector. *Journal of the Institute of Brewing*, 100(6), 409-416.
- McMurrough, I., Madigan, D. & Smyth, M. R. (1996). Semipreparative chromatographic procedure for the isolation of dimeric and trimeric proanthocyanidins from barley. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 44(7), 1731-1735.
- Meir, S., Kanner, J., Akiri, B. & Philosoph-Hadas, S. (1995). Determination and involvement of aqueous reducing compounds in oxidative defense systems of various senescing leaves. *Journal of agricultural and food chemistry*, 43(7), 1813-1819.
- Meyer, K. A., Kushi, L. H., Jacobs, D. R., Slavin, J., Sellers, T. A. & Folsom, A. R. (2000). Carbohydrates, dietary fiber, and incident type 2 diabetes in older women. *The American journal of clinical nutrition*, 71(4), 921-930.
- Miller, S. S. & Fulcher, R. G. (1994). Distribution of (1 leads to 3),(1 leads to 4)-beta-D-glucan in kernels of oats and barley using microspectrofluometry. *Cereal chemistry (USA)*.
- Milner, J. A. (2000). Functional foods: the US perspective. *The American journal of clinical nutrition*, 71(6), 1654s-1659s.
- Miyagawa, H., Ishihara, A., Nishimoto, T., Ueno, T. & Mayama, S. (1995). Induction of avenanthramides in oat leaves inoculated with crown rust fungus, *Puccinia coronata* f. sp. *avenae*. *Bioscience, biotechnology, and biochemistry*, 59(12), 2305-2306.
- Møller, M. E., Dahl, R. & Bøckman, O. C. (1988). A possible role of the dietary fibre product, wheat bran, as a nitrite scavenger. *Food and chemical toxicology*, 26(10), 841-845.
- Mollet, B. & Lacroix, C. (2007). Where biology and technology meet for better nutrition and health. *Current Opinion in Biotechnology*, 18(2), 154-155.
- Moongngarm, A. & Saetung, N. (2010). Comparison of chemical compositions and bioactive compounds of germinated rough rice and brown rice. *Food Chemistry*, 122(3), 782-788.

- Moore, J., Cheng, Z., Su, L. & Yu, L. (2006). Effects of solid-state enzymatic treatments on the antioxidant properties of wheat bran. *Journal of agricultural and food chemistry*, 54(24), 9032-9045.
- Morrison, I. N., O'Brien, T. P., & Kuo, J. (1978). Initial cellularization and differentiation of the aleurone cells in the ventral region of the developing wheat grain. *Planta*, 140(1), 19-30.
- Munck, L. (1981). Barley for food, feed and industry. Cereals, A Renewable Resource. Y. Pomeranz and L. Munck, eds. *An. Assoc. Cereal Chem. St Paul, MN*. 427-459
- Murota, K. & Terao, J. (2003). Antioxidative flavonoid quercetin: implication of its intestinal absorption and metabolism. *Archives of biochemistry and biophysics*, 417(1), 12-17.
- Murphy, J. P. & Hoffman, L. A. (1992). The origin, history, and production of oat. *Oat Science and Technology*, (oatscienceandte), 1-28.
- Naczki, M. & Shahidi, F. (2004). Extraction and analysis of phenolics in food. *Journal of Chromatography A*, 1054(1), 95-111
- Nam, Seok Hyun, Sun Phil Choi, Mi Young Kang, Hee Jong Koh, Nobuyuki Kozukue, and Mendel Friedman. (2006) "Antioxidative activities of bran extracts from twenty one pigmented rice cultivars." *Food Chemistry* 94(4) 613-620.
- Nawar, WF. (1996). Lipids In: Fennema O, editor. *Food chemistry*. 3rd Ed. New York: Marcel Dekker, Inc. p 225 – 320
- Nelson, A. L. A. L. (2001). *High-fiber ingredients*. Eagan Press, Minnesota, USA.
- Newman, R. K. & Newman, C. W. (2008). *Barley for food and health: Science, technology, and products*. John Wiley & Sons
- Nicodemus, K. K., Jacobs Jr, D. R. & Folsom, A. R. (2001). Whole and refined grain intake and risk of incident postmenopausal breast cancer (United States). *Cancer Causes & Control*, 12(10), 917-925
- Oktaç, M., Gülçin, İ. & Küfrevioğlu, Ö. İ. (2003). Determination of in vitro antioxidant activity of fennel (*Foeniculum vulgare*) seed extracts. *LWT-Food Science and Technology*, 36(2), 263-271

- Oscarsson, M., Andersson, R., Salomonsson, A. C. & Åman, P. (1996). Chemical composition of barley samples focusing on dietary fibre components. *Journal of Cereal Science*, 24(2), 161-170.
- Oyaizu, M. (1986). Studies on product of browning reaction prepared from glucose amine. *Japanese Journal of Nutrition*, 44, 307-315.
- Pajak, P., Socha, R., Gałkowska, D., Znowski, J. & Fortuna, T. (2014). Phenolic profile and antioxidant activity in selected seeds and sprouts. *Food Chemistry*, 143, 300-306.
- Pascoe, D. A. & Fulcher, R. G. (2007). Biochemistry and compartmentalization of cereal grain components and their functional relationship to mammalian health. *Whole Grains and Health*, 89-114.
- Paško, P., Bartoń, H., Zagrodzki, P., Gorinstein, S., Fołta, M. & Zachwieja, Z. (2009). Anthocyanins, total polyphenols and antioxidant activity in amaranth and quinoa seeds and sprouts during their growth. *Food Chemistry*, 115 (3), 994-998.
- Pedo, I., Sgarbieri, V. C. & Gutkoski, L. C. (1999). Protein evaluation of four oat (*Avena sativa* L.) cultivars adapted for cultivation in the south of Brazil. *Plant Foods for Human Nutrition*, 53(4), 297-304.
- Penas, E., Gomez, R., Frías, J. & Vidal-Valverde, C. (2008). Application of high-pressure treatment on alfalfa (*Medicago sativa*) and mung bean (*Vigna radiata*) seeds to enhance the microbiological safety of their sprouts. *Food Control*, 19(7), 698-705.
- Pereira, D. M., Valentão, P., Pereira, J. A. & Andrade, P. B. (2009). Phenolics: From chemistry to biology. *Molecules*, 14(6), 2202-2211.
- Pérez-Balibrea, S., Moreno, D. A. & García-Viguera, C. (2011). Genotypic effects on the phytochemical quality of seeds and sprouts from commercial broccoli cultivars. *Food Chemistry*, 125(2), 348-354.
- Peterson, D. M., Emmons, C. L. & Hibbs, A. H. (2001). Phenolic antioxidants and antioxidant activity in pearling fractions of oat groats. *Journal of Cereal Science*, 33(1), 97-103.

- Pietinen, P., Rimm, E. B., Korhonen, P., Hartman, A. M., Willett, W. C., Albanes, D. & Virtamo, J. (1996). Intake of dietary fiber and risk of coronary heart disease in a cohort of Finnish men The Alpha-Tocopherol, Beta-Carotene Cancer Prevention Study. *Circulation*, 94(11), 2720-2727.
- Plaza, L., de Ancos, B. & Cano, M.P. (2003). Nutritional and health-related compounds in sprouts and seeds of soybean (*Glycine max*), wheat (*Triticum aestivum*.L) and alfalfa (*Medicago sativa*) treated by a new drying method. *European Food Research and Technology*, 216, 138-144.
- Podsedeck, A. (2007). Natural antioxidants and antioxidant capacity of Brassica vegetables: a review. *LWT-Food Science and Technology*, 40 (1), 1-11.
- Poehlman, J. (1985). Adaptation and distribution. In: Barley (Ed., D.C. Rasmussen) pp. 1-18. American Society of Agronomy, Madison, WI. Reid, D.A. 1985). Morphology and anatomy of the barley plant. In: Barley (Ed., D.C. Rasmussen), pp. 73-101 American Society of Agronomy, Madison, Wisconsin, USA.
- Pomeranz, Y. (1988). Chemical composition of kernel structures (No. Ed. 3, pp. 97-158). *American Association of Cereal Chemists*.
- Pratt, D.E. (1992). Natural antioxidants from plant material. In: Huang, M.T. et al. (eds.). Phenolic compounds in food and their effects on health. II Antioxidants and cancer prevention ACS Symposium Series 507. American Chemistry Society, Washington DC. p. 54.
- Price, T. V. (1988). Seed sprout production for human consumption—a review. *Canadian Institute of Food Science and Technology Journal*, 21(1), 57-65.
- Puls, W., Keup, U., Krause, H. P., Thomas, G. & Hoffmeister, F. (1977). Glucosidase inhibition. *Naturwissenschaften*, 64(10), 536-537.
- Ragaei, S., Abdel-Aal, E. S. M. & Noaman, M. (2006). Antioxidant activity and nutrient composition of selected cereals for food use. *Food Chemistry*, 98(1), 32-38.
- Randhir, R., Lin, Y. T. & Shetty, K. (2004). Stimulation of phenolics, antioxidant and antimicrobial activities in dark germinated mung bean sprouts in response to peptide and phytochemical elicitors. *Process Biochemistry*, 39(5), 637-646.

- Reische, D. W., Lillard, D. A., Eitenmiller, R. R., Akoh, C. C. & Min, D. B. (1998). Antioxidants. *Food lipids: chemistry, nutrition, and biotechnology*, 423-448.
- Rimm, E. B., Ascherio, A., Giovannucci, E., Spiegelman, D., Stampfer, M. J. & Willett, W. C. (1996). Vegetable, fruit, and cereal fiber intake and risk of coronary heart disease among men. *Jama*, 275(6), 447-451.
- Rizzello, C. G., Nionelli, L., Coda, R., De Angelis, M. & Gobbetti, M. (2010). Effect of sourdough fermentation on stabilisation, and chemical and nutritional characteristics of wheat germ. *Food Chemistry*, 119(3), 1079-1089.
- Roberfroid, M. B. (2000). Prebiotics and probiotics: are they functional foods? *The American journal of clinical nutrition*, 71(6), 1682s-1687s.
- Ross, K. A., Beta, T. & Arntfield, S. D. (2009). A comparative study on the phenolic acids identified and quantified in dry beans using HPLC as affected by different extraction and hydrolysis methods. *Food Chemistry*, 113(1), 336-344.
- Saikia, S., Mahnot, N.K. & Mahanta, C.L. (2015). Optimisation of phenolic extraction from *Averrhoa carambola* pomace by response surface methodology and its microencapsulation by spray and freeze drying. *Food Chemistry*, 171, 144-152.
- Sakakibara, H., Honda, Y., Nakagawa, S., Ashida, H. & Kanazawa, K. (2003). Simultaneous determination of all polyphenols in vegetables, fruits, and teas. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(3), 571-581.
- Sakouhi, F., Boukhchina, S., Absalon, C., Fouquet, E. & Kallel, H. (2010). Policosanol characterization and accumulation during ripening of Tunisian *Olea europaea* L. fruits. *European journal of lipid science and technology*, 112(3), 373-379.
- Salehifar, M. & Shahedi, M. (2010). Effects of oat flour on dough rheology, texture and organoleptic properties of taftoon bread. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 9, 227-234.
- Sangronis, E. & Machado, C. J. (2007). Influence of germination on the nutritional quality of *Phaseolus vulgaris* and *Cajanus cajan*. *LWT-Food Science and Technology*, 40(1), 116-120.

- Šaponjac, V. T., Gironés-Vilaplana, A., Đilas, S., Mena, P., Četković, G., Moreno, D. A. & Vinčić, M. (2015). Chemical composition and potential bioactivity of strawberry pomace. *RSC Advances*, 5(7), 5397-5405.
- Šaponjac, V. T., Gironés-Vilaplana, A., Đilas, S., Mena, P., Četković, G., Moreno, D. A. & Krunić, M. (2014). Anthocyanin profiles and biological properties of caneberry (*Rubus* spp.) press residues. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 94(12), 2393-2400.
- Satue-Gracia, M. T., Heinonen, M. & Frankel, E. N. (1997). Antioxidant activity of anthocyanin in LDL and lecithin liposome systems. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45, 3362-3367.
- Scalbert, A. & Williamson, G. (2000). Dietary intake and bioavailability of polyphenols. *The Journal of nutrition*, 130(8), 2073S-2085S.
- Seo, W. D., Yuk, H. J., Curtis-Long, M. J., Jang, K. C., Lee, J. H., Han, S. I. & Park, K. H. (2013). Effect of the growth stage and cultivar on policosanol profiles of barley sprouts and their adenosine 5'-monophosphate-activated protein kinase activation. *Journal of agricultural and food chemistry*, 61(5), 1117-1123.
- Serpen, A., Gökmen, V., Karagöz, A. & Köksel, H. (2008). Phytochemical quantification and total antioxidant capacities of emmer (*Triticum dicoccon* Schrank) and einkorn (*Triticum monococcum* L.) wheat landraces. *Journal of agricultural and food chemistry*, 56(16), 7285-7292.
- Shahidi, F. & Liyana-Pathirana, C. (2008). Phenolic Content and Antioxidant Activity of Whole-Wheat Grain and Its Components. In *ACS symposium series* (Vol. 993, pp. 110-124). Oxford University Press.
- Shahidi, F. (2007). Nutraceuticals and functional foods in health promotion and disease risk reduction. *J Nat Prod*, 70, 461-477.
- Shahidi, F. (2009). Nutraceuticals and functional foods: whole versus processed foods. *Trends in Food Science & Technology*, 20(9), 376-387.
- Shahidi, F., Desilva, C. & Amarowicz, R. (2003). Antioxidant activity of extracts of defatted seeds of niger (*Guizotia abyssinica*). *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 80(5), 443-450.

- Shan, B., Cai, Y. Z., Sun, M. & Corke, H. (2005). Antioxidant capacity of 26 spice extracts and characterization of their phenolic constituents. *Journal of agricultural and food chemistry*, 53(20), 7749-7759.
- Shen, Y., Zhang, H., Cheng, L., Wang, L., Qian, H. & Qi, X. (2016). In vitro and in vivo antioxidant activity of polyphenols extracted from black highland barley. *Food Chemistry*, 194, 1003-1012.
- Shewry, P. R. (2007). Improving the protein content and composition of cereal grain. *Journal of Cereal Science*, 46(3), 239-250.
- Sidhu, J. S., Al-Hooti, S. N. & Al-Saqer, J. M. (1999). Effect of adding wheat bran and germ fractions on the chemical composition of high-fiber toast bread. *Food Chemistry*, 67(4), 365-371.
- Sidhu, J. S., Kabir, Y. & Huffman, F. G. (2007). Functional foods from cereal grains. *International Journal of Food Properties*, 10(2), 231-244.
- Singh, D. K., Li, L. & Porter, T. D. (2006). Policosanol inhibits cholesterol synthesis in hepatoma cells by activation of AMP-kinase. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 318(3), 1020-1026.
- Singleton, V.L., Orthofer, R. & Lamuela-Raventos, R.M. (1999). Analysis of total phenols and other oxidant substrates and antioxidants by mean of Folin – Ciocalteu reagent. In: *Methods in Enzymology. Oxidant and Antioxidant (part A)* (edited by L. Packer). Pp. 152-178. San Diego, USA: Academic Press.
- Slavin, J. (2004). Whole grains and human health. *Nutrition research reviews*, 17(01), 99-110.
- Slavin, J. L., Jacobs, D., Marquart, L. & Wiemer, K. (2001). The role of whole grains in disease prevention. *Journal of the American Dietetic Association*, 101(7), 780-785.
- Song, H. P., Delwiche, S. R. & Line, M. J. (1998). Moisture distribution in a mature soft wheat grain by three-dimensional magnetic resonance imaging. *Journal of Cereal Science*, 27(2), 191-197.
- Sontag-Strohm, T., Lehtinen, P. & Kaukovirta-Norja, A. (2008). Oat products and their current status in the celiac diet-8.

- Sosulski, F., Krygier, K. & Hogge, L. (1982). Free, esterified, and insoluble-bound phenolic acids. 3. Composition of phenolic acids in cereal and potato flours. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 30(2), 337-340.
- Souci, S. W., Fachmann, W. & Kraut, H. (2008). Food Composition and Nutrition Tables. Die Zusammensetzung der Lebensmittel, Nährwert-Tabellen. La composition des aliments, tableaux des valeurs nutritives. Auflage, bearbeitet von H. SCHERZ und F. SENSER. Auflage. Stuttgart, Deutschland: Medpharm Scientific Publishers.
- Sreenivasulu, N., Usadel, B., Winter, A., Radchuk, V., Scholz, U., Stein, N. & Graner, A. (2008). Barley grain maturation and germination: metabolic pathway and regulatory network commonalities and differences highlighted by new MapMan/PageMan profiling tools. *Plant physiology*, 146(4), 1738-1758.
- Stevanović, S., Đorović, M. & Milanović, M. (2012). The development of the market production of cereals in Serbia: example wheat and corn. *Economics of Agriculture, IAE, Belgrade*, 59(3), 617-632.
- Tamagawa, K., Iizuka, S., Ikeda, A., Koike, H., Naganuma, K. & Komiyama, Y. (1999). Antioxidative activity of proanthocyanidins isolated from barley bran. *Journal of the Japanese Society for Food Science and Technology (Japan)*.
- Thompson, L. U. (1994). Antioxidants and hormone-mediated health benefits of whole grains. *Critical Reviews in Food Science & Nutrition*, 34(5-6), 473-497.
- Tian, B., Xie, B., Shi, J., Wu, J., Cai, Y., Xu, T. & Deng, Q. (2010). Physicochemical changes of oat seeds during germination. *Food Chemistry*, 119(3), 1195-1200.
- Ting Sun & Chi-Tang, H. (2008). Total Phenolic Content and Antioxidant Activity of Cereals, Functional Food and Health, *American Chemical Society*. (PP. 143-150).
- Trujillo, E., Davis, C., & Milner, J. (2006). Nutrigenomics, proteomics, metabolomics, and the practice of dietetics. *Journal of the American dietetic association*, 106(3), 403-413.
- Tundis, R., Loizzo, M.R. & Menichini, F. (2010). Natural products as alpha-amylase and alpha-glucosidase inhibitors and their hypoglycaemic potential in the

- treatment of diabetes: an update. *Mini- Reviews in Medicinal Chemistry*, 10, 315-331.
- Ullah, A.M., Zaman, S., Juhara, F., *et al.* (2014). Evaluation of antinociceptive, in-vivo&in-vitro anti-inflammatory activity of ethanolic extract of *Curcuma zedoaria* rhizome. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 14, 346-358.
- Ullrich, S. E., Clancy, J. A., Eslick, R. F. & Lance, R. C. M. (1986). β -Glucan content and viscosity of extracts from waxy barley. *Journal of Cereal Science*, 4(3), 279-285.
- Umopathy, E., Ndebia, E. J., Meeme, A., Adam, B., Menziwa, P., Nkeh-Chungag, B. N. & Iputo, J. E. (2010). An experimental evaluation of *Albuca setosa* aqueous extract on membrane stabilization, protein denaturation and white blood cell migration during acute inflammation. *Journal of Medicinal Plants Research*, 4(9), 789-795.
- Vale, A. P., Santos, J., Brito, N. V., Fernandes, D., Rosa, E., & Oliveira, M. B. P. (2015). Evaluating the impact of sprouting conditions on the glucosinolate content of *Brassica oleracea* sprouts. *Phytochemistry*, 115, 252-260.
- Vale, P., Cidade, H., Pinto, M. & Oliveira, M.B. (2014). Effect of sprouting and light cycle on antioxidant activity of *Brassica oleracea* varieties. *Food Chemistry*, 165, 379-387.
- Villano, D., Fernández-Pachón, M. S., Moyá, M. L., Troncoso, A. M. & García-Parrilla, M. C. (2007). Radical scavenging ability of polyphenolic compounds towards DPPH free radical. *Talanta*, 71(1), 230-235.
- Viola, F., Oliaro, S., Binello, A. & Cravotto, G. (2008). Policosanol: updating and perspectives. *Mediterranean Journal of Nutrition and Metabolism*, 1(2), 77-83.
- Wang, J., & Mazza, G. (2002). Effects of anthocyanins and other phenolic compounds on the production of tumor necrosis factor α in LPS/IFN- γ -activated RAW 264.7 macrophages. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(15), 4183-4189.

- Watanabe, Y., Nakanishi, H., Goto, N., Otsuka, K., Kimura, T. & Adachi, S. (2010). Antioxidative properties of ascorbic acid and acyl ascorbates in ML/W emulsion. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 87(12), 1475-1480.
- Weber, C. L. & Matthews, H. S. (2008). Food-miles and the relative climate impacts of food choices in the United States. *Environmental science & technology*, 42(10), 3508-3513.
- Wendorf, F., Schild, R., El Hadidi, N., Close, A. E., Kobusiewicz, M., Wieckowska, H. & Haas, H. (1979). Use of barley in the Egyptian late paleolithic. *Science*, 205(4413), 1341-1347.
- White, P. J. & Armstrong, L. S. (1986). Effect of selected oat sterols on the deterioration of heated soybean oil. *Journal of the American Oil Chemists Society*, 63(4), 525-529.
- Wojdyło, A., Oszmiański, J. & Czemerys, R. (2007). Antioxidant activity and phenolic compounds in 32 selected herbs. *Food chemistry*, 105(3), 940-949.
- Wrick, K. L., L. J. Friedman, J. K. Brewda, and J. J. Carroll. (1993) "Consumer viewpoints on designer foods." *Food technology*, 47(3), 94-104.
- Wu, Y. V. (1983). Effect of germination on oats and oat protein. *Cereal Chemistry*.60, 418-420
- WWW.mondeleznutritionscience.com/featured-nutrition/wholegrains
- Xiao, J., Suzuki, M., Jiang, X., Chen, X., Yamamoto, K., Ren, F. & Xu, M. (2008). Influence of B-ring hydroxylation on interactions of flavonols with bovine serum albumin. *Journal of agricultural and food chemistry*, 56(7), 2350-2356.
- Yiming, Z., Hong, W., Linlin, C., Xiaoli, Z., Wen, T. & Xinli, S. (2015). Evolution of nutrient ingredients in tartary buckwheat seeds during germination. *Food chemistry*, 186, 244-248
- Youngs, V. L., Peterson, D. M. & Brown, C. M. (1982). Oats. *Advances in cereal science and technology*, 5, 49-105.
- Yu, J., Vasanthan, T. & Temelli, F. (2001). Analysis of phenolic acids in barley by high-performance liquid chromatography. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49, 4352- 4358.

- Yu, L., & Slavin, M. (2008). All natural whole-wheat functional foods for health promotion and disease prevention. In *ACS symposium series* (Vol. 993, pp. 125-142). Oxford University Press.
- Yu, Y. M., Wu, C. H., Tseng, Y. H., Tsai, C. E. & Chang, W. C. (2002). Antioxidative and hypolipidemic effects of barley leaf essence in a rabbit model of atherosclerosis. *The Japanese Journal of Pharmacology*, 89(2), 142-148.
- Zhao, H., Fan, W., Dong, J., *et al.* (2008). Evaluation of antioxidant activities and total phenolic contents of typical malting barley varieties. *Food Chemistry*, 107, 296-304.
- Zhishen, J., Mengcheng, T. & Jianming, W. (1999). The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chemistry*, 64, 555-559.
- Žilić, S., Basić, Z., Hadži-Tašković Šukalović, V., Maksimović, V., Janković, M. & Filipović, M. (2014). Can the sprouting process applied to wheat improve the contents of vitamins and phenolic compounds and antioxidant capacity of the flour? *International Journal of Food Science & Technology*, 49, 4, 1040-1047.