

**UNIVERZITET U BEOGRADU  
FARMACEUTSKI FAKULTET**

**Dejan Jančić**

**Tradicija korišćenja u ishrani, hemijske i nutritivne  
karakteristike samoniklog i gajenog lista žučenice  
(*Cichorium intybus* L. Asteraceae)**

**doktorska disertacija**

**Beograd, 2017.**

**UNIVERSITY OF BELGRADE  
FACULTY OF PHARMACY**

**Dejan Jančić**

**Tradition of using in diet, chemical and nutritive  
characteristics of wild and cultivated leaves of chicory  
(*Cichorium intybus* L. Asteraceae)**

**Doctoral Dissertation**

**Belgrade, 2017.**

**MENTOR:**

**dr sc. Slađana Šobajić**, redovni profesor Univerziteta u Beogradu  
- Farmaceutski fakultet

**ČLANOVI KOMISIJE:**

**dr sc. Brižita Đorđević**, redovni profesor Univerziteta u  
Beogradu - Farmaceutski fakultet

**dr sc. Vele Tešević**, vanredni profesor Univerziteta u Beogradu -  
Hemijski fakultet

**dr sc. Nada Kovačević**, redovni profesor Univerziteta u Beogradu  
- Farmaceutski fakultet

U Beogradu, \_\_\_\_\_

## ***Zahvalnica***

*Ova doktorska disertacija je urađena u DOO Centru za ekotoksikološka ispitivanja – Podgorica, Katedri za bromatologiju Farmaceutskog fakulteta Univerziteta u Beogradu, Centru za ispitivanje namirnica u Beogradu, Odsjeku za sanitarnu hemiju Instituta za higijenu Vojnomedicinske akademije u Beogradu i Biotehničkom fakultetu u Ljubljani.*

*Temu ovog rada predložila je dr sc. Slađana Šobajić, redovni profesor Farmaceutskog fakulteta Univerziteta u Beogradu. Ovim putem želim da joj se zahvalim na velikoj i nesebičnoj pomoći, motivaciji, sugestijama i korisnim idejama koje mi je pružala u svakom trenutku izrade i pisanja ove disertacije.*

*Neizmjernu zahvalnost dugujem menadžmentu i kolegama iz DOO Centar za ekotoksikološka ispitivanja – Podgorica na ukazanom povjerenju, svesrdnoj podršci, razumijevanju i nesebičnoj stručnoj pomoći u svim fazama izrade ove disertacije.*

*Iskrenu zahvalnost dugujem Vanji Todorović (Katedra za bromatologiju Farmaceutskog fakulteta Univerziteta u Beogradu), dr Margariti Dodevskoj (Centar za ispitivanje namirnica Beograd), dr Zorici Basić (Odsjek za sanitarnu hemiju, Institut za higijenu, VMA, Beograd) i prof. dr Draganu Žnidarčiču (Biotehnički fakultet, Ljubljana), bez čijeg napora i truda ovaj rad nebi bio zaokružena cjelina.*

*Hvala dr sc. Brižiti Đorđević, redovnom profesoru Farmaceutskog fakulteta Univerziteta u Beogradu, na nesebičnoj pomoći i zalaganju. Članovima komisije zahvaljujem na pažljivom čitanju, korisnim sugestijama i korigovanju doktorske disertacije.*

*Posebno hvala mojoj supruzi Sandri na ljubavi, podršci i strpljenju, kao i našim dječacima Damjanu i Davidu uz koje ovaj rezultat ima još veći značaj.*

*Dejan Jančić*

## Rezime

Predmet ovog istraživanja bilo je ispitivanje tradicionalne hrane u Crnoj Gori na primjeru hrane pripremljene korišćenjem lista biljke *Cichorium intybus* L. koja se pod nazivom „žučenica“ vjekovima koristi u tradicionalnoj ishrani stanovnika u pojedinim djelovima Crne Gore, posebno u Bokokotorskom zalivu.

Istraživanja u okviru ovog rada imala su za cilj:

a) Sakupljanje relevantnih dokaza o tradicionalnoj primjeni lista žučenice u ishrani u Crnoj Gori u arhivskom materijalu,

b) Dokumentovanje rasprostranjenosti i lokacija samonikle žučenice u Crnoj Gori,

c) Uzorkovanje samonikle žučenice sa većeg broja lokacija u Crnoj Gori,

d) Analizu osnovnog hemijskog sastava lista samonikle žučenice i žučenice porijeklom iz plasteničke proizvodnje sa više lokaliteta u Crnoj Gori i utvrđivanje varijabilnosti sastava samoniklih i gajenih uzoraka,

e) Analizu sadržaja vitamina i minerala i analizu bioaktivnih sastojaka (vlakna, masne kiseline, pigmenti, ukupni polifenoli, ukupni flavonidi i pojedine polifenolne kiseline) i antioksidativne sposobnosti u uzorcima lista samonikle i gajene žučenice,

f) Dokumentovanje i određivanje nutritivnog i mineralnog profila odabranih jela koja se pripremaju od lista ove biljke po tradicionalnoj recepturi.

Sakupljeni dokazi iz dostupnog arhivskog materijala potvrdili su da su se listovi žučenice vjekovima unazad koristili u Crnoj Gori kao povrće u salatama, sosevima i ostalim vrstama predjela i jela.

S obzirom da je u Crnoj Gori i regionu veoma malo podataka koji se odnose na detaljan hemijski sastav lista žučenice sa ovih prostora, dobijeni rezultati ukazali su na višestruku korist upotrebe ove biljke u ishrani. Rezultati su poređeni u odnosu na literaturne podatke o sastavu gajenog lisnatog povrća koje se najčešće koristi u ishrani na ovim prostorima.

Rezultati su pokazali da su listovi žučenice značajan izvor korisnih nutrijenata poput kalijuma, kalcijuma, mangana, gvožđa i provitamina vitamina A.

Dio ovog istraživanja bio je i određivanje sadržaja biološki aktivnih sastojaka u uzorcima žučenice koja raste u prirodi i one koja se kontrolisano gaji, kao i mogući uticaj same lokacije na količinu biološki aktivnih sastojaka. Antioksidativna aktivnost određena je korišćenjem tri metode (DPPH, FRAP i ABTS) a rezultati dobijeni za svaki od ovih testova korišćeni su za izračunavanje antioksidativnog kompozitnog indeksa (ACI).

Rezultati dobijeni za profil vlakana potvrdili su da su listovi žučenice njihov dobar izvor, posebno nerastvornih vlakana (celuloze i hemiceluloze). Najveći dio masti prisutnih u listovima žučenice sastavljen je od nezasićenih masnih kiselina, pri čemu posebno važan udio ima esencijelna  $\omega$ -3  $\alpha$ -linolenska kiselina. Hlorofil a i hlorofil b, lutein i  $\beta$ -karoten su naznačajniji pigmenti listova žučenice. Sadržaj polifenolnih materija u listu žučenice bio je u skladu sa literaturnim podacima, a vrijednosti ACI indeksa ukazale su na postojanje njegove jako dobre korelacije sa sadržajem ukupnih polifenola i ukupnih flavonoida.

U poređenju sa kultivisanim, samonikle biljke su se pokazale kao značajniji izvori ugljenih hidrata, kalcijuma i mangana. Porijeklo listova žučenice imalo je značajan uticaj na većinu analiziranih parametara. Mnogi analizirani parametri su pokazali bolje rezultate kod lista žučenice u odnosu na druge vrste lisnatog povrća.

Sve ove karakteristike lista žučenice idu u prilog njenom uključivanju u savremenu ishranu kao zdrave alternative velikom broju najčešće korišćenih vrsta lisnatog povrća.

**Ključne riječi:** žučenica, nutrijenti, vitamini, minerali, antioksidativna aktivnost, vlakna, masne kiseline, pigmenti

**Naučna oblast:** Farmacija

**Uža naučna oblast:** Hemija hrane i dijetetskih proizvoda

**UDK:** 635.54:641.1(043.3)

## **Abstract**

The aim of this research was applying the testing protocol for traditional foods on the leaves of *Cichorium intybus* L., a plant which is locally known as "žućenica" and for centuries has been used in the traditional diet in some parts of Montenegro, especially in the Boka Bay.

Research in this work was aimed at:

- a) Collection of relevant evidence on the traditional use of chicory leaves in food in Montenegro in archive material,
- b) Documentation of the distribution and location of the wild chicory in Montenegro,
- c) Sampling of wild chicory from several locations in Montenegro,
- d) Analysis of the basic chemical composition of the leaves of wild chicory and chicory from greenhouse production from several localities in Montenegro and determining the variability of the composition depending on the location and origin,
- e) Analysis of vitamins and minerals, as well as analysis of bioactive constituents (fibers, fatty acids, pigments, total polyphenols, total flavonoids and certain polyphenolic acids) and antioxidant capacity in wild and cultivated chicory leaves,
- f) Documenting and determining the nutritional and mineral profile of selected dishes prepared from the leaves of this plant according to the traditional recipe.

Collected information from the available archival material confirmed that chicory leaves were used for centuries in Montenegro as vegetables in salads, souces and other types of appetizers and dishes.

Given that in Montenegro and the region there is very little data related to the detailed chemical composition of the leaves of chicory from these areas, the obtained results indicated the multiple benefits of using this plant in the diet. The results were compared with the literature data on the composition of grown leafy vegetables that is most often used in diet in these areas.

The results of the study indicated that chicory leaves were good sources of useful nutrients such as potassium, calcium, manganese, iron, and beta-carotene.

Also, the aim of this study was to determine biologically active substances (BAS) in the samples of *Cichorium intybus* L. leaves from different sources (wild and cultivated) in Montenegro and to investigate the potential influence of location and origin on the BAS. Antioxidant activity was also determined by three methods (DPPH, FRAP and ABTS) and the results obtained from all tests were used to calculate the antioxidant potency composite index (ACI).

The dietary fiber profile confirmed chicory leaves as an important source of fiber with non-soluble fiber as predominant (cellulose and chemicellulose). The majority of fats in chicory leaves consist-of unsaturated fatty acids, with essential  $\omega$ -3  $\alpha$ -linolenic acid as the most abundant. Chlorophyll a and b, lutein and  $\beta$ -carotene were the main pigments in chicory leaves. Total polyphenol content in chicory leaves was in accordance with literature data from other regions, and ACI index had a good correlation with the total phenolic and total flavonoid content.

Wild plants were superior to the cultivated ones regarding carbohydrate, calcium and manganese content. Origin of the chicory leaves significantly influenced most of the analyzed parameters. Many analyzed parameters were of higher quality in chicory leaves in comparison with the other leafy vegetables.

All these features could reinforce the interest of including chicory in modern diet as a healthy alternative to the variety of commonly used vegetables.

**Keywords:** chicory, nutrients, vitamins, minerals, antioxidant activity, fibres, fatty acids, pigments

**Scientific field:** Pharmacy

**Scientific topic:** Food chemistry and dietary products

**UDK:** 635.54:641.1(043.3)



## SADRŽAJ

<b>1. UVOD</b> .....	<b>1</b>
<b>1.1 Žučenica <i>Cichorium intybus</i> L (<i>Asteraceae</i>)</b> .....	<b>2</b>
1.1.1 Proučavanja hemijskog sastava žučenice .....	4
1.1.2 Razlike i sličnosti sastava samoniklog i gajenog bilja .....	5
1.1.3 Proučavanje žučenice kao tradicionalne hrane .....	5
<b>2. CILJEVI ISTRAŽIVANJA</b> .....	<b>9</b>
<b>3. MATERIJAL I METODE</b> .....	<b>11</b>
<b>3.1 Metode dokumentovanja tradicionalne upotrebe lista žučenice u ishrani na teritoriji Crne Gore</b> .....	<b>11</b>
<b>3.2. Uzorkovanje lista žučenice</b> .....	<b>12</b>
<b>3.3 Priprema uzoraka za analizu</b> .....	<b>15</b>
<b>3.4 Metode</b> .....	<b>15</b>
<b>3.5 Suva materija</b> .....	<b>16</b>
<b>3.6 Pepeo</b> .....	<b>17</b>
<b>3.7 Sirova mast</b> .....	<b>17</b>
<b>3.8 Proteini</b> .....	<b>18</b>
<b>3.9 Dostupni ugljeni hidrati</b> .....	<b>21</b>
<b>3.10 Energetska vrijednost</b> .....	<b>21</b>
<b>3.11 Mineralni sastav</b> .....	<b>21</b>
<b>3.12 Vitamini</b> .....	<b>27</b>
3.12.1. Vitamini B grupe .....	27
3.12.2 Vitamin C .....	30
<b>3.13 Ukupna, rastvorna i nerastvorna dijetna vlakna, hemiceluloza, celuloza, lignin i fruktan</b> .....	<b>32</b>

3.13.1	Određivanje sadržaja ukupnih, rastvornih i nerastvornih dijetnih vlakana ..	32
3.13.2	Određivanje hemiceluloze, celuloze i lignina .....	36
3.13.2.1	Određivanje neutralnih deterdžentnih vlakana (NDF) .....	36
3.13.2.2	Određivanje kiselih deterdžentnih vlakana (ADF) .....	38
3.13.2.3	Određivanje kiselog deterdžentnog lignina (ADL).....	41
3.12.2.4	Izračunavanje sadržaja hemiceluloze, lignina i celuloze .....	42
3.13.3	Određivanje fruktana.....	42
<b>3.14</b>	<b>Profil masnih kiselina .....</b>	<b>45</b>
<b>3.15</b>	<b>Pigmenti .....</b>	<b>46</b>
<b>3.16</b>	<b>Ukupni polifenoli, ukupni flavonoidi, hlorogenska i kafena kiselina .....</b>	<b>49</b>
3.16.1	Određivanje sadržaja ukupnih polifenola .....	49
3.16.2	Određivanje sadržaja ukupnih flavonoida .....	50
3.16.3	Određivanje sadržaja hlorogenske i kafene kiseline .....	50
<b>3.17</b>	<b>Antioksidativna aktivnost .....</b>	<b>53</b>
<b>3.18</b>	<b>Statistička analiza .....</b>	<b>54</b>
<b>4.</b>	<b>REZULTATI I DISKUSIJA .....</b>	<b>55</b>
<b>4.1</b>	<b>Žućenica kao tradicionalna hrana u Crnoj Gori .....</b>	<b>55</b>
4.1.1	Dokazi o tradicionalnoj primjeni lista žućenice u ishrani u Crnoj Gori .....	55
4.1.2	Karakteristike staništa žućenice u Crnoj Gori .....	65
<b>4.3</b>	<b>Tradicionalna jela od lista žućenice u Crnoj Gori .....</b>	<b>67</b>
<b>4.4</b>	<b>Rezultati analize nutritivnog profila u uzorcima listova samonikle i gajene žućenice .....</b>	<b>69</b>
4.4.1	Osnovni nutritivni sastav i energetska vrijednost .....	69
4.4.2	Minerali .....	73
4.4.3	Vitamini .....	75
4.4.4	Potencijal lista žućenice kao izvora minerala i vitamina u ishrani .....	78
4.4.5	Profil dijetnih vlakana .....	79
4.4.6	Sastav masnih kiselina .....	83
4.4.7	Pigmenti .....	87
4.4.8	Ukupni polifenoli, ukupni flavonoidi, hlorogena i kafena kiselina .....	94

4.4.9 Antioksidativni kapacitet .....	97
<b>4.5 Nutritivne vrijednosti i količine sekundarnih metabolita u odabranim tradicionalnim jelima od lista žučenice .....</b>	<b>102</b>
4.5.1 Nutritivni potencijal i energetska vrijednost odabranih tradicionalnih jela od lista žučenice .....	103
4.5.2 Minerali .....	104
<b>ZAKLJUČCI .....</b>	<b>107</b>
<b>LITERATURA .....</b>	<b>110</b>
<b>PRILOG .....</b>	<b>121</b>

## Lista skraćenica korišćenih u tekstu

EuroFIR	The European Food Information Resource
TRUEFOOD	Traditional United Europe Food
BaSeFood	Sustainable exploitation of bioactive components from the Black Sea Area traditional foods
FRAP	antioksidativna sposobnost redukcije feri jona
DPPH	difenilpikrilhidrazil
ABTS	troloks-ekvivalent antioksidativni kapacitet
AOAC	Association of Official Analytical Chemists
kcal	kilo kalorija
FLAAS	plamena atomska apsorpciona spektrofotomerija
ICP-OES	induktivno spregnuta plazma optička emisiona spektrometrija
HPLC	tečna hromatografija visokih performansi
LOD	granica detekcije
LOQ	granice kvantifikacije
TDF	ukupna dijetna vlakna
IDF	nerastvorna dijetna vlakna
SDF	rastvorna dijetna vlakna
NDF	neutralna deterdžentna vlakna
EDTA	etilendiamintetrasirćetna kiselina
ADF	kisela deterdžentna vlakna
ADL	kiseli deterdžentni lignin
NADP+	nikotinamid adenin dinukleotid fosfat
ATP	adenozin trifosfat
GC	gasna hromatografija
FAME	metil estri masnih kiselina
FID	plameno-jonizacioni detektor

TPC	ukupan sadržaj polifenola
TFC	ukupan sadržaj flavonoida
UV-VIS	ultraljubičasta-vidljiva spektroskopija
TE	tokoferol ekvivalent
GAE	ekvivalent galne kiseline
CE	katehin ekvivalenti
LC-MS/MS	tečna hromatografija-tandemna masena spektrometrija
ESI-	negativna elektronsprej jonizacija
MRM	postupak višestrukog praćenja reakcija
SD	standardna devijacija
ANOVA	analiza varijanse
LSD	najmanja značajna razlika
SPSS	Statistical Package for the Social Sciences
PDU	preporučeni dnevni unos
PMK	polinezasićene masne kiseline
DNK	dezoksiribonukleinska kiselina
ACI	antioksidativni kompozitni indeks

## 1. UVOD

Biljni pokrivač na Zemlji zauzima veliko prostranstvo. Kopno naše planete je svojim velikim dijelom prekriveno divljim, samoniklim rastinjem. Biljni svijet, od razvojno najnižih oblika do cvjetnica, izuzetno je raznovrsan i bogat i obuhvata više od 350.000 poznatih vrsta, a pretpostavka je da znatan broj biljnih vrsta još uvijek nije otkriven.

S druge strane, u svijetu danas gladuju ili se nedovoljno i slabo hrane milioni ljudi. Jedna od mjera za osiguranje kompletne i pravilne ishrane sve većeg broja stanovnika svakako je otkrivanje novih izvora hrane među samoniklim biljkama. Rezultati realizovanih ispitivanja na ovu temu pokazuju da samonikle biljke posjeduju veliki prehrambeni potencijal. Pretpostavlja se da bi čak jedna trećina svih biljnih vrsta mogla u nekom obliku biti upotrijebljena za jelo.

Ukorijenjene prehrambene navike i predrasude o mogućnosti korišćenja određenih biljnih vrsta za jelo teško se i sporo mijenjaju. Ipak, zadnjih godina sve se češće susriječemo sa prihvatanjem saznanja da se od velikog broja biljnih vrsta rasprostranjenih u prirodi mogu pripremiti ukusna i kvalitetna jela, koja ni po čemu ne zaostaju za onima koja se pripremaju od konvencionalnih kultivisanih biljnih kultura. Široko rasprostranjene samonikle biljne vrste, samostalno ili u kombinaciji sa drugim biljkama i začinicima, veoma kvalitetno mogu obogatiti dnevne obroke potrebnim nutrijentima, čineći ih ukusnim i raznovrsnim.

Samoniklo bilje u prirodi raste i razvija se u optimalnim ekološkim uslovima, zaštićeno od aktivnosti čovjeka, bez dodatne prihrane i zaštite od parazita i štetočina. Ove biljke u prirodi nisu izložene primjeni sredstva za zaštitu bilja, đubrivima kao ni drugim sredstvima koja se koriste u konvencionalnoj biljnoj proizvodnji. Ovo navodi na zaključak da bi samonikle biljke mogle biti biološki vrijednije, otpornije na bolesti i bogatije bioaktivnim sastojcima koji omogućavaju jačanje otpornosti organizma, djeluju povoljno na razmjenu materija i poboljšanje opšteg zdravstvenog stanja. Dodamo li ovdje i upotrebu aditiva i sredstava za stimulaciju rasta kada govorimo o konvencionalnim proizvodima,

zaključujemo da korišćenje samoniklih biljaka obezbjeđuje hranu očuvanih prirodnih svojstava. Jedna od takvih, do sada nedovoljno istraženih biljaka, mogla bi biti i žućenica koja je široko rasprostranjena u mediteranskom području i za koju postoje podaci da se tradicionalno koristila u ishrani.

### 1.1 Žućenica *Cichorium intybus* L (*Asteraceae*)

Biljka *Cichorium intybus* L (*Asteraceae*) je u različitim područjima Balkana poznata pod različitim nazivima: cikorija, vodopija, plava vodopija, modrica, cigura, konjska trava, plavulja, divlja ločika, divlji radić, konjogriz, mlečak, plavocvjet, zmijina trava, želtenica, a na teritoriji Crne Gore najčešći naziv za ovu biljku je žućenica.

To je biljka trajnog valjkastog i vretenastog korijena (30-150 cm), izvana žučkasto-bijele boje, a iznutra bijele boje, iz kog izbija duga čvrsta, uzduž izbrazdana a u gornjem dijelu jače razgranata stabljika. Donji listovi su duguljati i perasto izrezani, a gornji manji, lancetasti, naizmjenično poređani i sjedeći. Cvjetne glavice razvijaju se pojedinačno po čitavoj biljci u pazušcima listova ili na vrhu grana, a najčešće su svijetlo plave boje. Cvjetovi se razvijaju od juna do septembra i uglavnom su otvoreni samo u toku prijepodneva. Listovi i korijen su gotovo bez mirisa, a ukus je više gorak, posebno lista. Na mjestima preloma list i stabljika puštaju mliječno bijeli sok – mlječiku. Žućenica (slika 1) se često sreće u prirodi, uz rubove puteva i polja, na livadama i pustim zemljištima, a daje prednost sušnijem zemljištu [1].



Slika 1. Žućenica - *Cichorium intybus* L (*Asteraceae*) – biljka u ranoj fazi vegetacije

Prve podatke o žučenici kao korisnoj i ljekovitoj biljci nalazimo u staroegipatskim papirusima. Biljku spominju i antički pisci Teofrast, Dioskorid, Galen i Plinije. U starom Rimu listove su koristili kao salatu i lijek protiv stomačnih tegoba, a prije nego što je kafa stigla u Evropu korijen je korišćen za pravljenje napitka sličnog kafi, koji se i danas koristi. Ova biljka se tradicionalno koristila u narodnoj medicini za liječenje oboljenja jetre, kao sredstvo za jačanje organizma i poboljšanje varenja hrane. U ove svrhe upotrebljavao se sok svježeg nadzemnog dijela biljke. Čaj se pripremao i od osušenog korijena i koristio kod bolesti jetre i žučnih puteva [2].

I pored duge tradicije korišćenja u narodnoj medicini biljka nije oficinalna u evropskoj farmakopeji niti u nacionalnim farmakopejama, a nadzemni djelovi spadaju u manje istraživane biljne organe u pogledu fitohemijskih i farmakoloških svojstava. Danas se biljka u velikom broju zemalja gaji u nekoliko varijeteta i koristi u sljedeće svrhe: korijenasti varijetet (var. *sativum*) se koristi za proizvodnju surogata kafe, za ekstrakciju inulina i kao biljna droga u preparatima namijenjenim osobama oboljelim od dijabetesa, kao i u proizvodima namijenjenim redukciji tjelesne mase; var. *foliosum* se koristi za proizvodnju izdanaka koji se koriste kao povrće (Belgija); isti varijetet u punoj zrelosti se koristi za dobijanje listova koji se konzumiraju svježi ili u jelima [3].

Svjež list žučenice tradicionalno se koristi u ishrani u području oko Sredozemnog mora, prije svega u djelovima Italije (Ligurijska i Puljska), Španije (Katalonija), u Grčkoj, Albaniji i Turskoj. Svaka od ovih zemalja ima karakteristične recepture za pripremu tradicionalnih jela od lista žučenice, npr. u Grčkoj je to horta, u Albaniji se koristi za pripremu bureka, a u Liguriji u pripremi prebođiona.

U Crnoj Gori se korišćenje žučenice u ishrani vezuje za list samonikle biljke, koji se najčešće ručno bere na livadama i padinama brda. Međutim, posljednjih godina se sve veća pažnja poklanja zdravijim načinima života, pa i ishrani, što umnogome doprinosi povećanom korišćenju samoniklog jestivog bilja. Sve je više ugostiteljskih objekata, posebno onih ekskluzivnih na crnogorskom primorju, koji u svoju ponudu uključuju jela koja prate ovaj trend. Pojedini proizvođači povrća osim tradicionalno zastupljenih povrtlarskih kultura, „osluškujući“ zahtjeve tržišta, u plastenicima u okolini Podgorice, Danilovgrada i Bara, doduše još uvijek sporadično, proizvode i kompletne linije začinskog bilja - nana,



bosiljak, korijander, žalfija, timijan, ruzmarin, kim, rukola, ali i biljne kulture slične zelenom lisnatom povrću kakva je i žućenica.



Slika 2. Žućenica *Cichorium intybus* L (Asteraceae)- biljka u kasnoj fazi vegetacije

U djelovima Crne Gore se od svježeg lista žućenice priprema veći broj jela, od salata do termički tretiranih.

Proučavanja žućenice se mogu vršiti sa nekoliko aspekata:

- sa aspekta hemijskog sastava, uticaja različitih faktora na sastav (lokacija)
- proučavanja razlika i sličnosti sastava kod samoniklih i gajenih biljaka
- proučavanja žućenice kao tradicionalne hrane

#### 1.1.1 Proučavanja hemijskog sastava žućenice

Hemijski sastav žućenice proučavan je u mnogim zemljama, najviše u dijelu nutritivnog sastava (hranljive materije, minerali i vitamini) i sadržaja biološki aktivnih supstanci (dijetna vlakna, polifenolne materije, flavonoidi, steroli i sl.). Antioksidativni potencijal svih dijelova biljke bio je, takođe, veoma često tema mnogih studija.

Ispitivanja hemijskog sastava žućenice su prvobitno bila usmjerena ka njenom korijenu i sjemenu. Međutim, u posljednje vrijeme primjetan je porast broja istraživanja hemijskog sastava lista.

Objavljeni rezultati istraživanja na korijenu žučenice odnose se na sadržaj nutijenata i biološki aktivnih materija, prije svega ugljenih hidrata, vlakana, polifenolnih materija, kao i antioksidativne aktivnosti. Sjeme žučenice je proučavano sa aspekta njegove nutritivne vrijednosti, a u cilju upotrebe kao sastojka hrane za ishranu ljudi ili životinja [4].

Sve veća zastupljenost žučenice kao povrtlarske kulture u Sloveniji, Italiji i Turskoj uslovlila je da određena istraživanja za svoj predmet imaju efekte primjenjenih agrotehničkih mjera na nutritivni sastav i sadržaj biološki aktivnih materija u listovima ove biljke (ukupni polifenoli i polifenolna jedinjenja, flavonoidi, steroli i dr.) [5, 6-9]. Ispitivanja sastava masnih kiselina su takođe bila predmet interesovanja slovenačkih istraživača, a za cilj su imala međusobno poređenje različitih kultivisanih sorti ove biljke [10].

### *1.1.2 Razlike i sličnosti sastava samoniklog i gajenog bilja*

Ispitivanja hemijskog sastava samonikle i gajene žučenice u svrhu njihovog međusobnog poređenja nisu tako česta. Većinom su to istraživanja novijeg datuma bazirana na utvrđivanju razlika i sličnosti vezanih za hidrofilnu i lipofilnu antioksidativnu aktivnost, ukupne fenole, flavonoide i sadržaj tokoferola i karotenoida [8].

### *1.1.3 Proučavanje žučenice kao tradicionalne hrane*

Specifične navike u ishrani igraju važnu ulogu u tradicionalnim navikama mnogih kultura. Upotreba pojedinih sastojaka hrane i načini pripreme hrane koji se prenose sa jedne generacije na drugu danas se nazivaju „tradicionalnom hranom“. Ovaj naziv se može upotrijebiti, na osnovu definicije EuroFIR (The European Food Information Resource), za hranu za koju postoji dokaz da je kao takva ustanovljena ili specificirana prije Drugog svjetskog rata, tj. prije perioda od kojeg počinje nagli razvoj industrije i drugih grana privrede [11].

Tradicionalna hrana je hrana sa određenim funkcijama ili osobinama po kojima se razlikuje od drugih sličnih proizvoda iste kategorije u pogledu upotrebe „tradicionalnih sastojaka“ (sirovina), „tradicionalnog sastava“ ili „tradicionalnog načina proizvodnje i/ili načina obrade“.

„Tradicionalni sastojak“ je sirovina ili primarni proizvod koji se u prošlosti koristio na određenom geografskom području i ostao u upotrebi do danas.

„Tradicionalni sastav“ predstavlja jedinstvene prepoznatljive sastojke koji su se koristili prije Drugog svjetskog rata i koji su se prenosili sa generacije na generaciju usmenim predanjem ili drugim sredstvima. Ovaj sastav se razlikuje od sastava definisanog opšteprihvaćenim karakteristikama šire grupe sličnih proizvoda.

„Tradicionalni način proizvodnje i/ili način obrade“ podrazumijeva proizvodnju i/ili obradu hrane na način koji se prenosio sa generacije na generaciju koji je kao takav primjenjivan prije Drugog svjetskog rata i koji se koristi i dalje uprkos njegovom prilagođavanju pravilima higijene hrane ili tehnološkom napretku, pod uslovom da proizvodnja i/ili prerada ostaju u skladu sa prvobitnim načinom pripreme koji uslovljava održavanje prvobitnih fizičkih, hemijskih, mikrobioloških ili organoleptičkih karakteristika [11, 12].

Tradicionalna hrana, kao izraz kulture, istorije i načina života na određenom području, odigrala je važnu ulogu u tradicijama različitih kultura i regiona hiljadama godina unazad, uključujući namirnice koje su bile konzumirane lokalno i regionalno duži vremenski period [13].

Priprema tradicionalnih jela predstavlja dio folklorne neke zemlje ili regiona. Iako u posljednje vrijeme tradicionalnoj hrani prijeti opasnost od zaborava iz razloga izmijenjenih životnih stilova, posljednjih desetak godina se ovoj tematici u stručnoj i naučnoj javnosti pridaje značajna pažnja. Stoga je proučavanje i dokumentovanje tradicionalne hrane od velike važnosti kako bi se i na taj način sačuvali kulturni elementi određene društvene zajednice. Proučavanje tradicionalne hrane omogućava važan uvid u način ishrane i to kako se on mijenjao kroz vrijeme i ovoj temi je bilo posvećeno nekoliko velikih evropskih FP6 i FP7 projekta, kao što su TRUEFOOD, BaSeFood i EuroFIR<sup>1</sup> [5, 14, 15].

Hrana, koja predstavlja važan činilac u održanju ljudske egzistencije oduvijek je bila predmet interesovanja, bilo da se radi o raznovrsnosti njenih sastojaka ili o različitim načinima njenog pripremanja. Sve ovo, uključujući brigu o higijeni pripreme, svježini i dobrom ukusu hrane, znali su vijekovima unazad stanovnici Crne Gore koji su i pored oskudnog obrazovanja na siromašnom tlu pripremali hranu koja je zadovoljavala navedene

---

<sup>1</sup> TRUEFOOD - Traditional United Europe Food; BaSeFood - Sustainable exploitation of bioactive components from the Black Sea Area traditional foods; EuroFIR - The European Food Information Resource

uslove. Iako priroda nije bila naklonjena narodu na ovom prostoru, on je znao da se iz oskudne flore i faune može mnogo toga iskoristiti, a posebno samoniklo bilje poput: žućenice, koprive, morača, lista vinove loze, čička i mnogih drugih [16, 17, 18].

Samoniklo jestivo lisnato bilje u velikoj mjeri može obezbijediti neke od esencijalnih nutrijenata u ishrani ljudi. Ono je dobar izvor vlakana, minerala, vitamina, fitohemikalija i antioksidansa i zato može biti dio modernog koncepta nutritivne prevencije i nutritivne terapije kod hroničnih bolesti kao što su gastrointestinalni problemi (opstipacija), kardiovaskularni problemi (hipertenzija i hiperlipidemija), dijabetes, gojaznost i dr [19, 20].

Priroda Crne Gore je veoma bogata, ali se malo koristi sve ono što pruža, posebno kada je u pitanju ishrana. Konzumiranje samoniklog jestivog bilja u većem dijelu Evrope, pa i u ruralnim i urbanim područjima Crne Gore je malo zastupljeno iz više razloga, od kojih su neki stanje životne sredine, promjene u načinu života (pogotovo za mlađe generacije) i ekonomski faktori. Zato je neophodno naučnim činjenicama i dokazima uticati na svijest stanovništva o mogućnostima, potrebi i značaju konzumiranja samoniklog zelenog lisnatog bilja u svakodnevnoj ishrani. Rezultati ovakvih istraživanja predstavljaju podlogu za promociju proizvodnje tradicionalnih sastojaka i tradicionalne hrane kao dio ruralnog održivog razvoja, ali i kao dio napora za uključivanje manje uobičajenih, ali kvalitetnih i punovrijednih namirnica u svakodnevnu ishranu sa ciljem unapređenja i očuvanja zdravlja u široj zajednici.

Ovdje veoma bitnu ulogu ima to što se veoma malo zna koje su samonikle biljke jestive, kakvu hranljivu vrijednost posjeduju, gdje se sve mogu naći i kako se mogu koristiti u ishrani.

Žućenica je kao samonikla jestiva biljka koja se tradicionalno koristi u ishrani prepoznata u istraživanjima obavljenim na Siciliji gdje se listovi konzumiraju kuvani ili kao sastojak u supama [21].

Takođe su opisane hemijske osobine lista žućenice (profil polifenola i antioksidativna aktivnost) kao jedne od deset zeljastih biljaka koje se koriste za pripremanje tradicionalnog jela "prebuggiun" u Liguriji (sjeverna Italija) [22].

U Crnoj Gori do sada nisu vršena istraživanja biljke žučenice kao tradicionalne hrane niti postoje u naučnim publikacijama objavljeni podaci o istoriji korišćenja ove biljke na prostorima Crne Gore.

## 2. CILJEVI ISTRAŽIVANJA

Istraživanja izvršena u okviru ove doktorske disertacije imala su sljedeće ciljeve:

- a) Sakupljanje relevantnih dokaza o tradicionalnoj primjeni lista žučenice u ishrani u Crnoj Gori u arhivskom materijalu, kao i sakupljanje podataka o recepturama jela koja se tradicionalno pripremaju od lista žučenice u Crnoj Gori,
- b) Dokumentovanje procesa uzorkovanja lista samonikle žučenice na više lokaliteta u Crnoj Gori, kao i procesa gajenja žučenice, sa opisom staništa i klimatskih uslova
- c) Analiza nutritivnog profila u uzorcima lista samonikle i gajene žučenice ispitivanjem:
  - sadržaja makronutrijenata (pepeo, ukupe masti, ukupni ugljeni hidrati, ukupni proteini) sadržaja mineralnih materija (Na, K, Ca, Mg, P, Fe, Cu, Zn, Mn)
  - sadržaja vitamina i profila dijetnih vlakana: ukupna vlakna, rastvorna i nerastvorna vlakna, hemiceluloza, celuloza, lignin i fruktan
  - sastava masnih kiselina, sadržaja pigmenata (neoksantin, violaksantin, anteraksantin, zeaksantin, lutein, hlorofil a and b, feofitin a i b i  $\alpha$ - i  $\beta$ -karoten);
  - sadržaja ukupnih polifenolnih materija, flavonoida i najzastupljenijih polifenolnih kiselina (hlorogenska i kafena kiselina);
  - antioksidativne aktivnosti ekstrakta (FRAP, DPPH i ABTS testovi);
- d) Sagledavanje kvaliteta lista samonikle žučenice u funkciji lokaliteta i varijabilnosti između lista samonikle i gajene žučenice,

- e) Praćenje nutritivne vrijednosti i mineralnog sastava u odabranim tradicionalnim jelima od lista žućenice uz procjenu uticaja načina pripreme.

### 3. MATERIJAL I METODE

#### 3.1 Metode dokumentovanja tradicionalne upotrebe lista žućenice u ishrani na teritoriji Crne Gore

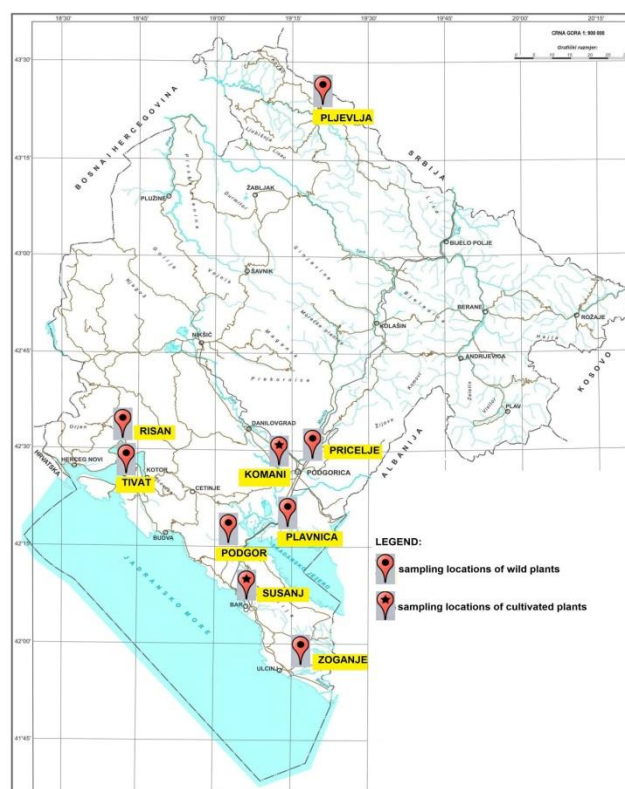
Na osnovu metodologije razvijene u okviru međunarodnog projekta EuroFIR proces dokumentovanja tradicionalne upotrebe lista žućenice u ishrani na teritoriji Crne Gore sastojao se iz sljedećih elemenata [23]:

1. Opis namirnice i prikupljanje receptura jela koja ga sadrže
2. Dokumentovanje tradicionalnog karaktera namirnice u skladu sa prethodno usvojenim protokolom
  - a) Pregled arhivske građe u kojoj se spominje korišćenje biljke u ishrani na teritoriji Crne Gore
  - b) Izbor lokacija za prikupljanje uzoraka namirnice i jela koja sadrže namirnicu na geografskim područjima za koja je karakteristično njihovo tradicionalno korišćenje
  - c) Za pripremu tradicionalnih jela odabrano je isto geografsko područje
  - d) Priprema jela je izvršena u tri nezavisna ponavljanja kako bi se obezbijedila tri nezavisna uzorka
  - e) Tokom pripreme jela prikupljani su podaci o porijeklu svih sastojaka, o pripremi sastojaka, izvršena su mjerenja svih sastojaka, zabilježeni su detalji o načinima obrade namirnica, vremenu potrebnom za pripremu
  - f) Proces pripreme jela je dokumentovan foto zapisom
3. Evaluacija postojećih literaturnih podataka o sastavu namirnice i jela



### 3.2. Uzorkovanje lista žučenice

Uzorkovanje lista samonikle žučenice vršeno je u periodu kasnog proljeća i ljeta (maj-jun) tri uzastopne godine (2014, 2015. i 2016.) na više različitih lokacija na kojima ova biljka uobičajeno raste. Izbor lokacija uzorkovanja samonikle žučenice napravljen je na način što je teritorija Crne Gore podijeljena na primorski, centralni i sjeverni region. Od sedam odabranih lokacija tri su bile sa primorja (Zoganje, Tivat i Risan), tri iz centralnog regiona (Podgor, Pričelje i Plavnica) i jedna sa sjevera (Pljevlja) (slika 3).



Slika 3. Prikaz lokacija uzorkovanja

Listovi samoniklih biljaka sakupljeni su na livadama, udaljenim od saobraćajnica i industrijskih postrojenja u vegetativnoj fazi prije cvjetanja (slika 4 i 5). Lokacije na kojima je izvršeno uzimanje uzoraka bile su tipične za staništa na kojima žučenica uobičajeno raste. Većinom su se nalazile na uzvišenjima ili padinama. Tlo je bilo relativno suvo.



*Slika 4. Lokacija uzorkovanja*



*Slika 5. Žučnica na jednoj od lokacija uzorkovanja*

Uzimanje uzoraka vršeno je rano ujutro. Uzorkovan je nadzemni dio biljke-listovi iz rozete prije formiranja cvjetonosne stabljike. Birani su mladi i sočni listovi, karakteristične zelene boje, koji nisu bili napadnuti parazitima.

Podzorci sa 6-10 mikrolokacija (u zavisnosti od veličine lokacije uzorkovanja) su sjedinjavani u jedan kompozitni (zbirni) uzorak (~ 2 kg). Od zbirnog uzorka jedan dio je odvajan i uvijan u aluminijumsku foliju kako bi se spriječila fotohemijska degradacija određenih komponenti (pigmenti).

Uzorkovanje gajenih biljaka vršeno je na isti način kao i samoniklih, u plastenicima sa odvojenim zasadima koji su u potpunosti bili prekriveni plastičnom folijom i navodnjavani sistemom kap-po-kap (slika 6 i 7).



Slika 6. Lokacija uzorkovanja gajene žućenice



Slika 7. Lokacija uzorkovanja gajene žućenice

U ovim plastenicima gajena je biljka *var. foliosum* koju karakterišu listovi manje gorčine i prilično ravnih rubova. Sjeme korišćeno u oba plastenika je trgovačkog naziva „Catalogna gigante di Chioggia“ proizvođača Hortus Sementi Srl, Longiano, Italija.

### 3.3 Priprema uzoraka za analizu

Svježi i zdravi listovi žučenice su oprani dejonizovanom vodom od ostataka zemlje i drugih nečistoća. Jedan dio svježeg biljnog materijala (~ 1 kg) je samljeven u električnom mlinu (IKA A11) i čuvan u označenim i od pristupa vazduha zaštićenim polietilenskim posudama na -18 °C.

Drugi dio (namijenjen analizi sadržaja polifenola, pigmenata i određivanju antioksidativne aktivnosti) je liofiliziran (Alpha 1-4LD Christ, Germany) i samljeven u fini prah korišćenjem kugličnog mlina (S100, Retsch). Uzorci su čuvani u dobro zatvorenim, označenim i od vlage zaštićenim polietilenskim bočicama.

Prije i nakon liofilizacije uzorci su vagani u cilju kasnijeg preračuna dobijenih rezultata sa suve na vlažnu masu.

Uzorci jela analizirani su neposredno nakon pripreme. Čvrsti uzorci su dobro homogenizovani u laboratorijskom mlinu-blenderu, dok su tečni uzorci analizirani direktno nakon temeljne homogenizacije miješanjem. Analizirano je ukupno osam odabranih jela.

### 3.4 Metode

U ispitivanim uzorcima lista žučenice utvrđen je sadržaj sljedećih parametara:

1. Sadržaj suve materije
2. Sadržaj pepela
3. Sadržaj sirove masti
4. Sadržaj proteina
5. Sadržaj dostupnih ugljenih hidrata
6. Energetska vrijednost
7. Mineralni sastav: sadržaj natrijuma, kalijuma, kalcijuma, magnezijuma, cinka, bakra, gvožđa, mangana i fosfora
8. Sadržaj vitamina: vitamin B<sub>1</sub>, vitamin B<sub>2</sub>, vitamin B<sub>6</sub> i vitamin C
9. Sadržaj ukupnih, rastvornih i nerastvornih dijetnih vlakana, hemiceluloze, celuloze, lignina i fruktana
10. Profil masnih kiselina

11. Sadržaj pigmenata: neoksantin, violaksantin, anteraksantin, zeaksantin, lutein, hlorofil a and b, feofitin a i b i  $\alpha$ - i  $\beta$ -karoten
12. Sadržaj ukupnih polifenola, ukupnih flavonoida, hlorogenske i kafene kiseline
13. Antioksidativna aktivnost: DPPH, FRAP i ABTS test.

U ispitivanim uzorcima jela od lista žućenice, koja su pripremljena po tradicionalnoj recepturi, utvrđen je sadržaj sljedećih parametara:

1. Sadržaj suve materije
2. Sadržaj pepela
3. Sadržaj ukupnih masti
4. Sadržaj proteina
5. Sadržaj ukupnih ugljenih hidrata
6. Energetska vrijednost
7. Mineralni sastav: sadržaj natrijuma, kalijuma, kalcijuma, magnezijuma, cinka, bakra, gvožđa, mangana i fosfora

Sva određivanja izvršena su u tri nezavisna ponavljanja, a dobijeni rezultati izraženi su kao srednja vrijednost i pripadajuća standardna devijacija.

### 3.5 Suva materija

Metode određivanja suve materije sušenjem zasnivaju se na sušenju uzoraka do konstantne mase u raznim vrstama sušnica, pod običnim ili smanjenim pritiskom. Sušenje se vrši sve dok se masa ostatka poslije produženog sušenja više ne smanjuje, odnosno dok razlika u masi kod dva uzastopna sušenja ne iznosi više od 1–3 mg. U slučajevima povećanja mase poslije sušenja kao krajnji rezultat uzima se posljednja masa prije povećanja.

Sadržaj suve materije određen je u skladu sa metodom AOAC 930.04 [24]. Određivanje je izvršeno u sušnici (Thermo Heraeus 6000 Vacutherm) podešenoj na temperaturu ( $135\pm 2$ ) °C. U prethodno odvagane posude od aluminijuma sa poklopcima odvagano je 2 g uzorka koji je ravnomjerno raspoređen po dnu posude. Posude, sa kojih su sklonjeni poklopci, sušene su dva sata. Poklopljene posude su zatim brzo prenošene u eksikator i ohlađene. Nakon vaganja izračunat je ostatak nakon sušenja, tj. suva materija.



Sadržaj suve materije određen je iz razlike u masi posude sa uzorkom prije i poslije sušenja na sljedeći način:

$$\text{sadržaj suve materije} = \frac{a \cdot 100}{m} \%$$

gdje je:

$a$  – masa posude sa uzorkom poslije sušenja (g)

$m$  – odmjerena količina uzorka (g)

### 3.6 Pepeo

Sadržaj pepela određen je korišćenjem metode AOAC 930.05 [24].

Odmjerena je količina od oko 2 g uzorka u prethodno izaren i izmjeren lončić za spaljivanje. Poslije uparavanja vlage iz uzorka na vodenom kupatilu i u sušnici na 105 °C, uzorci su spaljivani. Spaljivanje je najprije vršeno na nižoj temperaturi (na električnom rešou), a kasnije je temperatura povišena i žarenje je nastavljeno u električnoj peći (L40/11/B170, Nabertherm) na 600 °C dva sata. Poslije žarenja, lončić je hlađen u eksikatoru i mjereno. Žarenje se ponavljalo još 10–30 minuta i nakon ponovnog hlađenja lončići su mjereni. Žarenje je nastavljano sve dok se nije dobila konstantna masa.

Izračunavanje sadržaja pepela vršeno je na sljedeći način:

$$\text{sadržaj pepela} = \frac{a \cdot 100}{m} \%$$

gdje je:

$a$  – masa pepela (g) (razlika lončića sa pepelom i praznog lončića)

$m$  – odmjerena količina uzorka (g)

### 3.7 Sirova mast

Sirova mast je određena po proceduri opisanoj u AOAC 930.09 [24].

Količina od 2 g uzorka ekstrahovana je anhidrovanim etrom. Ekstrakcija je vršena uz korišćenje poroznih posuda koje omogućavaju brz prolazak etra (Soxtec Avanti 2055,

Foss Tecator). Ekstrakciono vrijeme je bilo 4 sata sa protokom kondenzata od 5-6 kapi/s. Dobijeni ekstrakt sušen je na 100 °C 30 minuta, ohlađen i vagan. Izračunavanje sadržaja sirove masti vršeno je na sljedeći način:

$$\text{sadržaj sirove masti} = \frac{a \cdot 100}{m} \%$$

gdje je:

$a$  – masa osušenog esktakta (g)

$m$  – odmjerena količina uzorka (g)

### 3.8 Proteini

Za određivanje sadržaja proteina korišćena je automatska makro Kjeldahl metoda opisana u AOAC 977.02 [24] uz određene modifikacije.

*Princip metode:* Uzorci su digestovani u tubama od 250 ml uz pomoću sistema za blok digestiju. Nastali amonijak je destilovan u rastvor standardne kiseline i retitrovan sa standarnim rastvorom baze.

Aparatura:

(a) Sistem za blok digestiju (Digestion System) Foss Tecator

(b) Kjeltec analizatorska jedinica - Foss Tecator 2300

Reagensi:

(a) *Dejonizovana voda*

(b) *Amonijum sulfat (NH<sub>4</sub>)SO<sub>4</sub> >99,5%*

(c) *Natrijum-karbonat Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>*

(d) *Sumporna kiselina, koncentrovana*

(e) *HCl 0,2000 M*

(f) *Natrijum-hidroksid 40%* - rastvoreno je 400 g NaOH u vodi i prenijeto u normalni sud od 1 l.

(g) *Borna kiselina 1% sa bromkrezol zelenim/metilcrvenim za autotitraciju* – 100 g borne kiseline rastvoreno je u 5-6 l vrele dejonizovane vode, dobro promiješano i dodata topla dejnozovana voda do približno 9 l. Rastvor je ohlađen do sobne temperature i dodato

je 100 ml rastvora indikatora bromkrezol zeleno i 70 ml rastvora indikatora metil crveno. Rastvor je dopunjen do zapremine od 10 l i pažljivo promiješan.

(h) *Rastvor indikatora bromkrezol zeleno* – 100 mg bromkrezol zelenog rastvoreno je u 100 ml etanola

(i) *Rastvor indikatora metal crveno* – 100 mg metil crvenog rastvoreno je u 100 ml etanola

(j) *Katalizator Selenium tablets* – sadrže 1,5 g  $K_2SO_4$  + 7,5 mg Se

(k) *Natrijum-hidroksid 33%* - rastvoreno je 330 g NaOH u vodi i prenešeno u normalni sud od 1 l.

Podšavanje koncentracije rastvora

a) *HCl 0,2000 M*

Za određivanje tačne koncentracije rastvora HCl korišćena je titracija sa primarnim standardom  $Na_2CO_3$ .

Izvagano je približno 10 g anhidrovanog  $Na_2CO_3$  prethodno spraćenog u avanu i sušeno 1 sat na 265 °C ili 2 sata na 200 °C . Nakon hlađenja u eksikatoru prenešeno je u erlenmajer sa šlifom i čuvano u eksikatoru.

Od ovako pripremljenog natrijum-karbonata odvagano je približno 0,4 g na analitičkoj vagi i zabilježena je masa ( $W_1$ ). Odvagana količina je prenijeta u čašu i dodato je 40 ml dejonizovane vode. Zatim je dodato 10 kapi rastvora indikatora metil crvenog i titrovano rastvorom HCl do pojave roze boje. Utoršena zapremina u ml je zabilježena ( $A_1$ ). Zatim je ovaj rastvor zagrijan nekoliko minuta na rešou. Rastvor se obojio u zeleno. Brzo je ohlađen pod mlazom vode do sobne temperature. Titracija je nastavljena do ponovne promjene boje u rozu. Ponovo je zabilježena utrošena zapremina rastvora HCl ( $A_2$ ). Rastvor je ponovo zagrijan nekoliko minuta, ohlađen pod mlazom vode i nastavljena je titracija do pojave roze boje, zapremina HCl  $A_3$ .

Tačna koncentracija rastvora HCl izražena na četiri decimale izračunata je na sljedeći način:

$$\text{mol / l HCl} = \frac{18,870 \times W_1}{A_1 + A_2 + A_3}$$



b) *Borna kiselina, 4%*

Rastvor borne kiseline bio je crven i prenešeno je 25 ml u odgovarajući sud i dodato 100 ml dejonizovane vode. Rastvor je titrovan 0,1 M NaOH do neutralne sive boje. Zatim je preračunata potrebna količina 0,1 M NaOH za neutralizaciju ukupne količine rastvora borne kiseline od 10 l i dodata je u rastvor.

*Postupak*

(1) *Količina uzorka za analizu:* Zbog očekivano niskog sadržaja ukupnog azota izvagan je 1,0 g uzorka na analitičkoj vagi (BP 211 D, Sartorius).

(2) *Digestija:* U uzorak odmjeren u kiveti dodate su dvije tablete katalizatora *Selenium tablets*. Zatim je pažljivo dodato 12 ml koncentrovane sumporne kiseline i lagano promućkano. Na kivete koje su postavljene u postolje prikačen je izduvni sistem i podešen aspirator vode do punog efekta. Postolje sa izduvnim sistemom je postavljeno na zagrijanu ploču sistema za digestiju (420 °C). Nakon približno 5 minuta kapacitet aspiriranja vode je smanjen. Nastavljeno je sa digestijom dok sadržaj u kivetama nije postao čist plavo-zeleni rastvor. Zatim je postolje sa kivetama i izduvnim sistemom sklonjeno i ostavljeno da se hladi 10-20 minuta. U kivete je pažljivo dodato 75 ml dejonizovane vode.

(3) *Automatska destilacija*

Automatska destilacija je izvršena pomoću jedinice Kjeltec 2300, Foss Tecator.

(4) *Slijepa proba*

Prije svake serije uzoraka izvršena je analiza „slijepa probe“, koja sadrži sve reagensne kao i uzorak.

Izračunavanje koncentracije azota u mg/l izvršeno je na sljedeći način:

$$\text{mg / l N} = \frac{(T - B) \times N \times 14,007 \times 1000}{V}$$

gdje je:

T – zapremina 0,2000 M HCl utrošena za titraciju uzorka, ml

B – zapremina 0,2000 M HCl utrošena za titraciju „slijepa probe“, ml

N – tačna koncentracija 0,2000 M HCl kiseline na četiri decimale

V – zapremina uzorka, ml

Sadržaj proteina dobijen je množenjem sadržaja azota faktorom 6,25.

### 3.9 Dostupni ugljeni hidrati

Sadržaj dostupnih ugljenih hidrata izračunat je računski oduzimanjem sume vlage, proteina, masti, dijetnih vlakana i pepela od cjelokupnog uzroka.

### 3.10 Energetska vrijednost

Ukupna energetska vrijednost je izračunata u kcal/100 g množenjem sadržaja proteina i ugljenih hidrata faktorom 4 i sadržaja masti faktorom 9 [25].

### 3.11 Mineralni sastav

*Princip metode:* Za određivanje mineralnog sastava korišćena je tehnika plamene atomske apsorpcione spektrofotometrije (FLAAS) i induktivno spregnute plazme-optičke emisije spektrometrije (ICP-OES) nakon mikrotalasne razgradnje uzorka u smješi azotne kiseline i vodonik-peroksida.

#### *Reagensi i standardi:*

- (a) Azotna kiselina puriss. *p.a.*, Sigma Aldrich,  $\geq 69\%$  (m/m), gustine 1,37-1,41 g/ml
- (b) Azotna kiselina,  $c \approx 0,1$  mol/l: Razblaži se 7 ml koncentrovane azotne kiseline (5.2) vodom do 1000 ml.
- (c) Azotna kiselina,  $c \approx 3$  mol/l: Razblaži se 200 ml koncentrovane azotne kiseline (5.2) vodom do 1000 ml.
- (d) Vodonik peroksid,  $\geq 30\%$  (m/m) for trace analyses, Sigma Aldrich
- (e) Standardni rastvor gvožđa, Iron BCR® certified Reference Material (999±2) mg/l (Fluka)
- (f) Standardni rastvor mangana, Manganese BCR® certified Reference Material (999±2) mg/l (Fluka)
- (g) Standardni rastvor cinka, Zinc BCR® certified Reference Material (1001±2) mg/l (Fluka)
- (h) Standardni rastvor bakra, Copper BCR® certified Reference Material (997±4) mg/l (Fluka)
- (i) Standardni rastvor kalcijuma, Calcium BCR® certified Reference Material (999±2) mg/l (Fluka)

(j) Standardni rastvor magnezijuma, Magnesium BCR® certified Reference Material (999±2) mg/l (Fluka)

(k) Standardni rastvor natrijuma, Sodium BCR® certified Reference Material (999±2) mg/l (Fluka)

(l) Standardni rastvor kalijuma, Potassium BCR® certified Reference Material (999±2) mg/l (Fluka)

(m) Standardni rastvor fosfora, Phosphorus BCR® certified Reference Material (999±2) mg/l (Fluka)

*Aparati i oprema:*

(a) Atomski apsorpcioni spektrometar Shimadzu AA6800, sa D2 pozadinskom korekcijom, opremljen autosemplerom i pogodnim dovodom gasova.

(b) Lampe sa šupljom katodom za gvožđe, mangan, cink i bakar (Hamamatzu, Japan)

(c) Induktivno spregnuta plazma - optički emisijski spektrometar (ICP-OES) Thermo iCAP serije 6300, opremljen autosemplerom i pogodnim dovodom gasova

(d) Mikrotalasna peć Berghof MWS-4, dizajnirana za laboratorijsku upotrebu i posude za razgradnju kapaciteta 100 ml i pritiska najmanje 1,4 MPa.

(e) Normalni sudovi od 25 ml.

(f) Analitička vaga Sartorius BP 211 D (max = 80 g, d = 0,00001 g, e = 0,001 g)

*Priprema uzoraka-razgradnja pod pritiskom:*

Od svakog uzorka je odvagano 500 mg sa tačnošću ±0,1 mg na analitičkoj vagi BP 211 D, Sartorius. U posudu za razgradnju dodato je 5 ml azotne kiseline (≥ 69%) i 2 ml vodonik peroksida. Nakon 20 minuta posude su zatvorene i postavljene u držač unutar mikrotalasne peći. Program rada mikrotalasne peći (Tabela 1) uključuje korak sa niskom snagom nekoliko minuta, poslije kojeg slijedi nekoliko koraka podešenih na jaču snagu.

Posuda za razgradnju su izvađene iz mikrotalasne peći i ohlađene prije nego što su otvorene. Sadržaj je prenet u normalni sud od 25 ml i dopunjen dejonizovanom vodom. Slijepa proba tretirana je na isti način kao i uzorci [26, 27].

Tabela 1. Program za razgradnju pod pritiskom za mikrotalasnu peć Berghof MWS-4

	Temperature (°C)	Pressure (bar)	Ramp	Time (min)	Power (%)
1	190	50	5	10	90
2	50	0	1	1	0
3	50	0	1	1	0
4	50	0	1	1	0
5	50	0	1	1	0

*Određivanje gvožđa, mangana, cinka i bakra:*

Sadržaj bakra, cinka, mangana i gvožđa određen je plamenom tehnikom atomske apsorpcione spektrofotometrije (FLAAS) na instrumentu AA6800 Shimadzu, Japan. Ova tehnika zahtjeva smještu acetilen/vazduh.

*Parametri instrumenta:*

Parametri instrumenta prikazani su u Tabeli 2.

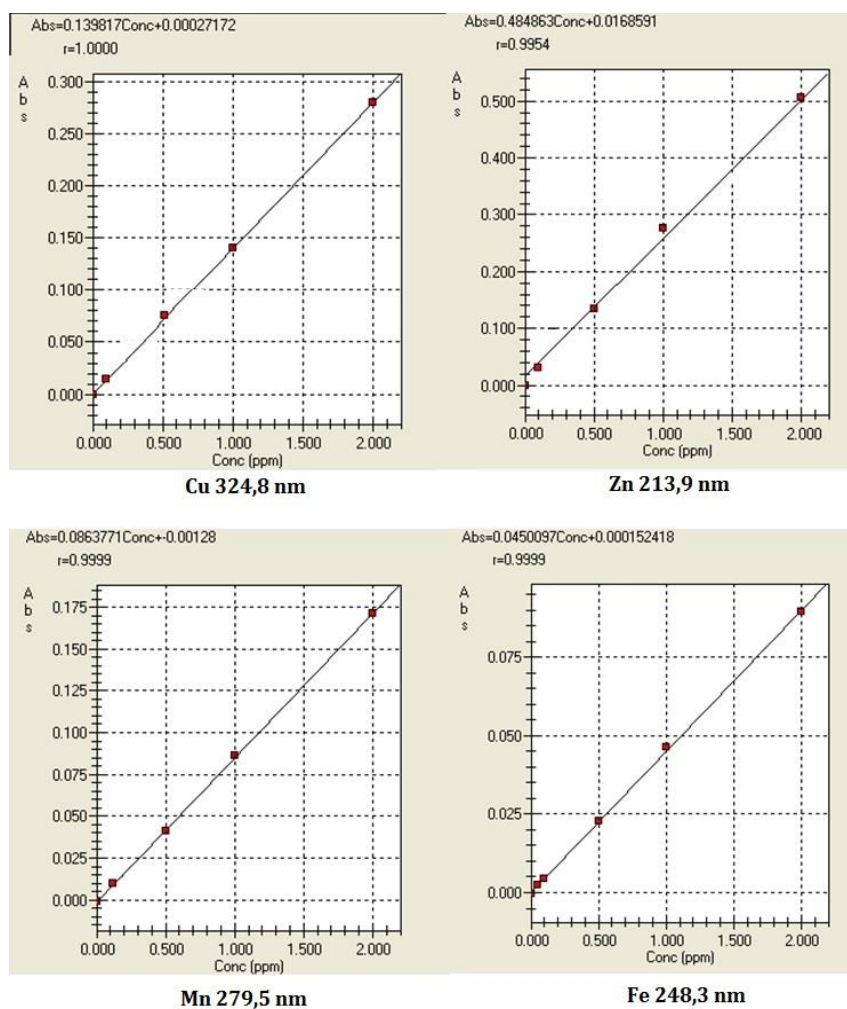
Tabela 2. Parametri za određivanje Cu, Zn, Mn i Fe na atomskom apsorpcionom spektrofotometru AA6800, Shimadzu, Japan

	Cu	Zn	Mn	Fe
Lamp Current Low	6 mA	8 mA	10 mA	12 mA
Wavelength	324.8 nm	213.9 nm	279.5 nm	248.3 nm
Slit Widht	0.5	0.5	0.2	0.2
Lamp Mode	BGC-D2	BGC-D2	BGC-D2	BGC-D2
Fuel Gas Flow Rate (L/min)	1.8	2.0	2.0	2.2
Flame Type	Air-C2H2	Air-C2H2	Air-C2H2	Air-C2H2

### Kalibracione krive

Za pravljenje kalibracionih krivih za bakar, cink, mangan i gvožđe korišćeni su rastvori koncentracija 0; 0,05; 0,1; 0,5; 1 i 2 mg/l dobijeni razblaživanjem standardnim rastvora ovih elemenata.

Dobijene kalibracione krive prikazane su na slici 8.



Slika 8. Kalibracione krive za Cu, Zn, Mn i Fe (FLAAS)

### Određivanje kalcijuma, magnezijuma, natrijuma, kalijuma i fosfora:

Sadržaj kalcijuma, magnezijuma, natrijuma, kalijuma i fosfora određen je indukovano spregnutom plazmom-optičkom emisionom spektrometrijom (ICP-OES) na instrumentu Thermo iCAP serije 6300.

*Parametri instrumenta:*

Parametri instrumenta prikazani su u Tabeli 3.

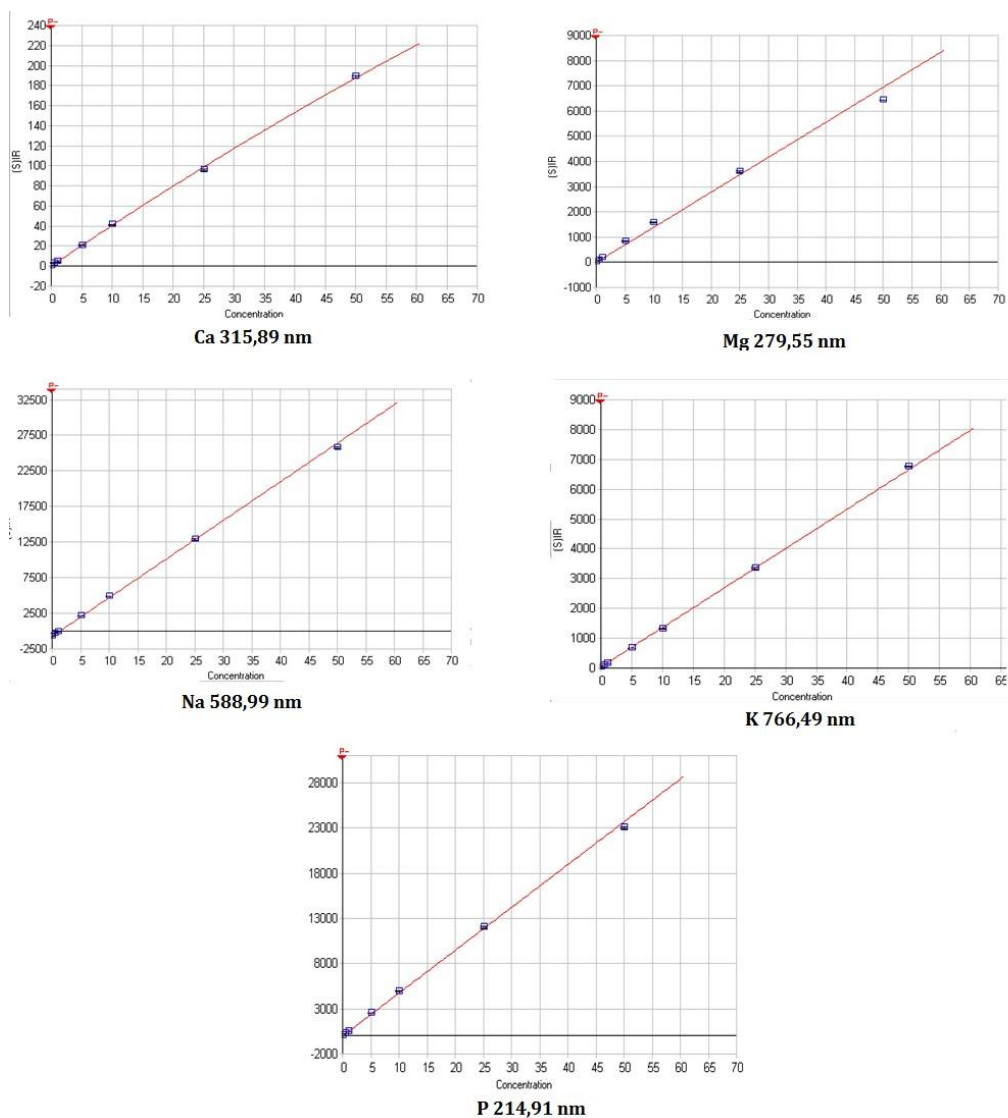
*Tabela 3. Parametri za određivanje Ca, Mg, Na, K i P na indukovano spregnutoj plazmi-optičkom emisionom spektrometru (ICP-OES) Thermo iCAP serije 6300.*

a) Analysis Preferences	
<i>Sample options</i>	<i>Source:</i>
Repeats: 3	Sample Intro: Nebulizer
Sample flush time: 30	Plasma View: Axial, Radial
<i>Analysis Maximum Integration Times (seconds):</i>	<i>Calibration Mode:</i>
Low WL Range: Axial 15    Radial 15	Mode:    Concentration
High WL Range: Axial 5    Radial 5	
<i>b) Source (Plasma) Settings</i>	
<i>Sample Pump</i>	
Flush Pump Rate: 50	
Analysis Pump Rate: 50	
Pump Stabilisation Time: 5 s	
Pump Tubing Type: Tygon Orange/White	
<i>Source Settings</i>	
RF Power: 1150 W	
Auxiliary Gas flow: 0,5 l/min	
Nebulizer Gas flow: 0,6 l/min	

*Kalibracione krive*

Za pravljenje kalibracionih krivih za kalcijum, magnezijum, natrijum, kalijum i fosfor korišćeni su rastvori sljedećih koncentracija: 0; 0,5; 1; 5; 10, 25 i 50 mg/l.

Dobijene kalibracione krive prikazane su na slici 9.



Slika 9. Kalibracione krive za Ca, Mg, Na, K i P

Pouzdanost metode (tačnost i preciznost određivanja) potvrđena je korišćenjem Certified Standard Reference Material NCS DC73348 (Bush Branches and Leaves) proizvedenog od strane The China National Analysis Center for Iron and Steel, Beijing. Odziv primjenjene metode određivanja kretao se u opsegu 95-102% u odnosu na sertifikovane vrijednosti.

### 3.12 Vitamini

#### 3.12.1. Vitamini B grupe

*Princip metode:* Određivanje sadržaja vitamina B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub> and B<sub>6</sub> HPLC tehnikom vrši se nakon kisele hidrolize uzorka u autoklavu.

*Reagensi i standardi:*

(a) 0,1 M HCl

(b) 5 M CH<sub>3</sub>COONa

(c) CH<sub>3</sub>OH (HPLC čistoće)

(d) 5 mM CH<sub>3</sub>COONH<sub>4</sub>

(e) 5 mM heksansulfonska kiselina

(f) alkalni rastvor kalijum-fericijanida: rastvori se 0,1 g kalijum-fericijanida u 10 ml vode. Od ovog rastvora u normalni sud od 25 ml prenese se 1 ml i dopuni 15% NaOH do oznake.

(g) standardni rastvori vitamina B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub> and B<sub>6</sub> proizvođača Sigma Co (St Louis, MO, USA).

*Priprema uzoraka:*

Količina od 5 g homogenizovanog uzorka prenijeta je u erlenmajer tikvicu od 100 ml, prelivena sa 50 ml 0,1 M HCl, a zatim smješa autoklavirana 30 minuta na 120 °C. Tako tretirani uzorak je zatim ohlađen, a pH vrijednost sadržaja podešavana je rastvorom CH<sub>3</sub>COONa na 4,5. Zatim su uzorci profiltrirani kroz membranski filter i analizirani na sadržaj vitamina B<sub>2</sub> i B<sub>6</sub>.

Za određivanje sadržaja vitamina B<sub>1</sub> izvršena je predkolonska oksidacija tiamina u tihrom pomoću oksidujućeg reagensa (alkalni rastvor kalijum-fericijanida) i filtracija kroz membranski filter.

*Uslovi određivanja:*

Uzorci su analizirani HPLC tehnikom sa fluorescentnim detektorom korišćenjem sljedeće opreme i uslova određivanja:

- kolona - LiChrospher 100 RP-18 (5 µm) LiChroCART 250-4;



- detektor-RF-535 Shimadzu Fluorescence HPLC monitor;
- mobilna faza za vitamin B<sub>1</sub> i B<sub>2</sub>: 450 ml CH<sub>3</sub>OH+620 ml 5 mM CH<sub>3</sub>COONH<sub>4</sub>;
- mobilna faza za vitamin B<sub>6</sub>: 250 ml CH<sub>3</sub>OH+770 ml 5 mM heksansulfonske kiseline;
- protok 0,8 ml min<sup>-1</sup>;
- injektirana zapremina 20 µl;
- temperature kolone 20° C;
- talasne dužine  
B<sub>1</sub>: λ<sub>ex</sub>=370 nm, λ<sub>em</sub>=430 nm;  
B<sub>2</sub>: λ<sub>ex</sub>=450 nm, λ<sub>em</sub>=530 nm;  
B<sub>6</sub>: λ<sub>ex</sub>=286 nm, λ<sub>em</sub>=392 nm.

#### *Kalibracione krive:*

Dijagrami zavisnosti površine pikova od koncentracije vitamina B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub> and B<sub>6</sub> određivani su za koncentracije: 0,10; 0,25; 0,50; 1,00; 1,50 i 2,00 µg/ml, nakon što su podvrgnuti cjelokupnom postupku kisele hidrolize.

Određivanje sadržaja vitamina B vršeno je metodom standardne krive. Za analizu su pripremani rastvori vitamina za ispitivanje limita detekcije i limita kvantifikacije (niz rastvora od 0,01 do 0,05 µg/ml), kao i rastvori za kalibracionu krivu (0,05, 0,10, 0,25, 0,50, 1,00 i 5,00 µg/ml). Vrijednost površine pika za svaku koncentraciju predstavljala je srednju vrijednost četiri uzastopna mjerenja. Preciznost HPLC metode za određivanje vitamina B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub> i B<sub>6</sub> ispitana je za koncentraciju 0,5 µg/ml, nakon šest injektiranja. Za određivanje prinosa obje metode izvedeno je deset nezavisnih analiza rastvora standarda vitamina B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub> i B<sub>6</sub> za koncentraciju 0,5 µg/ml.

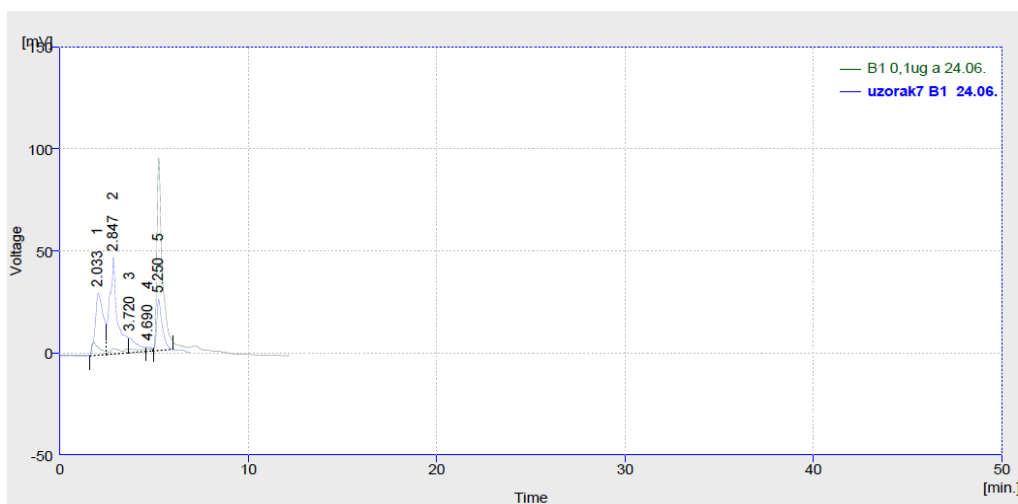
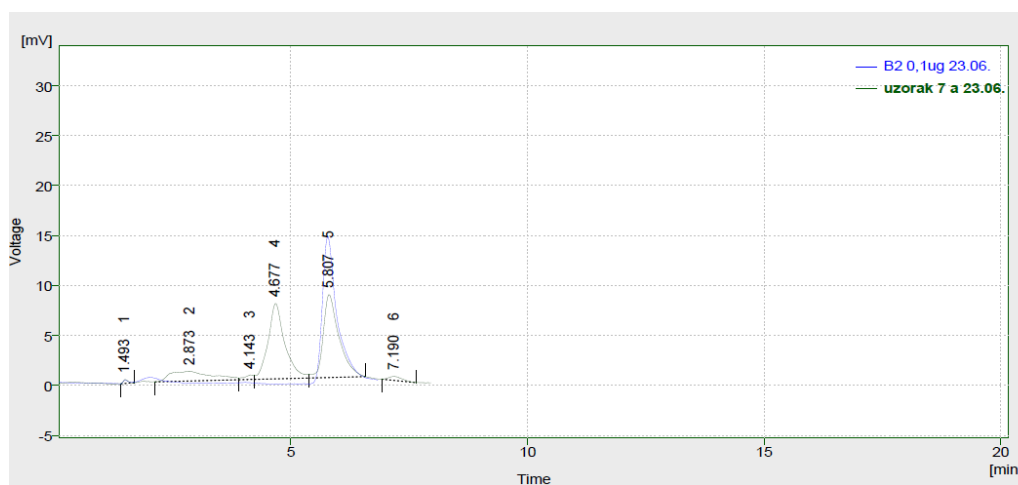
Granica detekcije (LOD) i granice kvantifikacije (LOQ) primjenjene analitičke metode za adsorpcije vitamina B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub> i B<sub>6</sub> iznosile su 0,03 µg/ml, odnosno 0,05 µg/ml. Linearnost odnosa koncentracija i površina odgovarajućih pikova određena je analizom šest standardnih rastvora vitamina B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub> i B<sub>6</sub> koncentracija od 0,05 µg/ml do 5,0 µg/ml. Karakteristike kalibracionih krivih za vitamine B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub> i B<sub>6</sub> prikazane su u Tabeli 4.

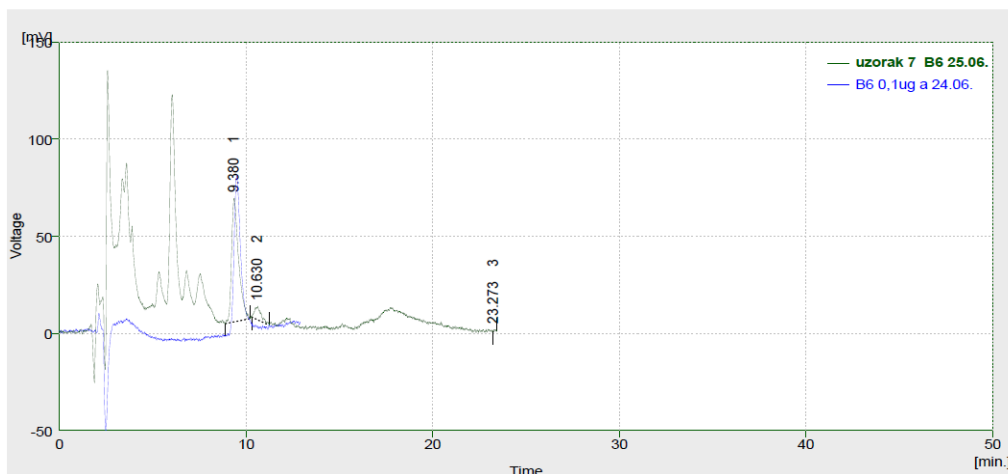
Prinos je ispitan primjenom metode na standardni rastvor koncentracije 0,5 µg/ml pri čemu su dobijene vrijednosti od: 99,1%, 99,2% i 99,5% za vitamine B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub> i B<sub>6</sub>, redom.

Tabela 4. Karakteristike kalibracionih krivih vitamina B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub> i B<sub>6</sub>

Vitamin	$y = a + bx$	R
B1	$y = 1035 + 408526x$	0,99992
B2	$y = 1023 + 129525x$	0,99994
B6	$y = -369 + 359105x$	0,99989

Na slikama 10-12 prikazani su dobijeni HPLC hromatogrami.

Slika 10. Vitamin B<sub>1</sub> – HPLC hromatogramSlika 11. Vitamin B<sub>2</sub> – HPLC hromatogram



Slika 12. Vitamin B<sub>6</sub> – HPLC hromatogram

### 3.12.2 Vitamin C

Vitamin C je analiziran volumetrijski sa 2,6-dihloroindofenolom, nakon ekstrakcije uzoraka destilovanom vodom u skladu sa metodom AOAC 967.21 [24].

*Princip metode:* Vitamin C redukuje oksido-redukcionu indikatorsku boju 2,6-dihloroindofenol do bezbojnog rastvora.

#### *Aparatura i pribor*

- (a) čaše, zapremine 100 ml i 250 ml;
- (b) odmjerni cilindri, zapremine 100 ml i 200 ml;
- (c) trbušaste pipete, zapremine 1, 2, 5, 10, 20 i 25 ml;
- (d) graduisane pipete, zapremine 2,5 ml i 10 ml;
- (e) odmjerne tikvice, zapremine 100, 200 i 250 ml;
- (f) bireta, zapremine 50 ml;
- (g) erlenmajer tikvice, zapremine 50 ml, 200 ml i 250 ml.

#### *Reagensi*

(a) Ekstrakcioni rastvor - metafosforna kiselina–sirćetna kiselina (HPO<sub>3</sub>–HOAc): odmjereno je 15 g svježe pulverizovanog HPO<sub>3</sub> i rastvoreno, uz miješanje, u 40 ml HOAc i 200 ml H<sub>2</sub>O; razrijeđeno je vodom na 500 ml i brzo filtrirano kroz naborani filtrir-papir u staklenu bocu (reagens 1).

(b) metafosforna kiselina–sirćetna kiselina–sumporna kiselina (HPO<sub>3</sub>-HOAc-H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>): postupak pripremanja je isti kao i za reagens 1, samo je umjesto vode upotrijebljen rastvor 0,3 N sumporne kiseline

(c) standardni rastvor askorbinske kiseline 1 mg/ml: neposredno prije upotrebe odmjereno je tačno 50 mg askorbinske kiseline (koja je čuvana u eksikatoru zaštićenom od dnevnog svjetla) i prelijeto u odmjernu tikvicu zapremine 50 ml, a zatim dopunjeno do oznake reagensom 1 (HPO<sub>3</sub>-HOAc);

(d) standardni rastvor indofenola: rastvoreno je 50 mg 2,6-dihlorindofenol Na-soli (koja se čuva u eksikatoru iznad natrijum-karbonata) u 50 ml H<sub>2</sub>O, u koju je dodato 42 mg NaHCO<sub>3</sub>. Snažno je promućkano i, kad je boja rastvorena, razblaženo je vodom do 200 ml. Rastvor je filtriran kroz naborani filtrir-papir u tamnu staklenu bocu.

(e) pH indikator timol-plavo 0,04%: rastvoren je 0,1 g indikatora timol-plavog, trenjem u homogenizatoru, sa 10,75 ml rastvora natrijum-hidroksida c (NaOH) = 0,02 mol/l. Dobijeni rastvor je razblažen vodom do 250 ml. Granica prelaza kod pH 1,2 je crvena, a kod pH 2,8 – žuta.

#### *Određivanje titracijom*

Tri uzorka vodenog ekstrakta ispitivanih uzoraka, od kojih je svaki sadržavao približno 2 mg askorbinske kiseline, i slijepa proba titrovani su u erlenmajer-tikvicama zapremine 50 ml, u kojima se nalazilo po 5 ml HPO<sub>3</sub>-HOAc (reagens 1) brzom titracijom rastvorom indofenola (iz birete od 50 ml), dok jasno vidljiva ružičasta boja nije bila postojana 5 sekundi.

#### *Izračunavanje*

Količina vitamina C u 1 g uzorka izračunata je po formuli:

$$\text{Vitamin C} = (X-B) \times (F/E) \times (V/Y)$$

gdje je:

X - prosječni mililitri za titraciju;

B - prosječni mililitri za titraciju slijepa probe;

F - mg askorbinske kiseline ekvivalentni 1,0 ml standardnog rastvora dihlorfenolindofenola;

E - količina uzorka uzetog u postupak, u g ili ml;

V - zapremina početnog analiziranog rastvora;

Y - zapremina alikvotnog dijela titriranog uzorka.

### **3.13 Ukupna, rastvorna i nerastvorna dijetna vlakna, hemiceluloza, celuloza, lignin i fruktan**

#### *3.13.1 Određivanje sadržaja ukupnih, rastvornih i nerastvornih dijetnih vlakana*

Za određivanje ukupnih dijetnih vlakana korišćena je enzimsko-gravimetrijska metoda AOAC 991.43 [24, 28]. Korišćen je komercijalni kit, proizvođača kitova Megazyme, Bray, Ireland (K-TDFR 01/12).

#### *Princip metode:*

Usitnjeni uzorak tretiran je termostabilnim enzimima  $\alpha$ -amilazom, amiloglukozidazom i proteazom, pri definisanoj pH vrijednosti i temperaturi. Termostabilna  $\alpha$ -amilaza prevodi skrob u tečno stanje i optimizuje uslove za katalitičku hidrolizu u sljedećoj fazi pomoću enzima amiloglukozidaze. Završni tretman je djelovanje proteolitičkog enzima koji hidrolizuje proteine u rastvorljive aminokiseline i kratkolančane peptide.

Nakon enzimskog tretmana vrši se korekcija eventualno zaostalih mineralnih i azotnih materija. Za određivanje ukupnih dijetnih vlakana (TDF) rastvor nakon enzimske digestije se tretira alkoholom kako bi se istaložila rastvorna dijetna vlakna prije filtriranja, a TDF ostatak se ispira alkoholom i acetonom, suši i vaga. Za određivanje nerastvornih (IDF) i rastvornih (SDF) dijetnih vlakana rastvor nakon enzimske digestije se filtrira. Za određivanje SDF filtrati i ispirci se spajaju i talože alkoholom, zatim filtriraju, suše i vagaju. IDF se računa iz razlike TDF i SDF.

#### *Aparati i oprema:*

(1) Čaše od 400 ml, niska forma.

(2) Guč za filtriranje sa sinterovanim diskom, veličine pora 40-60  $\mu\text{m}$  pripremljen za analizu na sljedeći način: Guč se preko noći spaljuje u peći na 525  $^{\circ}\text{C}$ . Temperatura peći se smanji na 130  $^{\circ}\text{C}$  prije nego što se guč izvadi iz nje. Guč se potopi 1 sat u 2% rastvor za čišćenje na sobnoj temperaturi, ispere vodom, dejonizovanom vodom i na kraju sa 15 ml acetona, a zatim osuši na vazduhu. Onda se doda približno 1 g celita i suši na 130  $^{\circ}\text{C}$  do konstantne mase. Guč se ohladi 1 sat u eksikatoru i izvaga sa tačnošću od 0,1 mg zajedno sa celitom.

(3) Vakuum sistem – vakuum pumpa sa mogućnošću regulacije

(4) Vodeno kupatilo sa šejkerom sa mogućnošću održavanja temperature (98 $\pm$ 2)  $^{\circ}\text{C}$  opremljeno „on-and-off“ tajmerom, sa konstantnom temperaturom podešenom na 60  $^{\circ}\text{C}$  (Selecta, Španija)

(5) Analitička vaga osjetljivosti  $\pm$ 0,1 mg (BP 211 D, Sartorius)

(6) Peć za žarenje podešena na (525 $\pm$ 5)  $^{\circ}\text{C}$  (L40/11/B170, Nabertherm)

(7) Sušnica podešena na (103 $\pm$ 3)  $^{\circ}\text{C}$  (Thermo Heraeus 6000 Vacutherm)

(8) Eksikator

(9) pH metar sa temperaturnom kompenzacijom, kalibrisan sa pH 4,0, 7,0 i 10,0 standardnim rastvorima (pH/Ion Meter Ion510, Eutech, Holandija)

(10) Pipetori kapaciteta 100-300  $\mu\text{l}$  i 5 ml (Eppendorf)

(11) Dispenser sa mogućnošću odmjeravanja (15,0 $\pm$ 0,5) ml 78% etanola, 95% etanola i acetona, kao i (40,0 $\pm$ 0,5) ml pufera.

(12) Magnetna mješalica

#### *Reagensi:*

Za sve rastvore koristila se dejonizovana voda.

(a) Etanol, 85% - Odmjereno je 895 ml 95% etanola u normalni sud od 1 l i razblaženo vodom do oznake

(b) Etanol, 78% - Odmjereno je 821 ml 95% etanola u normalni sud od 1 l i razblaženo vodom do oznake

(c) Termostabilna  $\alpha$ -amilaza

(d) Proteaza – pripremljen je rastvor enzima koncentracije 50 mg/ml u MER/TRIS puferu

(e) Amiloglukozidaza

(f) Dijatomejska zemlja – Kiselo isprani Celite 545

(g) Rastvor za čišćenje – tečni surfaktant tip, 2% rastvor u vodi

(h) MES – 2-(N-Morfolino)etansulfonska kiselina

(i) TRIS – Tris(hidroksimetil)aminometan

(j) MES-TRIS puferi rastvor – 0,05 M MES, 0,05 M TRIS, pH 8,2 na 24 °C .

Rastvoreno je 19,52 g MES i 12,2 g TRIS u 1,7 l vode. Pomoću 6 N NaOH podešena je pH 8,2 i rastvor razblažen vodom do 2 l.

(k) Hlorovodonična kiselina, 0,561 N: Dodato je 93,5 ml 6 N HCl u približno 700 ml vode u normalnom sudu od 1 l i dopunjeno vodom do crte.

*Postupak:*

Odmjereno je  $(1,000 \pm 0,005)$  g usitnjenog uzorka u duplikatu u čaše od 400 ml. Uzorak je suspendovan dodatkom 40 ml MES-TRIS pufera pH 8,2 u obje čaše i sadržaj miješan na magnetnoj mješalici do potpune disperzije. Zatim je dodato 50  $\mu$ l rastvora  $\alpha$ -amilaze, čaše su pokrivenne aluminijumskom folijom i rastvori inkubirani 30 minuta na 100 °C, tako što je ključanje postignuto za oko 15 minuta. Nakon inkubacije čaše su skinute sa vodenog kupatila, a zidovi čaša isprani sa 10 ml destilovane vode. Dodato je 100  $\mu$ l proteaze, čaše su pokrivenne aluminijumskom folijom i smješe inkubirane 30 minuta na 60 °C. Poslije inkubacije i hlađenja do sobne temperature podešen je pH na  $4,5 \pm 0,2$  pomoću 0,561 M HCl, dodato je 300  $\mu$ L amiloglukozidaze i inkubirano 30 minuta na 60 °C.

Određivanje TDF: Poslije inkubacije u rastvore dobijene nakon enzimske digestije dodato je 225 ml 95% etanola zagrijanog na 60 °C i ostavljeno 60 minuta.

Sadržaj iz čaša profiltriran je kroz odmjereni i temperirani guč (G-2) uz pomoć vakuuma. Ostaci na gučevima su isprani tri puta sa 15 ml 78% etanola, 95% etanola i acetona. Gučevi sa sadržajem ostavljeni su preko noći na 105 °C. Poslije mjerenja (M) sadržaj iz jednog guča iskorišćen je za određivanje rezidua proteina (M1), a iz drugog za određivanje rezidue pepela (M2).

Rezidue proteina određene su metodom po Kjeldahl-u, a pepeo žarenjem 5 sati na 525 °C.

*Izračunavanje:*

$$\text{Sadržaj TDF} = M - M1 - M2$$

gdje je:

*M* - masa guča sa suvim ostatkom poslije sušenja preko noći na 105 °C

*M1* - sadržaj rezidua proteina

*M2* - sadržaj rezidua pepela

Određivanje SDF: Rastvori dobijeni nakon enzimske digestije profiltrirani su kroz gučeve u posude za filtriranje i čaše u kojima je vršena digestija su isprane. Ostatak na gučevima ispran je dva puta sa po 10 ml vode temperature 70 °C. Tečnosti od ispiranja prebačene su u čaše od 600 ml. Njihov sadržaj je dopunjen vodom do 80 ml i dodato 320 ml 95% etanola prethodno zagrijanog na 60 °C. Rastvori su ostavljeni 1 sat da se istalože.

Sadržaj iz čaša profiltriran je kroz odmjereni i temperirani guč (G-2) uz pomoć vakuuma. Ostaci na gučevima su isprani tri puta sa 15 ml 78% etanola, 95% etanola i acetona. Gučevi sa sadržajem ostavljeni su preko noći na 105 °C. Poslije mjerenja (*M*) sadržaj iz jednog guča iskorišćen je za određivanje rezidua proteina (*M1*), a iz drugog za određivanje rezidue pepela (*M2*).

Rezidue proteina određene su metodom po Kjeldahl-u, a pepeo žarenjem 5 sati na 525 °C.

*Izračunavanje:*

$$\text{Sadržaj SDF} = M - M1 - M2$$

gdje je:

*M* - masa guča sa suvim ostatkom poslije sušenja preko noći na 105 °C

*M1* - sadržaj rezidua proteina

*M2* - sadržaj rezidua pepela

Određivanje IDF: Sadržaj IDF je izračunat iz razlike TDF i SDF.



### 3.13.2 Odeđivanje hemiceluloze, celuloze i lignina

Određivanje neutralnih deterđžentnih vlakana (NDF), kiselih deterđžentnih vlakana (ADF) kiselog deterđžentnog lignina (ADL) izvršeno je u cilju dobijanja sadržaja hemiceluloze, celuloze i lignina [24, 29, 30].

#### 3.13.2.1 Određivanje neutralnih deterđžentnih vlakana (NDF)

##### *Princip metode*

Rastvor neutralnog deterđženta se koristi za rastvaranje lako razgradljivih pektina i sastojaka biljnih ćelija (proteini, šećeri i masti), a zaostajući vlaknasti ostatak (NDF) sastoji se prvenstveno od komponenti ćelijskog zida biljaka (celuloza, hemiceluloza i lignin). Deterđžent se koristi za rastvaranje proteina i natrijum-sulfita, a takođe pomaže za otklanjanje određenih azotnih materija. EDTA se koristi za kompleksiranje kalcijuma i uklanjanje pektina na temperaturi ključanja. Trietilen glikol pomaže uklanjanje nekih nevlaknastih materija. Temperaturno stabilna amilaza se koristi za uklanjanje skroba. Dodavanje amilaze u dva navrata (jednom tokom refluksa i drugi put u toku filtriranja) vrši se u cilju lakše analize NDF i smanjivanja teškoća pri filtriranju. Temperaturno stabilna amilaza se koristi u vrelinim rastvorima da inaktivira potencijalno kontaminirajuće enzime koji mogu degradirati vlaknaste sastojke.

##### *Aparatura i pribor*

- (1) Aparatura za povratno hlađenje (refluks) sa vezama za kondenzator od neoprenskih čepova ili stakla
- (2) Posudice za odvagu
- (3) Analitička vaga tačnosti 0,1 mg
- (4) Posudice od sinterovanog stakla (Gooch), visoke forme, grubo porozne, površine prečnika 40 mm, dovoljno velike da prime 40-50 ml tečnosti
- (5) Usisni razvodnik kapaciteta dvije posudice, sa redno postavljenim sifonom i ventilom za ispuštanje vakuuma
- (6) Sušnica podešena na 105 °C

### *Reagensi*

(1) NDF rastvor – Koristeći normalni sud od 2 l sipano je 10 l destilovane vode u stakleni sud od 20 l. Zatim su dodati sljedeći sastojci:

- 339,98 g dinatrijum-dihidrogen-etilen-diamin-tetraacetata (EDTA)
- 82,08 g dinatrijum-hidrogen-fosfata
- 540 g lauril sulfata, USP čistoće
- 122,58 g natrijum-borata-dekahidrata
- 180 ml etulen-glikol-monoetil-etra (prečišćenog kvaliteta)

Rastvor je postavljen na magnetnu mješalicu. Miješajući je dodato preostalih 8 l destilovane vode. Rastvor je ostavljen da se miješa preko noći.

pH rastvora nakon dobrog miješanja podešen je na 7,0.

(2) Aceton

(3) Rastvor amilaze – 1 ml termostabilne amilaze i 40 ml destilovane vode

### *Postupak*

Obrada uzorka: Uzorak je osušen u sušnici na 55 °C do sadržaja suve materije >85% i samljeven na veličinu čestica 1 mm.

Staklena posuda od 50 ml osušena je preko noći na 105 °C i vruća izvagana, zapisujući njenu masu sa tačnošću 0,1 mg.

Uzorak je temeljno izmiješan.

Digestija: Približno 45 ml NDF rastvora dodato je u digestionu biretu analizatora vlakana. Rastvor se lagano zagrijava dok se uzorak vaga. Uzorak je dobro promiješan i odvagano je 0,5 g u plastičnu posudu. U svaku posudu sa uzorkom dodato je 0,5 g natrijum-sulfita.

Dok rastvor NDF lagano ključa uzorak je prebačen iz posude u biretu, ispirajući posudu NDF rastvorom. Nakon ispiranja, ukupna zapremina rastvora u digestionoj bireti bila je približno 50 ml. Kada je rastvor ponovo proključao (zapisano je vrijeme jer je za refluks potrebno 60 minuta), dodato je 2 ml rastvora amilaze i strane birete su isprane sa NDF rastvorom. Smješa je refluktovana 60 minuta.

**Filtracija:** Staklene posudice sa filterom su izvagane prije filtracije. Posudice su stavljene u vakuum jedinice ispod svake birete. Uključen je vakuum i konstantan dotok tople vode. Vakuum ispod posudica otvoren je u isto vrijeme. Otvorena je slavina na bireti da sadržaj istekne kroz posudicu i prekinuto je zagrijavanje birete. Bireta je isprana vrelom vodom. Nakon što su sva vlakna isprana iz birete ostavljeno je približno 40-45 ml vode u njoj za kasnije ispiranje.

**Ispiranje:** Kada su svi uzorci uklonjeni iz bireta i filtrirani isključen je vakuum. Otvorena je stop slavina na bireti i uklonjena vruća voda. Sačekalo se 1 minut da uzorak upije vodu, pa se voda uklonila vakuomom. Kada je voda filtrirana, isključen je vakuum i dodato 30 ml acetona u uzorke. Stranice posudice su ispirane dok se aceton dodavao.

Aceton je usisan, donje strane posudica i vlakna su isprani sa zadnjom porcijom acetona za ispiranje. Uzorci u posudicama su stavljani u sušnicu na 105 °C preko noći. Narednog dana uzorci u posudicama su izvagani.

### *Izračunavanje*

Sadržaj NDF izračunat je po formuli:

$$NDF(\%) = \frac{m_1 - m_2}{g} \times 100$$

gdje je:

$m_1$  – masa posudice sa uzorkom

$m_2$  – masa prazne posudice

$g$  – odvaga uzorka

### *3.13.2.2 Određivanje kiselih deterdžentnih vlakana (ADF)*

#### *Princip metode*

Kiseli kvaternerni rastvor deterdženta se koristi za rastvaranje rastvornih dijelova ćelije, hemiceluloze i rastvornih minerala, pri čemu zaostaju ostaci celuloze, lignina i toplotom oštećenih proteina kao i dijelovi proteina i minerala iz ćelijskog zida (pepeo). ADF se određuje gravimetrijski kao ostatak preostao nakon ekstrakcije.

*Aparatura i pribor*

(1) Aparatura za povratno hlađenje (refluks) sa vezama za kondenzator od neoprenskih čepova ili stakla

(2) Posudice za odvagu

(3) Analitička vaga tačnosti 0,1 mg

(4) Posudice od sinterovanog stakla (Gooch), visoke forme, grubo porozne, površine prečnika 40 mm, dovoljno velike da prime 40-50 ml tečnosti

(5) Usisni razvodnik kapaciteta dvije posudice, sa redno postavljenim sifonom i ventilom za ispuštanje vakuuma

(6) Sušnica podešena na 105 °C

*Reagensi*

(1) ADF rastvor:

- 10 l destilovane vode
- 360 g heksadeciltrimetilamonium bromida
- 500 ml sumporne kiseline
- dopunjeno do 18 l sa 6 l destilovane vode

Standardizacija ADF rastvora:

- odmjereno je 10 ml ADF rastvora u čašu od 150 ml
- dodato je 5 kapi fenolftaleina (1 g fenolftaleina u 100 ml 95% etanola) u ovaj rastvor
- titrovano sa 1 N NaOH do pojave blijedo-ružičaste boje
- ADF rasvor podešen je tako da utrošak NaOH bude 10,0 ml.

(2) Aceton (bezbojan i bez ostatka isparenja)

*Postupak:*

Obrada uzorka: Uzorak je osušen u sušnici na 55 °C do sadržaja suve materije >85% i samljeve na veličinu čestica 1 mm.

Staklena posuda od 50 ml osušena je preko noći na 105 °C i vruća izvagana, a masa zapisana sa tačnošću 0,1 mg.

Uzorak je temeljno izmiješan i odvagano je približno 1 g u odgovarajuću posudu.

Digestija: Približno 95 ml ADF rastvora dodato je u digestionu biretu analizatora vlakana. Rastvor se zagrijavao dok se uzorak vagao.

Dok je rastvor lagano ključao (potrebno je oko 15 minuta do ključanja), uzorak je prebačen iz posude u biretu, ispirajući posudu ADF rastvorom. Nakon ispiranja, ukupna zapremina rastvora u digestionoj bireti bila je približno 100 ml.

Kada je rastvor ponovo proključao zapisano je vrijeme i strane birete su isprane sa ADF rastvorom. Refluks je trajao 60 minuta.

Filtracija: Vruće stakene posudice sa filterom izvagane su prije filtracije. Zatim su stavljene u vakuum jedinicu ispod svake birete. Uključen je vakuum i konstantan dotok tople vode (ne više od 95 °C). Vakuum je otvoren ispod posudica u isto vrijeme. Zatim je otvorena slavina na bireti da bi sadržaj istekao kroz posudicu i zagrijavanje birete je prekinuto. Bireta je isprana vrelom vodom. Nakon što su sva vlakna isprana iz birete ostavljeno je približno 40-45 ml vode u njoj za kasnije ispiranje.

Ispiranje: Kada su uzorci uklonjeni iz bireta i filtrirani isključen je vakuum. Otvorena je stop slavina na bireti i uklonjena vruća voda. Nakon 1 minuta, kada je uzorak upio vodu, ostatak vode je uklonjen vakuumom. Kada je voda filtrirana, isključen je vakuum i dodato je 30 ml acetona u uzorke. Stranice posudice su ispirane dok se aceton dodavao. Nakon 1 minuta, kada je uzorak upio tečnost, aceton je usisan, posudice su isprane sa donje strane, a vlakna sa acetonom zadnjom porcijom za ispiranje.

Uzorci u posudicama ostavljeni su u sušnicu na 105 °C preko noći.

Narednog dana vrući uzorci u posudicama su izvagani i sačuvani za određivanje ADL.

### *Izračunavanje*

Sadržaj ADF izračunat je po formuli:

$$ADF(\%) = \frac{m_1 - m_2}{g} \times 100$$

gdje je:

$m_1$  – masa posudice sa uzorkom

$m_2$  – masa prazne posudice

$g$  – odvaga uzorka

### 3.13.2.3 Određivanje kiselog deterdžentnog lignina (ADL)

#### *Princip metode*

Kiseli kvaternerni rastvor deterdženta se koristi za rastvaranje rastvornih djelova ćelije, hemiceluloze i rastvornih minerala, pri čemu zaostaju ostaci celuloze, lignina i toplotom oštećenih proteina kao i djelovi proteina i minerala iz ćelijskog zida (pepeo). ADL se određuje gravimetrijski kao ostatak spaljivanja nakon tretmana sa 72% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.

#### *Aparatura i pribor*

- (1) Posudice sa uzorcima nakon određivanja ADF
- (2) Čaše od 50 ml
- (3) Eksikator
- (4) Peć za žarenje podešena na 500 °C

#### *Reagensi:*

(1) 72% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> – 63,9 ml koncentrovane H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, specifične težine 1,84 dodato je u 36,1 ml destilovane vode.

#### *Postupak:*

Izolovanje kiselo nerastvorog lignina: Posudica sa uzorkom nakon određivanja ADF stavljena je u čašu od 50 ml. Sadržaj posudice prekriven je slojem hladne 72% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (15 °C) i miješan staklenim štapićem dok se nije dobila glatka masa i razbile sve grudvice.

Zatim je posudica dopunjena kiselinom do pola i sadržaj miješan. Stakleni štapić je ostavljen u posudici napunjenoj kiselinom i miješano je svakih sat vremena. Posudica je držana na sobnoj temperaturi.

Nakon tri sata odstranjeno je što više kiseline vakuumom i sadržaj ispran vrućom vodom sve dok je bilo ostataka kiseline. Stakleni štapić je ispran i odstranjen.

Posudice su sušene na 105 °C 8 sati i ohlađene u eksikatoru 1 sat, a zatim izvagane sa tačnošću 0,1 mg.

Nakon toga posudice su spaljivane u peći na 500 °C dva sata. Vruće su stavljane u eksikator, ohlađene i izvagane sa tačnošću 0,1 mg.

*Izračunavanje*

Sadržaj ADL izračunat je po formuli:

$$ADL(\%) = \frac{m_1 - m_2}{g} \times 100$$

gdje je:

$m_1$  – masa posudice nakon tretmana kiselinom

$m_2$  – masa posudice nakon spaljivanja

$g$  – odvaga uzorka

*3.12.2.4 Izračunavanje sadržaja hemiceluloze, lignina i celuloze*

Sadržaj hemiceluloze, lignina i celuloze izračunat je po formuli:

**Hemiceluloza** = NDF (neutralna deterdžentna vlakna) – ADF (kisela deterdžentna vlakna)

**Lignin** = ADL (kiselu deterdžentni lignin)

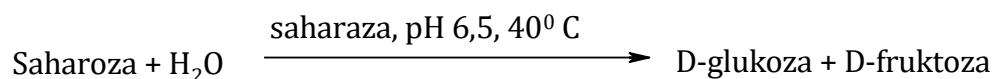
**Celuloza** = NDF – hemiceluloza – lignin

*3.13.3 Određivanje fruktana*

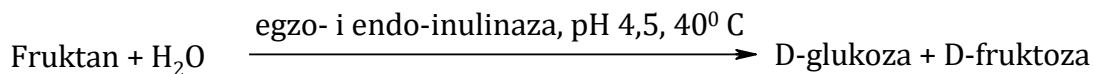
Fruktan je određivan enzimskom metodom AOAC 999.03, AACC 32.32 [31]. Korišćen je komercijalni kit K- FRUCHK (Megazyme, Bray, Ireland).

*Princip metode:* Saharoza i maltosaharidi sa niskim stepenom polimerizacije hidrolizuju se do fruktoze i glukoze u prisustvu enzima saharozo/maltaze. Nakon podešavanja pH analiza se odvija u dva pravca i to:

1. do glukoze i fruktoze uz pomoć enzima saharaze koja je neaktivna u slučaju nižih nivoa polimerizacije frukto-oligosaharida (1-kestoza, 1,1-kestotetraoza) (A)



2. nakon tretiranja sa fruktanazom (egzo- i endo-inulinazom) do glukoze i fruktoze (B).



Koncentracija glukoze i fruktoze određuje se pomoću heksokinazo/fosfo-glukozo-izomerazo/glukozo-6-fosfato-ehidrogenazo sistema.

Sadržaj fruktana se dobija kao razlika između B i A.

#### *Reagensi:*

(1) Bočica 1: Imidazolni pufer (25 ml, 2 M, pH 7,6), magnezijum-hlorid (100 mM) i natrijum-azid (0,02 % w/v) kao konzervans. Stabilan je > 2 godine na 4 °C .

(2) Bočica 2: NADP<sup>+</sup> (150 mg) i ATP (440 mg). Stabilan je > 5 godine na -20 °C .

(3) Bočica 3: Saharozo (100 U)/maltaza (1.000 U), liofilizovani prah i BSA. Stabilan je >5 godine na -20 °C .

(4) Bočica 4: Fruktanaza (visoko prečišćena ekso-inulinaza (5.000 U) i endo-inulinanaza (100 U), liofilizovani prah. Stabilan je > 5 godine na -20 °C .

(5) Bočica 5: Heksokinaza (425 U/ml), glukozo-6-fosfato-dehidrogenaza (212 U/ml) i PGI (840 U/ml) suspenzija, 2,25 ml. Stabilna je > 2 godine na 4 °C .

(6) Bočica 6: D-Fruktoza standardni rastvor (0,5 mg/ml) u 0,2 % (w/v) benzoeve kiseline. Stabilan je > 2 godine na sobnoj temperaturi. (7) Bočica 7: Fruktan kontrolni uzorak. Stabilan je > 5 godina na sobnoj temperaturi.

#### *Priprema reagenasa:*

(1) Sadržaj iz bočice 1 korišćen je nerazrijeđen. Stabilan je > 2 godine na 4 °C .

(2) Sadržaj iz bočice 2 rastvoren je u 12 ml destilovane vode i podijeljen u nekoliko bočica. Stabilan je > 2 godine na -20 °C .

(3) Sadržaj iz bočice 3 rastvoren je u 11 ml pufera (100 mM natrijum-maleata, pH 6,5) i podijeljen u nekoliko bočica. Stabilan je > 2 godine na -20 °C .

(4) Sadržaj iz bočice 4 rastvoren je u 11 ml pufera (100 mM natrijum-acetata, pH 4,5) i podijeljen u nekoliko bočica. Stabilan je > 2 godine na -20 °C .

(5) Sadržaj iz bočice 5 korišćen je nerazrijeđen. Stabilan je > 2 godine na 4 °C .



(6) Sadržaj iz bočice 6 korišćen je nerazrijeđen. Stabilan je > 2 godine na sobnoj temperaturi.

(7) Kontrolni uzorak. Stabilan je > 4 godine na sobnoj temperaturi.

(8) Natrijum-maleinski pufer (100 mM, pH 6,5): Rastvoreno je 11,6 g maleinske kiseline (Sigma Aldrich, Cat. No. M-0375) u 900 ml destilovane vode. Podešen je pH 6,5 sa 2M NaOH. Normalnim sud od 1 l je dopunjen destilovanom vodom i pufer čuvan na 4 °C .

(9) Natrijum-acetatni pufer (100 mM, pH 4,5): 5,8 ml glacijalne sirćetne kiseline dodato je u 900 ml destilovane vode. Podešen je pH 4,5 sa 1 M NaOH. Normalnim sud od 1 l je dopunjen destilovanom vodom i pufer čuvan na 4 °C .

#### *Postupak:*

U 1 g sitno sprasšenog (<0,5 mm) uzorka dodato je 40 ml tople destilovane vode (~80 °C ) u normalnom sudu od 50 ml. Dobijena smješa je inkubirana u šejkeru 15 minuta na ~80 °C , ostavljena da se ohladi na sobnu temperaturu i dopunjena destilovanom vodom. Sadržaj normalnog suda je zatim profiltriran.

Pipetom je odmjereno 0,2 ml filtrata u plastičnu kivetu (16x100 mm) i dodato je 0,2 ml rastvora 3 (Saharozo/maltaza). Sadržaj je inkubiran 30 minuta na 40 °C . Zatim je dodato 0,5 ml natrijum-acetatnog pufera (100 mM, pH 4,5). Sadržaj je miješan na vorteksu i postupak nastavljen u plastičnim kivetama prema šemi pipetiranja (Tabela 5).

#### *Izračunavanje:*

$$\begin{aligned} \text{Fruktan (\% w/w)} &= \Delta A_{\text{fruktan}} \cdot F \cdot 5 \cdot 0,9/0,2 \cdot V \cdot 100/W \cdot 1/1000 \cdot 162/180 = \\ &= \Delta A_{\text{fruktan}} \cdot F/W \cdot V \cdot 2,025 \end{aligned}$$

gdje je:

$$\Delta A_{\text{fruktan}} = [\Delta (A2 - A1)_{\text{uzorak}}] - [(\Delta(A2 - A1)_{\text{slijepa proba}})]$$

F - faktor konverzije = (50 µg fruktoze)/(apsorbanca od µg fruktoze)

5 - dobija se kada se 1 podijeli sa 0,2 ml uzorka

0,9/0,2 - 0,2 ml uzeto za enzimsku digestiju iz 0,9 ml

V - zapremina normalnog suda u kome se vrši ekstrakcija uzorka

W - masa uzorka koji se ekstrahuje

100/W - faktor koji prevodi fruktan u procenete mase

1/1000 - faktor koji prevodi  $\mu\text{g}$  u mg

162/180 - faktor konverzije slobodne glukoze i fruktoze u anhidrovanu glukozu odnosno fruktozu, koji se javlja u fruktanu.

Tabela 5. Šema pipetiranja

Pipetirano u kivetu	Slijepa proba (ml)	Uzorak (ml)
Destilovana voda	2,00	2,00
Uzorak (0,2 ml) + acetatni pufer (0,1 ml)	0,30	-
Uzorak (0,2 ml) + rastvor 4 (fruktanaze) (0,1 ml)	-	0,30
Rastvor 1 (imidazolni pufer)	0,20	0,20
Rastvor 2 (NADP+/ATP)	0,10	0,10
Promiješano plastičnim štapićima i apsorbancija A1 čitana nakon 3 minuta. Zatim je dodato:		
Suspenzija 5 (HK/PGI/G-6-PDH)	0,02	0,02
Promiješano plastičnim štapićima i apsorbancija A2 čitana nakon 10-15 minuta. U slučaju kada reakcija nije bila završena poslije 15 minuta, apsorbancija je čitana svakih 5 minuta.		

### 3.14 Profil masnih kiselina

#### *Princip metode:*

Masne kiseline su određene gasnom hromatografijom (GC) nakon postupka transesterifikacije sirovog ekstrakta dobijenog postupkom za određivanje masti.

#### *Reagensi i standardi:*

(a) heksan (GC čistoće)

(b) 2 M KOH u metanolu

(c) 1 N HCl

(d) FAME Supelco 37 Component FAME Mix, Sigma Co (St Louis, MO, USA).

#### *Priprema uzoraka:*

Nakon dodatka heksana i 5 ml 2 M KOH u metanolu u sirovi ekstrakt dobijen postupkom za određivanje masti, metilacija je izvršena mućkanjem u trajanju od 20

sekundi. Uzorak je zagrijavan 60 sekundi na vodenom kupatilu na 60 °C i dodatno mućkan još 20 sekundi. Smješi je zatim dodato 10 ml 1 N HCl, sve je dobro promućkano i dodata je još jedna porcija heksana. Nakon razdvajanja faza metil estri masnih kiselina (FAME) su bili u gornjem heksanskom sloju.

#### *Uslovi određivanja:*

FAME su analizirani na gasnom hromatografu Shimadzu GC-17A sa FID detektorom i Supelco SP-2560 Fused Silica Capillary Column (100 m, id 0.25 mm, deb. phase: 0.20 µm). Masne kiseline su identifikovane poređenjem relativnih retencionih vremena pikova FAME sa standardom. Na slici 13 prikazani su dobijeni GC hromatogrami standardnog i analiziranog uzorka.

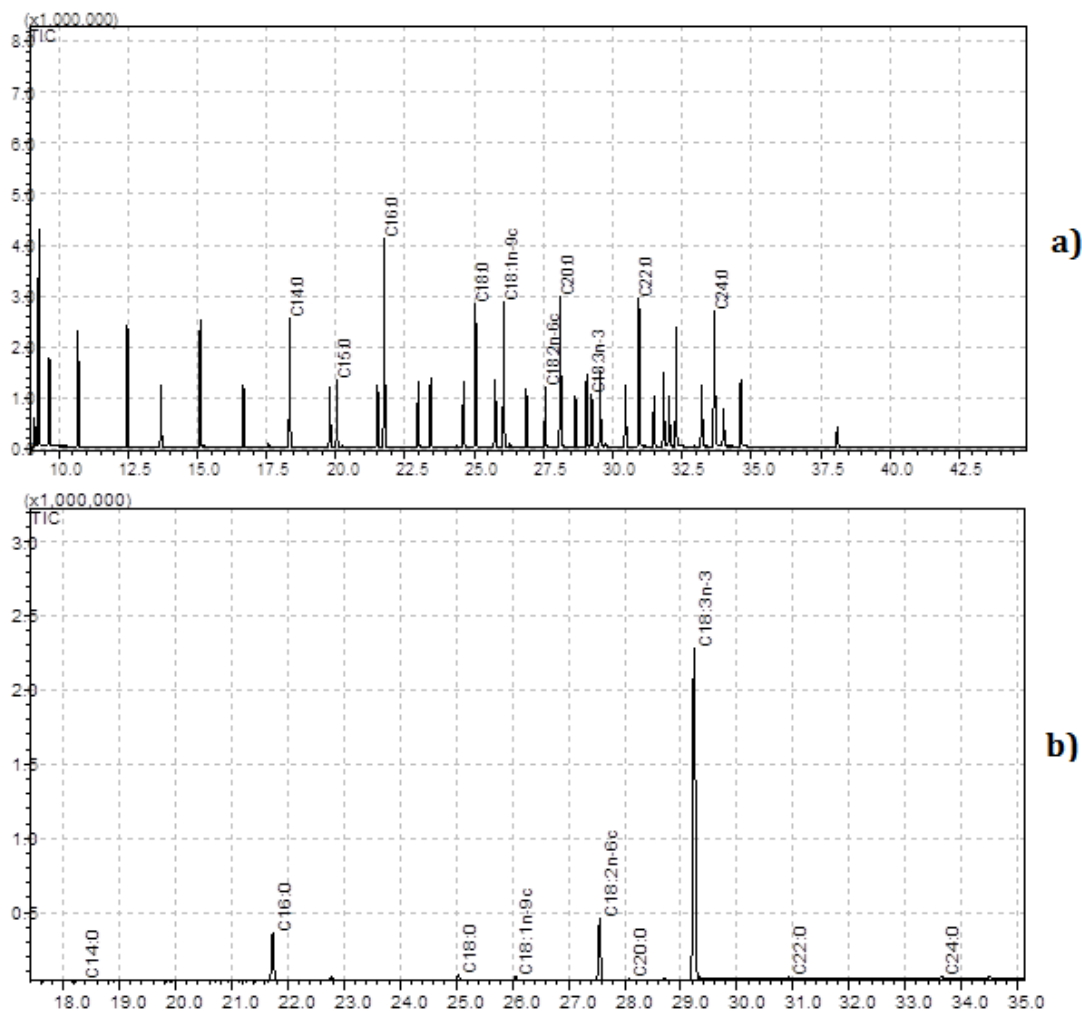
### **3.15 Pigmenti**

#### *Reagensi:*

- (a) aceton (Merck, HPLC grade)
- (b) acetonitril (Merck, HPLC grade)
- (c) metanol (Merck, HPLC grade)
- (d) etilacetat (Merck, HPLC grade)
- (e) standardne supstance: neoksantin, violaksantin, anteraksantin, zeaksantin, lutein, hlorofil a and b, feofitin a i b i  $\alpha$ - i  $\beta$ -karoten proizvođača DHI LAB products (Hoersholm, Denmark).

#### *Priprema uzoraka:*

Za ekstrakciju fotosintetičkih pigmenata korišćena je sljedeća procedura [32]: 100 mg liofiliziranog spraćenog biljnog materijala homogenzovano je sa 5 ml acetona u ledu u ledenom kupatilu korišćenjem T-25 Ultra-Turrax (Ika-Labortechnik, Staufen, Germany) homogenizatora u trajanju od 25 sekundi. Esktrakcije su vršene pri prigušenoj svjetlosti. Acetonski ekstrakti su filtrirani kroz 0,2 µm Minisart SRP 15 filtere (Sartorius Stedim Biotech GmbH, Goettingen, Germany).



Slika 13. GC hromatogram profila masnih kiselina: a) standardni uzorak i b) uzorak lista žućenice

#### Uslovi određivanja:

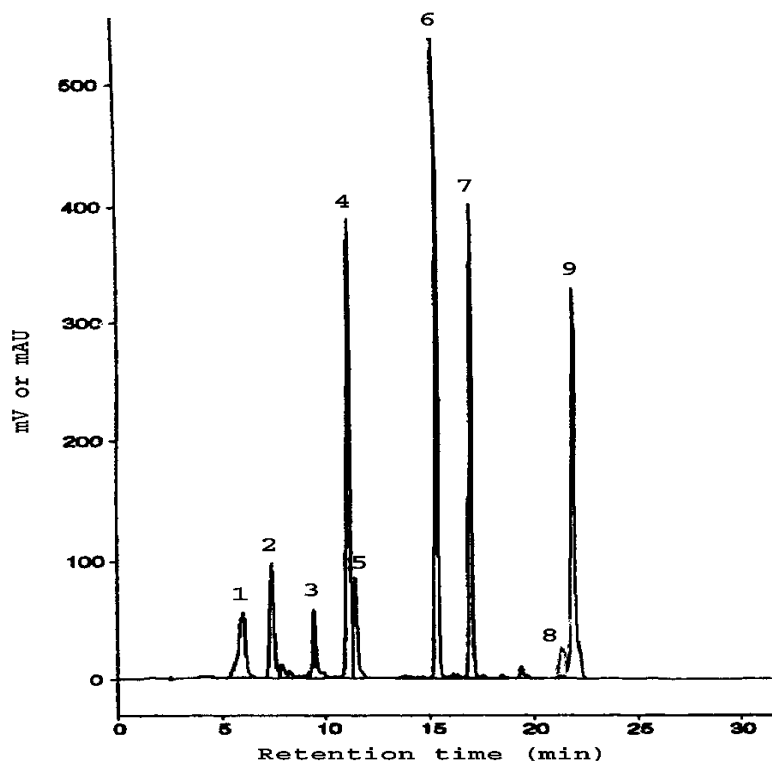
Acetonski ekstrakti su analizirani HPLC tehnikom korišćenjem sljedeće opreme i uslova:

- Sistem: Spectra-Physics HPLC sistem sa Spectra Focus UV-VIS detektorom (Fremont, USA).
- Kolona: Spherisorb S5 ODS-2 250x4,6 mm
- Predkolona: S5 ODS-2 50x4,6 mm (Alltech Associates, Inc., Deerfield, USA);
- Mobilne faze:
  - Rastvor A: acetonitril/metanol/voda (100/10/5, v/v/v);

Rastvor B: aceton/etilacetat (2/1, v/v);

- Protok: 1 ml/min;
- Linearni gradijent: od 10% rastvora B do 70% rastvora B za 18 min;
- Vrijeme analize: 30 min;
- Detekcija: fotometrijska detekcija na 440 nm.

Kvantifikacija pigmenata je izvršena određivanjem površina pikova na dobijenim HPLC hromatogramima sa poznatom količinom standarda. Svaki pik je okarakterisan retencionim vremenom i karakterističnim spektrom standarda. Za izračunavanje koncentracije korišćen je i odgovarajući interni standard. Svi standardi su bili visoke čistoće. Na slici 14 prikazan je HPLC hromatogram analiziranih pigmenata u jednom od uzoraka.



Slika 14. HPLC profil pigmenata u uzorku lista žučenice:

1. neoksantin; 2. violaksantin; 3. anteraksantin; 4. lutein; 5. zeaksantin; 6. hlorofil b; 7. hlorofil a; 8.  $\alpha$ -karoten; 9.  $\beta$ -karoten.

### 3.16 Ukupni polifenoli, ukupni flavonoidi, hlorogenska i kafena kiselina

#### *Reagensi i standardi:*

- (a) metanol (HPLC, Sigma-Aldrich)
- (b) trifluorsirćetna kiselina (Sigma-Aldrich)
- (c) reagens po Folin-Ciocalte-u (Sigma-Aldrich)
- (d) 20% Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>
- (e) galna kiselina (≥99%, Sigma-Aldrich)
- (f) 5% NaNO<sub>2</sub>: rastvori se 5 g NaNO<sub>2</sub> (p.a.) u vodi i dopuni do 100 ml u normalnom sudu
- (g) 10% AlCl<sub>3</sub>: rastvori se 10 g AlCl<sub>3</sub> (p.a.) u vodi i dopuni do 100 ml u normalnom sudu
- (h) 1 M NaOH: rastvori se 4 g NaOH (p.a.) u vodi i dopuni do 100 ml u normalnom sudu
- (i) katehin (≥99%, Sigma-Aldrich)
- (j) mravlja kiselina (≥95%, Sigma-Aldrich)
- (k) acetonitril (HPLC, Sigma-Aldrich)
- (l) hlorogenska kiselina (≥95%, Sigma Aldrich)
- (m) kafena kiselina (≥98%, Sigma Aldrich).

#### *Priprema ekstrakata:*

Od svakog liofiliziranog uzorka odvagano je 1 g i dodata smješa rastvarača metanol/voda/trifluorosirćetna kiselina (50/50/0,1, v/v/v). Zapremina dobijene mutne smješe dopunjena je tačno do 10 ml. Smješa je ostavljena na ultrazvučnom kupatilu 30 minuta na sobnoj temperaturi, a zatim centrifugirana na 3000 obrtaja 5 minuta i na kraju filtrirana kroz 0,45 µm najlonski filter [35].

#### *3.16.1 Određivanje sadržaja ukupnih polifenola*

Ukupan sadržaj polifenola (TPC) u ekstraktima biljnog materijala određen je spektrofotometrijski metodom po Follin-Ciocaltea-u [34]. U alikvotni dio uzorka zapremine 0,5 ml dodato je 2,5 ml Folin-Ciocalte reagensa, 30 ml destilovane vode i 7,5 ml 20% Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, promućkano i na kraju dopunjeno do 50 ml destilovanom vodom.

Apsorbanca dobijenog plavo obojenog rastvora mjerena je na 765 nm u odnosu na slijepu probu, a nakon 2 sata čuvanja istog u mraku. Kao standard je korišćena galna kiselina, a rezultati su izraženi kao mg ekvivalenti galne kiseline (GAE) u 1 g svježeg uzorka. Kalibraciona kriva je dobijena od radnih rastvora galne kiseline u opsegu koncentracija 0-80 mg/ml i pokazivala je dobru linearnost.

### *3.16.2 Određivanje sadržaja ukupnih flavonoida*

Za određivanje sadržaja ukupnih flavonoida (TFC) 0,5 ml od svakog ekstrakta je preneseno u normalne sudove od 5 ml, u svaki dodato po 0,15 ml 5% NaNO<sub>2</sub> i 6 minuta nakon toga promiješano. Zatim je dodato 0,15 ml 10% rastvora AlCl<sub>3</sub> i ponovo promiješano. Šest minuta kasnije dodat je 1 ml rastvora 1 M NaOH. Smješa je dopunjena destilovanom vodom do 5 ml. Apsorbanca je mjerena na instrumentu UV-VIS J.P. Selecta spectrophotometer (Barcelona, Spain) na 510 nm u odnosu na slijepu probu [34].

Kalibraciona kriva je pripremljena korišćenjem rastvora katehina koncentracije 1000 mM, u intervalima koncentracije katehina od po 200 mM.

Rezultati su izraženi kao μmol katehin ekvivalenti (CE) u 1 g svježeg uzorka.

### *3.16.3 Određivanje sadržaja hlorogenske i kafene kiseline*

Određivanje sadržaja hlorogenske i kafene kiseline izvršeno je LC-MS/MS tehnikom korišćenjem sljedeće instrumentalne opreme i uslova:

- Instrument: Quattro Micro™ API tandem quadrupole mass spectrometer Waters (Milford, MA, USA);
- Kolona: SunFire C18 column (3,5 μm; 3,0 x 100,0 mm);
- Protok: 0,5 ml/min;
- Mobilne faze:
  - Eluent A: 0,1% mravlja kiselina u vodi,
  - Eluent B: acetonitril;
- Temperatura kolone: 40 °C ;
- Injekciona zapremina: 5 μl.

Gradijent je započet sa 5% B kako bi se postiglo 31% B u 28 minutu i 71% B nakon 35 minuta. Zatim je 76% B održavano konstantnim 2 minuta.

Komponente su detektovane negativnom elektronsprej jonizacijom (ESI<sup>-</sup>):

- Kapilarni napon: 3.2 kV;
- Temperatura jonskog izvora: 120 °C ;
- Temperatura desolvacionog gasa: 450 °C ;
- Protok desolvacionog gasa: 600 l/h;
- Protok gasa kroz konus: 50 l/h.

Postupak višestrukog praćenja reakcija (MRM) korišćen je za potvrdu detektovanih komponenti. Karakteristične mase za identifikaciju komponenti i njihova retenciona vremena (MEM parametric) dati su u Tabeli 6.

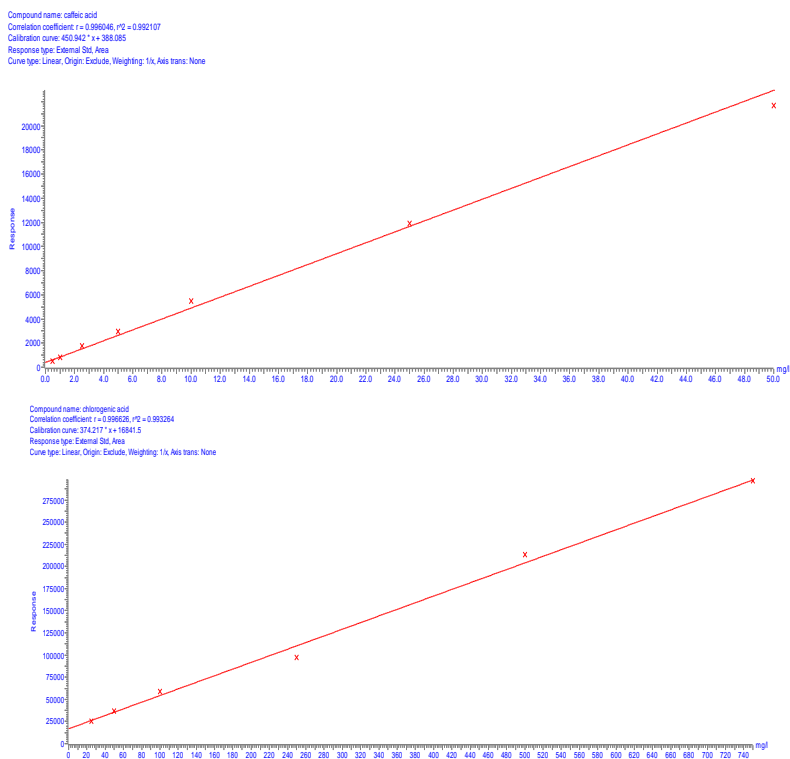
*Tabela 6. Karakteristične mase za identifikaciju hlorogenske i kafene kiseline i njihova retenciona vremena (MRM parametri)*

Komponenta	Parent ion (m/z)	Daughter ion (m/z)	Dwell (s)	Cone voltage (V)	Collision energy (V)
Hlorogenska kiselina	353.00	191.00	0.2	25	22
Kafena kiselina	179.00	135.00	0.2	18	19

Za pravljenje kalibracione krive hlorogenske kiseline korišćeni su rastvori koncentracije 0; 1; 25; 50; 100; 250; 500 i 700 mg/l. Kalibraciona kriva kafene kiseline konstruisana je rastvorima koncentracija 0; 0,5; 1; 2,5; 5; 10; 25 i 50 mg/l.

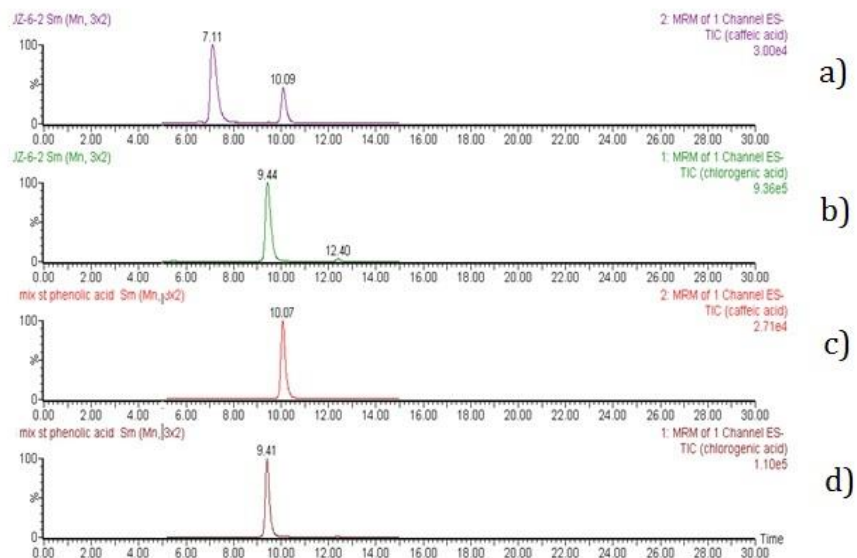
Dobijene kalibracione krive prikazane su na slici 15.





Slika 15. LC-MS/MS kalibracione krive za hlorigensku i kafenu kiselinu

Na slici 16. Prikazani su dobijeni LC-MS/MS hromatogrami.



Slika 16. LC-MS/MS hromatogrami: a) kafena kiselina-uzorak lista žučenice; b) hlorigenska kiselina-uzorak lista žučenice; c) kafena kiselina-standardni uzorak; d) hlorigenska kiselina-standardni uzorak

### 3.17 Antioksidativna aktivnost

Antioksidativni kapacitet ekstrakata određen je pomoću tri testa.

DPPH test je najčešće korišćena *in vitro* metoda za efikasno određivanje antioksidativne aktivnosti. Ova metoda je bazirana na razmjeni H-atoma ili elektrona između molekula antioksidansa iz biljnog ekstrakta i DPPH radikala u rastvoru. Pod dejstvom redukujućih agenasa DPPH radikal mijenja boju od ljubičaste do žute (nastaje stabilni dijamagnetični molekul hidrazina).

Za određivanje DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) radikalskog potencijala ispitivanih uzoraka u 200  $\mu$ l ekstrakta dodato je u 2,8 ml rastvora DPPH radikala i smješa je snažno promiješana. Kapacitet istiskivanja slobodnih radikala određen je mjerenjem apsorbanca na 525 nm nakon 1 časa od reakcije u mraku na sobnoj temperaturi.

Kalibraciona kriva opsega 0,2-0,7 mmol Trolox/l korišćena je za kvantifikaciju antioksidativne aktivnosti. Rezultati su izraženi kao  $\mu$ M Troloks Ekvivalenta (TE) u 1 g svježeg uzorka [35].

Za FRAP test (antioksidativna sposobnost redukcije feri jona) pripremljen je radni rastvor od 300 mM acetatnog pufera (pH 3,6), 10 mM TPTZ (2,4,6-tripiridil-s-triazin) rastvor u 40 mM HCl i 20 mM rastvor  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ . Svjež radni rastvor pripremljen je od 25 ml acetatnog pufera, 2,5 ml TPTZ rastvora i 2,5 ml  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  rastvora i zagrijan je na 37 °C prije upotrebe. Alikvotni dio uzorka reagovao je sa 3 ml FRAP rastvora 40 minuta u mraku. Apsorbanca obojenog proizvoda (fero tripiridiltriazinski kompleks) očitana je na 593 nm. Antioksidativna aktivnost izračunata je iz kalibracione krive opsega 0,1–0,8 mmolTrolox/l. Rezultati su izraženi kao  $\mu$ M Trolox Equivalents (TE) u 1 g svježeg uzorka [36].

Troloks-ekvivalent antioksidativni kapacitet (TEAC ili ABTS test) ekstrakata lista žućenice procijenjen je pomoću ABTS testa radikalske akcije obezbojenja. Pripremljeni radni rastvor ABTS (14 mM) i rastvor kalijum peroksodisulfata (4,9 mM) u fosfatnom puferu (pH 7,4) pomiješani su u istom zapreminskom odnosu. Smješa je ostavljena da reaguje preko noći (12–16 časova) u mraku, na sobnoj temperaturi. Na dan analize rastvor ABTS radikala je razblažen fosfatnim puferom do apsorbanca od 0,70 ( $\pm 0,02$ ) na 734 nm.

Alikvot uzorka od tačno 30  $\mu$ l dodat je u 3,0 ml ABTS rastvora i nakon 6 minuta na 30 °C očitana je apsorbanca. Slijepa proba je sadržala 30  $\mu$ l fosfatnog pufera umjesto

uzorka. Kalibraciona kriva je konstruisana u opsegu 0,2–1,5 mmol Trolox/l. Rezultati su izraženi kao  $\mu\text{M}$  Troloks Ekvivalenta TE u 1 g svježeg uzorka [37].

Ukupni indeks antioksidativnog potencijala određen je na način da je indeksna vrijednost 100 dodjeljena najboljem rezultatu za svaki test, a onda je indeks rezultat izračunat za sve ostale uzorke u sklopu testa kako slijedi:

$$\text{Indeks antioksidativnog potencijala} = [(\text{rezultat za uzorak/najbolji rezultat}) \times 100]$$

Srednja indeksna vrijednost je određena dijeljenjem sume pojedinačnih indeksa sa brojem ispitivanja (ukupno tri testa: DPPH, FRAP i ABTS).

### 3.18 Statistička analiza

Sve analize su izvršene u tri nezavisna ponavljanja. Rezultati su izraženi kao srednje vrijednosti sa pripadajućom standardnom devijacijom (SD).

Statistička razlika između srednjih vrijednosti dvije grupe (samoniklih i kultivisanih biljaka) određena je upotrebom Studentovog t-testa – „two sample assuming unequal variances“, a u slučaju kada je p vrijednost  $<0,05$  smatrano je da postoji statistička razlika.

Analiza varijanse, „one-way ANOVA“ korišćena je kako bi se odredilo postojanje značajnih razlika između samoniklih biljaka sa različitih lokacija. U slučaju kada je statistička razlika bila značajna ( $p < 0,05$ ) srednje vrijednosti su poređene korišćenjem Post hoc testa za poređenje najmanje značajne razlike (LSD).

Korelaciona analiza je izvršena po principu Pearsona. Sva statistička izračunavanja izvršena su pomoću SPSS ver. 19 [38].

## 4. REZULTATI I DISKUSIJA

### 4.1 Žućenica kao tradicionalna hrana u Crnoj Gori

#### 4.1.1 Dokazi o tradicionalnoj primjeni lista žućenice u ishrani u Crnoj Gori

Crna Gora zbog svog geografskog položaja, raznolikosti prirodnih i klimatskih uslova, bogatstva kulturne baštine i tradicije ima veliki broj autohtonih, tradicionalnih poljoprivrednih i prehrambenih proizvoda, koji po svojim tehnološkim, prehrambenim i organoleptičkim specifičnostima, kvalitetom i posebnosti mogu uspješno konkurisati na domaćem i međunarodnom tržištu. Mnogi od njih su već postali prepoznatljivi kao i područja na kojima se proizvode. Isto tako, još uvijek postoji značajan broj onih proizvoda koje treba otkriti i/ili učiniti prepoznatljivim. Svi ti proizvodi pružaju niz mogućnosti valorizacije samog područja na kom se proizvode i doprinose očuvanju nacionalnog identiteta.

Proizvodi čija se proizvodnja temelji na tradicionalnim znanjima i vještinama i usko su povezani sa svojim geografskim porijeklom, danas sve više privlače pažnju potrošača. Potrošači su za njih spremni platiti više, pa se stoga s pravom može reći da oni spadaju u višu cjenovnu kategoriju.

Države Evropske unije pridaju veliki značaj politici kvaliteta kojom se prepoznaju i štite tradicionalni proizvodi, čime oni postaju ekonomski sve važniji jer doprinose održivom ekonomskom i društvenom razvoju zajednice i omogućavaju lokalnom stanovništvu sve veću korist od njih.

Za proizvođača je zaštita i registracija naziva proizvoda zaštićenom oznakom porijekla, zaštićenom oznakom geografskog porijekla ili oznakom tradicionalnog specijaliteta ponekad dug i zahtjevan put, ali važan, jer svaka od ovih oznaka donosi jedno sasvim drugačije tržište koje traži i cijeni posebnost, visok kvalitet, a iznad svega identitet i prepoznatljivost.

Uredbe na nivou Evropske unije regulišu područje registracije i zaštite oznakama porijekla, oznakama geografskog porijekla i oznakama garantovano tradicionalnog

specijaliteta i definišu osnovne pojmove i postavljaju osnovu za zakone i podzakonske akte koji se donose na nacionalnom nivou država članica.

Nekoliko značajnih evropskih projekata imalo je za temu proučavanje i dokazivanje tradicionalne hrane na određenom području.

EuroFIR (European Food Information Resource) predstavlja vodeću svjetsku mrežu saradnje na razvoju, izradi i aplikativnoj primjeni jedinstvene forme dostupnih izvora Evropskih informacija o namirnicama.

Glavni cilj EuroFIR projekta bio je izgradnja i širenje jedinstvene, validne i dosljedne baze podataka namirnica koja će obezbjediti jedan autoritativni izvor sastava namirnica u Evropi u pogledu nutrijenata, novih bioaktivnih komponenti sa pozitivnim zdravstvenim efektima. Ovaj cilj je od fundamentalnog značaja za područje - Food Quality and Safety priority, a takođe je od velikog značaja kao osnovna komponenta za sve tematske oblasti istraživanja u vezi hrane, ishrane i zdravlja stanovništva u Evropi.

Kao centar izvrsnosti, EuroFIR ima za cilj rješavanje slabosti koje su ometale razvoj baze podataka u prošlosti, čime se ubrzava primjena rezultata istraživanja na prehrambenu politiku i unaprjeđenje zdravlja stanovništva, kao i razvoj privatnog sektora. Ovakve mreže imaju važnu ulogu u podržavanju baze podataka o hemijskom sastavu hrane i osiguranju njihove buduće održivosti, kao i u pružanju smjernica za izradu nacionalnih tablica o hemijskom sastavu hrane.

Projekat BaSeFood (Sustainable exploitation of bioactive components from the Black Sea Area traditional foods) imao za cilj da promoviše održivi razvoj i upotrebu tradicionalne hrane biljnog porijekla u regionu Crnog mora koja sadrži bioaktivne komponente za koje se pretpostavlja da imaju povoljne zdravstvene efekte.

Osnovni cilj samog projekta bio je doprinos naučnom pristupu ispitivanja bioaktivnih komponenti tradicionalne hrane regiona Crnog mora, primjenom precizno definisanih analitičkih i bioloških metoda i tehnika, u kontekstu jedinstvene metodologije i prikupljanja podataka, ali istovremeno uzimajući u obzir širok spektar karakteristika tradicionalne hrane i navika potrošača, a sa ciljem dokumentovanja i prezentovanja zdravstvenih izjava u odgovarajućem kontekstu, na način na koji bi bile razumljive ljudima i korišćene od strane proizvođača i drugih zainteresovanih strana. Projekat je baziran na dva ključna koncepta, koncept bioaktivnih supstanci i tradicionalne hrane.

U skladu sa težnjom projekta ka uspostavljanju naučne zasnovanosti koncepta promocije zdravlja povezanog sa tradicionalnom hranom i hranom uopšte, a u cilju stvaranja baze podataka značajne za održiv ekonomski razvoj u oblasti proizvodnje i prerade tradicionalne zdrave hrane radilo se u dva strateška pravca:

- aktivnosti u oblasti istraživanja, koja obuhvataju tradicionalni karakter, sadržaj biološki aktivnih jedinjenja i njihov zdravstveni efekat.
- aktivnosti usmjerene na uspostavljanje povjerenja kod potrošača, kako bi se omogućila sinergija između zdravlja i tradicionalnih karakteristika hrane, a i uspostavila odgovarajuća percepcija vrijednosti tradicionalnih namirnica, uzimajući u obzir očuvanje nacionalnog identiteta u vrijeme globalizacije, očuvanja životne sredine i biodiverziteta.

Specifični ciljevi cijelog projekta su postignuti i uključuju sljedeće:

- formirani su integrisani izveštaji o izabranim tradicionalnim namirnicama kao i kriterijumi za njihov odabir, koji predstavljaju značajan izvor informacija, kako za zainteresovane strane iz industrije ili oblasti javnog zdravlja tako i za dalju dokumentaciju neophodnu za dobijanja zdravstvenih izjava
- formirani su dosjei sa dokumentacijom koja sadrži potvrde tradicionalnosti, načina pripreme, sirovina, istorijskih i folklornih karakteristika, a takode sadrži i podatke o raspoloživom stanju
- prikupljeni su svi analitički podaci o sadržaju nutritivnih i bioaktivnih komponenata u izabranim tradicionalnim namirnicama i sirovinama koje se koriste u njihovoj proizvodnji, u skladu sa parametrima kvaliteta definisanim u okviru EuroFIR projekta;
- prikupljena je dokumentacija o ključnim mikroorganizmima koji se koriste u proizvodnji tradicionalnih namirnica i podaci o njihovoj eksploataciji u industrijskoj proizvodnji sa posebnim osvrtom na održivost sastava biološki aktivnih sastojaka
- napravljena je baza postojećih i uglavnom originalnih podataka o mehanizmima biološkog djelovanja tradicionalnih namirnica i njihovih sastojaka dobijenih u *in vitro* i *in vivo* uslovima, ali i u okviru kliničkih studija na ljudima

- stekla su se nova saznanja o uticajima proizvodnih procesa na očuvanje sadržaja biološki aktivnih jedinjenja u namirnicama
- formirani su grafikoni proizvodnih procesa specifični za potencijalnu industrijsku proizvodnju tradicionalne hrane
- formirana je lista prioriternih namirnica sa tradicionalnim karakterom a na osnovu kriterijuma definisanih od zainteresovanih strana, i anketa o stavu različitih kategorija potrošača prema tradicionalnim jelima crnomorskog regiona, kao i lista prioriternih tradicionalnih jela sa priloženim zdravstvenim zahtjevima na osnovu odgovora zainteresovanih;
- uključen je veliki broj malih i srednjih preduzeća i veći broj lokalnih interesnih grupa čije je angažovanje nakon završetka projekta bilo ključno za dalju promociju tradicionalnih jela i relevantnog prikupljenog znanja
- uspostavljena je saradnja sa ključnim inicijativama koje se bave kategorisanjem hrane, biodiverzitetom i bezbjednošću u cilju definisanja zajedničkih interesa.

U cilju prikupljanja relevantnih dokaza o tradicionalnosti primjene lista žućenice u ishrani u Crnoj Gori, a u skladu sa protokolima i metodologijama razvijenim u pomenutim evropskim projektima, prvo je pregledana obimna arhivska građa koju posjeduju Nacionalna biblioteka Crne Gore „Đurđe Crnojević“ na Cetinju, Državni arhiv Crne Gore na Cetinju, Narodna biblioteka „Radosav Ljumović“ u Podgorici i Etnografski muzej u Beogradu. Razlog za oskudnost arhivske građe na ovu temu, kao i na temu ostale tradicionalne hrane, može se tražiti u činjenici burnih istorijskih događaja na ovim područjima, koji su sa sobom nosili pustošenja i rušenja, a samim ti i uništavanje i paljenje arhivske građe ili njeno gubljenje zbog čestog premještanja sa jednog mjesta na drugo. Danas su dostupne malobrojne bilješke putopisaca i istraživača u kojima se o ovoj temi vrlo skromno piše.

Stara Crna Gora je u XIX vijeku bila sačinjena od četiri nahije: Katunska, Lješanska, Riječka i Crmnička i nalazila se u brdovitim i teško pristupačnim predjelima koji su sa juga bili ograničeni Sutormanom i brdima između Paštrovića i Crmnice, između Paštrovića, Majina i Brajića i Pobora do blizu mora kod Grblja; sa zapadne strane: iznad Kotora,

Dobrote, Ljute, Orahovca, Draževine, Perasta i Risna i Ledenica; i sa sjeverne strane: Sitnicom, između Grahovca i Cuca na Pusti Lisac i od istoka: planinom Lastvom i Garčom, pa brdom iznad Sušice, ispod Komana i Lješkopolja, iznad Žabjaka i Dodoša preko Skadarskog jezera do Sutormana. Crna Gora iz tog perioda, čije se ime pominje prvi put u XV vijeku i u kojoj se stanovništvo bavilo prije svega stočarstvom, dok je zemljoradnja bila zanemarljivo zastupljena, bila je veoma siromašna.

Kasnije se Crna Gora proširila na sedam brda: Bjelopavliće, Kuče, Pipere, Moraču, Rovce, Bratonožiće i Vasojeviće. Nakon crnogorsko-turskog rata (1876-1878) Crnoj Gori su pripali Zeta, Lješkopolje i na kraju primorje, a poslije Balkanskih ratova i Sandžak. Takva Crna Gora, u granicama sličnim današnjim, postala je bogata u odnosu na ono što je ranije bila. Bilo je dosta više plodnog zemljišta, pašnjaka i vode [17].

Vilhelm Ebel u putopisu iz 1842. godine opisuje svoja botanička istraživanja u Crnoj Gori [39]. Na osnovu obavljenih istraživanja obradio je botaničku zbirku i opisao vegetaciju Crne Gore. U botaničkim napomenama on kaže: „Nema nikakve sumnje da se Crna Gora najvećim dijelom, budući da ima malo predjela podesnih za poljodjelstvo, može označiti kao neplodna zemlja. Raznovrsni, međusobno isprepletani planinski vijenci od golog krečnjačkog stijenja osnovni su uzrok te neplodnosti. Dodatnu nepovoljnost predstavlja činjenica da je ovo podneblje siromašno vodom, što je dijelom uslovljeno osobenom geognostičkom formacijom, dijelom južnim položajem zemlje uz srazmjerno malu nadmorsku visinu. Obilate sniježne padavine tokom zime brzo se tope, tako da su samo nekoliko mjeseci u godini doline bogate izvorima i potocima, dok veliki dio vode nestaje u dubokim pećinama i špiljama visokog pobrđa. Ali, bez obzira na te okolnosti, Crna Gora predstavlja za botaničara višestruko zanimljivo podneblje. Jer, to naizgled tako golo, bjeličasto-sivo stijenje nije sasvim pusto i bez ikakvog rastinja; naime, iz pukotina između stijenja džiklja mnoštvo raznolikog bilja, koje svojom osobenošću daje poseban pečat ovim krečnjačkim planinama. U sijenci listopadnog i zimzelenog drveća i u dubljim predjelima tih uzvisina uspijeva svakovrsno rastinje; na određenim mjestima mogu se vidjeti sočni zeleni pašnjaci, ali raznoliko bilje uspijeva i na močvarnim mjestima, u predjelu omanjih bara, te na sjenovitim brdskim obroncima. Čak i na obalama i ostrvima Skadarskog jezera uspijeva raznoliko rastinje, koje na svoj način doprinosi raznovrsnosti vegetacije“. U svom pregledu biljaka koje je sakupio u Crnoj Gori posljednjih dana maja i prvih dana juna Ebel navodi i



*Cichorium intybus* L. (Reg. littoralis i reg. montana) kao jestivu biljku koja u Crnoj Gori ne uspijeva jedino na krečnjaku i stijenama i koja ima visoku učestalost pojave.

CICHORACEAE.		Leontodon	
		* crispus Vill.	a b 50
Scolymus		( <i>Tergestina Hoppe.</i> )	
* hispanicus L.	a b 75	* saxatilis Ten.	a b 50
Lampsana		Urospermum	
communis L.	a b 50	* Dalechampii Desf.	a b 50
( <i>grandiflora M. Bieb.</i> )		picroides Desf.	a b 50
Arnosaris		Tragopogon	
minima Gärtn.	a b 50	pratensis L.	a b c 50
Rhagadiolus		porrifolius L.	a b 25
stellatus Gärtn.	a 35	crocifolius L.	b 25
edulis Gärtn.	a 35	Scorzonera L.	
Hedypnois		humilis L.	b 20
cretica Willd.	a 35	* hirsuta L.	a b 50
Hyoseris		* purpurea L.	a b 5
rhagadioloides L.	a 25	dalmatica Portschl. Host.	a 0,1
scabra L.	a 25	latifolia Vis.	b 1
lucida L.	a b 25	Galasia	
Cichorium		* villosa Cass.	b 25
Endivia L.	a †	Podospermum	
Intybus L.	a b 25	* laciniatum DC.	a b 50
( <i>pumilum Spr.</i> )		Picris	
minimum Portsch.	a 1	hispidissima K.	a b 25
Hypochaeris		( <i>laciniata Vis.</i> )	
radicata L.	a b 25	hieracioides L.	a b 25
* maculata L.	b c 5	Sprengieriana Lam.	a b 25
Thrinacia		lappacea (Crep.) W.	a b 25
tuberosa DC.	a 50	Helminthia	
* hispida Roth.	b 75	echioides Gärtn.	a b 50
hirta DC.	b 50	Picridium Desf.	
Taraxacum		vulgare Desf.	a 40
officinale Wigg.	a b c 200	Sonchus	
( <i>bulbosum Rchb.</i> )		maritimus L.	a 10
( <i>palustre D C.</i> )		* arvensis L.	a b 100
( <i>Scorzonera Rchb.</i> )		asper Vill.	a b 75
( <i>laevigatum D C.</i> )		oleraceus L.	a b 75
( <i>corniculat. W. Kit. D C.</i> )		uliginosus M. Bieb.	a 5
Leontodon		Phoenixopus	
hastilis L.	b 40	* muralis Koch.	b c 20
( <i>c. varr.</i> )		* vimineus Rchb.	b 20

163

Slika 17. Izvod iz putopisa Vilhelma Ebela

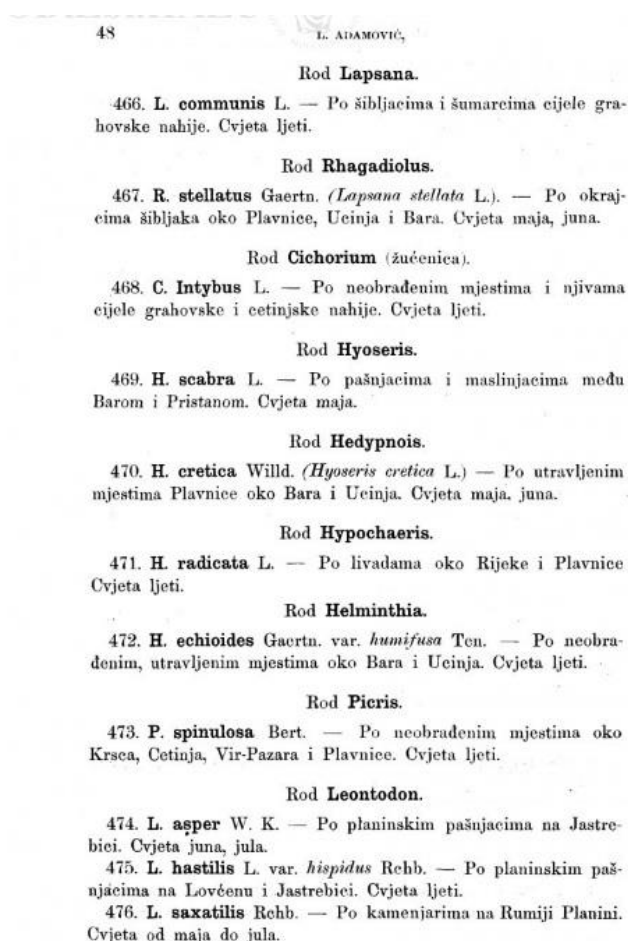
Dopisni član Jugoslovenske akademije znanosti i umjetnosti Lujo Adamović u svom putopisu iz 1912. godine bilježi sljedeće: „Zahvaljujući predusretljivosti Jugoslovenske akademije, koja je izvoljela potpomoći moja istraživanja, mogao sam ove (1912.), lanjske i preklanjske godine poduzeti više botaničkih izleta i po Crnoj Gori radi dovršenja svojih dugogodišnjih biljnogeografskih studija u dinarskim zemljama.

Na tim putovanjima sabrao znatan broj biljaka, nu ja ću se ograničiti, da saopćim ovdje samo one crnogorske biljke, koje sam ja otkrio na do sada nepoznatim mjestima ili koja sam sa drugoga kakvog važnog razloga držao da je zgodno istaći.

Ja sam obišao Njeguše, cetinjsko polje, grahovsku nahiju, Vir-Pazar, Rijeku, Plavnicu, Sutorman, Bar i Ulcinj. Posjetio sam više puta Lovćen, Rumiju i Jastrebicu; naročito je važna ova posljednja planina, jer se na nju, osim Pančića, nije nikakav drugi botanik peo.

Crnogorski krajevi, koje sam ja proputovao, pripadaju mediteranskim predjelima, i stoga ova građa sadrži samo elemente sredozemne oblasti i prema tome predstavlja jednu florističku cjelinu.

U ovom prilogu iznosim samo florističke podatke, dok biljno-geografske studije sačinjavaju građu zasebnih rasprava, koje sam već počeo objelodanjivati.“ U svom pregledu biljaka koje je sakupio u Crnoj Gori Adamović za rod *Cichorium* (žučenica) pod rednim brojem 468. navodi *C. Intybus* L. kao „jestivu biljku koja raste po neobrađenim mjestima i njivama cijele grahovske i cetinjske nahije. Cvjeta ljeti“ [40].



### Slika 18. Izvod iz putopisa Luja Adamovića

U kazivanjima kapetana duge plovidbe Pera Božova Popovića (1941-2014) (zabilježio Nenad Perov Popović, jun 2005.) o načinu života, običajima i toponimima sela

Zagora u Grblju i bližoj okolini on govori o načinu života na selu, običajima kao i o toponimima sela Zagora. Pojmovi su zabilježeni u originalnom obliku kako ih je on nazivao i izgovarao.

Svoje kazivanje on počinje opisom načina života sa kućom i predmetima kojima se u njoj služila seoska porodica i njenim fizički i duhovno centralnim dijelom - ognjištem: „Ognjište je udubljenje u podu kuće. Iznad njega za krovne grede su bile okačene verige (lanci) na koje su se kačili bronzini (lonci) sa pobrazom (ručkom). Tripijelj je gvozdeni prsten ili trokut sa tri noge. Stavljao se na ognjište da drži bronzine i crijepnju iznad vatre. Krušak je drveni okrugli tanjir za pripremu kolača ili kruva (hljeba) prije nego što se stavi na crijepnju. Crijepnja je veliki glineni tanjir ili ploča za pečenje kruva (hljeba), kolača ili mesa pečenoga. Pravi se od dobro istučene zvrsti (kvarca) pomiješane sa glinom i vodom. Ostavljala se tako petanest dana do mjesec, a onda se pekla na vatri da postigne maksimalnu čvrstinu. Sač je limeni poklopac za crijepnju.

Namještaj je u zagorskim kućama bio skroman. Kreveti jednostavne izrade, najčešće urađeni od nekog priučenog tesara iz sela. Oko ognjišta su stajali tronošci, sa naslonom ili oni jednostavniji bez njega. Djeca su za objedom sjedjela po podu ili na male škanjiće sa četiri noge. Klupe (bankovi) su bile nekolike po selu, koje su se međusobno po potrebi posuđivale. Gvozdene krevete su imali samo poneki, koji su ih donijeli iz pečalbe iz Amerike".



Slika 19. Crnogorska kuća sa kraja XIX i početka XX vijeka

Grbalj je nekad bio razvijeni povrtlarski kraj. Od povrća Grbljani su, kako Popović navodi, gajili ili iz prirode koristili: „češnjak (bijeli luk), čivulu (crni luk), kapulu (crveni luk), pamidoru (paradajz), raštanj i vrzot (crna zelja), glavato zelje (kupus u gravicama), krastavce, mladu fadžolu (boranija), fadžolu (pasulj), bob, biz (grašak), zućenicu, šparogu, sočivicu (leća) i balancane (patlidžan). Od usjeva šenicu (pšenica), rumetin (kukuruz), raž, ječam i ovas.“

Vasilije Mujo Spasojević, pisac i publicista iz Podgorice, sjeća se kazivanja svog djeda Šaleta, pripadnika vojske Crne Gore u vrijeme kralja Nikole koji je govorio: „Crnogorsku vojsku koja se kretala prema Hercegovini, u vrijeme poznate bitke na Vučjem dolu 1876. godine, predvodio je kralj Nikola. Kako se vojska rasula po jednom polju, kralj Nikola je posmatrao gladne vojnike i pitao ordonanse šta to oni rade. Dobio je odgovor da jedu listove jedne od poljskih trava. Čuvši to, kralj Nikola je tražio da i njemu donesu da proba. Iznenadeni kralj konstatovao je kako oni imaju dobar ukus. Na pitanje o kojoj je travi riječ, jedan od ordonansa je odgovorio da je to trava po imenu srijemuš. Na to je drugi ordonans rekao kako su listovi trave po imenu žućenica još ukusnija za jelo. Kralj Nikola je tada rekao da je za žućenicu još ranije čuo i da se od nje na dvoru spremaju razne salate kao prilog jelima.“

Novinar i publicista iz Tivta Mašan-Mašo Čekić u svom autorskom tekstu „Još jedna priča - Žućenica festa - Chicory, bitte“ piše:

„U bokeškoj gastronomskoj tradiciji stoljećima se koristi autohtono bilje. Iako nema puno izrazitih, samosvojnih bokeških specijaliteta, upravo divlje biljke daju specifičnost bokeškoj kužini. Takva jela, u kojima Bokelji obilato koriste trave kao glavne sastojke ili dodaju tek poneku balicu ljekovitog bilja autohtona su i pripadaju našoj gastronomskoj kulturnoj baštini. To bilje, najčešće sirotinjski pripremano, uz čašu domaćeg vina, ako je preteklo, posebno s proljeća i jeseni, bilo je gotovo sve na bokeškoj težačkoj trpezi. Među jestivim travama u Boki žućenica je nekrunisana carica, gotovo sveta trava hraniteljica. Obilježje je sirotinjskog stola, gladnih i ratnih godina, ali i specijalitet na trpezi u vrijeme blagdana kada se moglo priuštiti meso ili riba. Prisutna je u svim dijelovima Mediterana iako se kao jestiva ne koristi na isti način. Čak se može ustvrditi da je u Boki, Istri, nekim dalmatinskim otocima, Liguriji i Pulji u Italiji, Kataloniji u Španjolskoj, Grčkoj i Turskoj

oduvijek bila hrana, danas specijalitet, a u drugim sredinama tek se povremeno o njoj govori kao jestivoj biljci...“ [41].

Nadalje Čekić navodi: „Žućenica ima mnogobrojne rođake, a botaničari stalno stvaraju nove vrste. Ipak, pred dobrom, starom, divljom žućenicom (poznata je još i po tridesetak drugih imena) valja zastati. Tivćani su joj posvetili brošuru ‚Serenada od žućenici‘ koja je doživjela četiri izdanja, a stalno se traži primjerak više. Posvetili su joj i gastronomski festival – ‚Žućenica fest‘ koji se tijekom ove godine održava osmi put. Festival je specifičan po mnogo čemu, pa i vremenu održavanja - od prvih ljubičica do prvih zimskih bura. Za to vrijeme žućenica se može ubrati u našim đardinima, voćnjacima, vinogradima ili na nekoj livadi izvan grada, a sve češće i više se sije. A žućenice je vazda bilo na trpezi. I kada su gromovi pucali, kada je riba bježala u carstvo morskih dubina, kada se iz vlastitog dvorišta nije moglo, kada se plaćao danak i banak, kada su djeca plakala čekajući da se u bronzinu skuha šaka pljesnivog brašna, kada su bolesti desetkovale ljude i stoku, kada su krvarili potoci. Za nju se nije plaćalo. Ni molilo. Zaslužila je naša žućenica festival i mnogo više od toga. Organizacija žena Tivta i Radio Tivat, po ideji i scenariju Maša Čekića i Blaženke Vučurović, realiziraju gastro večeri i gastro predstave ‚P(i)jat od žućenice‘ u Tivtu, ali i u Budvi, Trebinju, Puli, Vrnjačkoj Banji, mađarskom Makou, poljskom Skočovu, Sremskoj Mitrovici, Podgorici, Risnu i drugim gradovima. Našla se naša žućenica u katalozima mnogobrojnih ruskih turističkih organizacija, na naslovnim stranama njemačkih gastro časopisa, u novinskim tekstovima objavljenim u još nekoliko europskih zemalja. U TV i radio emisijama, u Crnoj Gori i inozemstvu emitirano je više od 15 sati programa posvećenog Žućenica-festu. Stigle su nagrade i priznanja, među kojima i Zlatna medalja Novosadskog sajma na prezentaciju Žućenica-festa i nagrada TO Tivat za inovaciju. Programe ‚Žućenica festa‘ vidjelo je oko 30.000 posjetilaca kojima je podijeljeno više od 13.000 obroka s jelima od žućenice. Nije naški da budemo nezahvalni, a pri tome zakinuti za najljepše darove prirode. Zato priča o žućenici ima i nastavak, izvan trpeze...“ [41].

U okviru projekta „Razvoj turističkog itinerera u prekograničnoj oblasti između BiH i CG“ izdata je brošura „Najznačajniji nacionalni - autohtoni proizvodi na prekograničnom području Bosne i Hercegovine i Crne Gore“ u kojoj se navodi: „Žućenica ili cikorija je jedinstvena autohtona, primorska biljka, tamno zelene boje, koja se ručno bere na livadama ili padinama brda. To je zeljasta biljka, razgranatih listova, od koje se najviše i najčešće

prave salate. Najjednostavnija priprema je, da se žućenica dobro (ali ne previše) obari, dobro ohladi, iscijedi i začini bijelim lukom i maslinovim uljem. To je veoma jednostavan način pripreme salate od žućenice, ali se od ove biljke prave još mnogi ukusni specijaliteti. Žućenica je veoma značajana u Tivtu, a to potvrđuje informacija da se organizuje i festival posvećen toj biljci koji se održava svake godine u martu mjesecu“ [42].

Na osnovu iznijetog, a u skladu sa savremenom definicijom tradicionalne hrane, može se zaključiti da se žućenica može smatrati tradicionalnom hranom/sastojkom hrane u Crnoj Gori.

#### *4.1.2 Karakteristike staništa žućenice u Crnoj Gori*

Staništa na kojima je pronađena samonikla žućenica i na kojima je gajena, a sa kojih je vršeno uzimanje uzoraka, njihove koordinate i nadmoska visina dati su u Tabeli 7.

Zoganje je selo u najjužnijoj crnogorskoj opštini Ulcinj. Nalazi se u zaleđu Velike plaže. Odlikuje ga ravničarska do brežuljkasta konfiguracija terena. Osim površina pod zasadima, ostatak nenaseljenog prostora su većinom neobrađene livade.

Lokacija Tivat nalazi se u suburbanoj zoni ove opštine. Nenaseljeni dio zemljišta je većinom tipičan za primorje. Iskoristljive parcele zemljišta su terasastog tipa, djelimično pod zasadima vinove loze, agruma i drugog voća.

Lokacija uzorkovanja u Risnu je takođe suburbanog tipa. Nenaseljeno zemljište na ovom prostoru je brežuljkasto, većinom neobrađeno.

Podgor je visok planinski predio u Crmnici, opština Bar. Nalazi se na obroncima Paštrovačke gore, sa svih strana ograđen brdima. Neurbanizovano i neobrađivo zemljište je sačinjeno od manjih livada. Područje je karakterističnih klimatskih uslova. Nalazi se na prelazu između umjereno kontinentalne i mediteranske klime. Odlikuju ga vrlo topla ljeta i veoma često hladne zime.

Pričelje je selo koje jednim svojim dijelom pripada teritoriji glavnog grada Podgorice a drugim opštini Danilovgrad. Većinom je ravničarski kraj na obali rijeke Zete. Nenaseljeno zemljište je većim svojim delom neobrađeno. Predio karakteriše umjereno kontinentalna

klima sa evidentnim uticaja Mediterana. Za dolinu Zete u ovom dijelu njenog toka posebno su karakteristična izuzetno topla ljeta.

*Tabela 7. Pregled lokacija uzorkovanja, koordinate i nadmorska visina*

Lokacija	Koordinate	Nadmorska visina
Zoganje	41°57'0.38"N 19°16'48.06"E	27 m
Risan	42°30'59.79"N 18°41'45.83"E	17 m
Podgor	42°14'25.05"N 19°02'01.73"E	272 m
Tivat	42°25'0.31"N 18°43'8.03"E	13 m
Pričelje	42°28'33.87"N 19°15'9.03"E	48 m
Plavnica	42°17'42.95"N 19°12'55.28"E	11 m
Pljevlja	43°21'35.91"N 19°20'18.32"E	844 m
Komani	42°27'6.95"N 19°12'30.48"E	33 m
Šušanj	42° 6'29.87"N 19° 5'30.78"E	7 m

Plavnica je selo na teritoriji glavnog grada Podgorice u gradskoj opštini Golubovci. Nalazi se na samoj obali Skadarskog jezera. Nenaseljeni dio zemljišta je većinom pod zasadima. Livade na kojima je vršeno uzorkovanje većinom su namijenjene košenju.

Lokacija uzorkovanja na teritoriji opštine Pljevlja nalazi se na periferiji grada. Radi se o ravničarskom zemljištu na velikoj nadmorskoj visini. Jedina je lokacija koja predstavlja sjeverni region Crne Gore, iz razloga što je list žučenice u ovim predjelima jako slabo zastupljen kao mogući sastojak hrane kod lokalnog stanovništva.

Kultivisana žučenica je uzorkovana iz dva plastenika u kojima se jedino gaji u Crnoj Gori. Lokacije uzorkovanja su bile Komani i Šušanj.

Plastenik u selu Komani nalazi se u sjeverozapadnom dijelu glavnog grada Podgorica, dok se Plastenik na lokaciji Šušanj nalazi u urbanom dijelu opštine Bar-naselje Šušanj.

U ovom istraživanju je utvrđeno da žučenica raste i nalazi se kao samonikla na cijeloj teritoriji Crne Gore, posebno je rasprostranjena na lokalitetima primorskog područja, uglavnom na nižoj nadmorskoj visini, ali se sreće sve do 800-900 m nadmorske visine.

#### **4.3 Tradicionalna jela od lista žučenice u Crnoj Gori**

Iako se žučenica tradicionalno koristi u ishrani u primorskom i centralnom regionu Crne Gore, njena najveća zastupljenost u ishrani je kod stanovništva Boke Kotorske. Bokelji su žučenicu proglasili „nekrunisanom kraljicom trava“ i svake godine u vrijeme njene vegetacije posvećuju joj niz manifestacija. Najznačajnija od njih „Žučenica Fest“, koji se održava u Tivtu, svake godine okuplja veliki broj posjetilaca koji su u prilici da degustiraju nebrojeno mnogo različitih tradicionalnih jela. Ova jela brižno pripremaju vrijedne bokeške domaćice koje su recepte za specijalitete od žučenice naslijedile od svojih majki i baka. Nerijetko, svaka od njih doda i nešto svoje, tako da danas osim tradicionalnih slanin predjela, čorbi i jela, imamo priliku degustirati i torte, kolače, sladoled ili liker čiji je jedan od glavnih sastojaka upravo žučenica.

U Prilogu disertacije prikazan je način pripreme osam tradicionalnih jela od lista žučenice u kojima se on koristi svjež ili termički tretiran, i to četiri predjela, dvije čorbe, jedno glavno jelo i jedan umak (Tabela 8). Receptura za pripremu ovih jela transponovana je u svom izvornom obliku i sadrži jako puno lokalizama tradicionalnih za Boku Kotorsku [18, 43]. Stoga je na kraju svake od njih prikazano i značenje pojedinih pojmova.



Tabela 8. Odabrana tradicionalna jela od lista žučenice

Naziv jela	Vrsta jela	Način korišćenja lista žučenice
Kuvana žučenica sa jajima	salata	termički tretiran
Omlet od žučenice	predjelo	termički tretiran
Pita od kukuruznog brašna i žučenice	predjelo	termički tretiran
Kroketi od žučenice	predjelo	termički tretiran
Hladna čorba od žučenice	čorba	termički tretiran
Čorba od mlade žučenice	čorba	termički tretiran
Zapečena fažola sa žučenicom	glavno jelo	termički tretiran
Zeleni umak	prilog	svjež

Informacije o potrebnim sastojcima i načinu pripreme dokumentovane su u skladu sa protokolom razvijenim u evropskom projektu „Sustainable exploration of bioactive components from the Black Sea Area traditional foods“ (BaSEFood) [15] i obuhvataju:

1. Tabelarni prikaz sastojaka koji se sastoji od:

- a) naziva sastojaka i
- b) količine sastojaka na način kako se njihova mjera određuje u domaćinstvu (npr. čaša, šolja, prstohvat i sl.) i u jedinicama mase ili zapremine.

2. Detaljnu proceduru pripreme (korak-po-korak), uključujući:

- a) opis pojedinih faza pripreme i metode termičke obrade (kuvanje, pečenje, prženje i sl.),
- b) vrijeme pripreme (minuti),
- c) temperaturu pripreme kulinarskom praksom definisanu terminima niska (110-160 °C), srednja (160-200 °C) i visoka (200-240 °C) i
- d) fotografije pojedinih faza pripreme i fotografije gotovog jela.

3. Dijagram toka prikazan za svaki recept koji se sastoji od:

- a) svih koraka postupka pripreme,
- b) mogućnosti detaljnog praćenja rasporeda koraka pripreme i
- c) kritičnih tačaka pripreme i potrebnih količina sastojaka

Na slici 20. prikazane su fotografije sa festivala „Žučenica fest“ u Tivtu.



Slika 20. Festival „Žućenica fest“ Tivat

Slično istraživanje vršeno je u regionu Crnog mora u okviru projekta BaSeFood [44]. Ovo istraživanje obuhvatilo je 33 tradicionalna jela iz zemalja crnomorskog regiona (Bugarska, Gruzija, Rumunija, Ruska federacija, Turska i Ukrajina) u kojima je analiziran nutritivni sastav. Tradicionalna jela bila su podijeljena na grupe u zavisnosti od sastojaka koji u njima prevladavaju i to: žitarice i proizvodi od žitarica, povrće i proizvodi od povrća, voće i proizvodi od voća, uljarice i njihovi proizvodi, biljke, začini i aromatično bilje i niskoalkoholna ili bezalkoholna fermentisana hrana i pića biljnog porijekla.

U dijelu koji se odnosi na jela i pića od povrća i aromatičnih biljaka, osim uobičajenih povrtnarskih kultura (crni luk, bijeli luk, paradajz, paprika, celer, šargarepa, kupus) pojedina jela i pića u svom sastavu sadrže i samonikle biljke poput koprive, kao i razne aromatične biljke od kojih se pripremaju čajevi i pića i to: šarplaninski čaj (*Sideritis scardica* Griseb, zeleni čaj (*Camellia sinensis*), zova (*Sambucus nigra* L.) i kleka (*Juniperus comunis* L.).

#### **4.4 Rezultati analize nutritivnog profila u uzorcima listova samonikle i gajene žućenice**

##### *4.4.1 Osnovni nutritivni sastav i energetska vrijednost*

Na osnovu prethodnog prikaza upotrebe listova žućenice u pripremi jela može se zaključiti da se ova biljka koristi na način koji je najbliži korišćenju zelenog lisnatog povrća uobičajeno prisutnog u ishrani stanovništva u Crnoj Gori (spanać, blitva, zelena salata i sl.). Nutritivni sastav lisnatog povrća je složen i zavisi od više faktora među kojima

su pored vrste i sorte, veoma bitni klimatski uslovi, pedološke osobine zemljišta, primjenjene agrotehničke mjere i dr. Najvažnije nutritivne karakteristike zelenog lisnatog povrća su: visok sadržaj vode i niska energetska vrijednost, značajna količina mineralnih materija, ugljenih hidrata, vlakana i vitamina, a u malim količinama su prisutni masti i proteini. U zelenom lisnatom povrću prisutne su i nenutritivne biološki aktivne materije, kao što su fotosintetički pigmenti hlorofili i, karotenoidi, kao i ostali polifenoli, o čemu u literaturi ima dosta podataka [45, 46].

Većina do sada objavljenih podataka o nutritivnom sastavu žućenice odnosi se na korijen i sjeme [4, 47]. Razlog za ovo je činjenica da je korijen žućenice prije svega dobar izvor vlakana, dok se sjeme često koristi kao sastojak za proizvodnju hrane za životinje. U posljednje vrijeme pažnja istraživača usmjerena je i na list, većinom kultivisanih sorti ove biljke [6-8, 32, 48-50]. U Crnoj Gori ovo je prvo istraživanje na ovu temu. Pored utvrđivanja karakteristika nutritivnog sastava lista samonikle i gajene žućenice porijeklom iz Crne Gore, od interesa je i uporediti dobijene vrijednosti sa ostalim biljkama iz grupe zelenog lisnatog povrća. Na taj način se može ukazati na eventualne prednosti i/ili nedostatke korišćenja ove biljke u ishrani u odnosu na biljke koje se svakodnevno koriste.

U Tabeli 9 prikazani su rezultati analize sadržaja suve materije, pepela, sirove masti, ukupnih vlakana, proteina, dostupnih ugljenih hidrata, kao i procijenjena energetska vrijednost ispitivanih uzoraka lista žućenice. Pored sedam uzoraka samonikle žućenice uzorkovanih sa sedam lokaliteta koji teritorijalno pokrivaju sve djelove Crne Gore, analizirana su samo dva uzorka gajene žućenice iz razloga što je zastupljenost ove biljke u plasteničkoj proizvodnji još uvijek mala. Rezultati su predstavljeni po lokalitetima i kao srednje vrijednosti za sve samonikle i za sve gajene uzorke. Svaki prikazani pojedinačni rezultat je srednja vrijednost tri nezavisna određivanja izražen sa pripadajućom standardnom devijacijom.

Utvrđena vrijednost sadržaja suve materije iznosila je 12,4% u listovima samoniklih biljaka i 8,85% u listovima kultivisanih biljaka i ova uočena razlika između samoniklih i gajenih biljaka imala je statističku značajnost. Ukupni sadržaj mineralnih materija izražen kao sadržaj pepela bio je 1,36% za samonikle biljke i 1,16% za gajene biljke. Sadržaj sirovih masti u listovima samoniklih biljaka varirao je između 0,22 i 0,49%, dok je srednja vrijednost sadržaja masti u listovima gajenih biljaka iznosila 0,44%. Utvrđeni sadržaj masti

ukazuje da su listovi žučenice siromašan izvor biljnih lipida, što je u skladu sa opšte prihvaćenom činjenicom da je zeleno lisnato povrće hrana sa niskim sadržajem masti [51].

Utvrđeni sadržaj dijetnih vlakana u ispitivanim uzorcima je pokazao znatno variranje i to između 2,90 i 6,16%, što je u prosjeku predstavljalo oko 35% suve materije. Dobijeni rezultati pokazuju da biljke sa različitih lokacija imaju različit sadržaj ugljenih hidrata. Razlika u sadržaju ugljenih hidrata između samonikih i gajenih biljaka bila je takođe značajna (4,30% u listovima samoniklih biljaka, tj. 1,44% u listovima kultivisanih biljaka).

Tabela 9. Nutritivni sastav i energetska vrijednost listova *Cichorium intybus* L.\*

Lokacija	Suva materija	Pepeo	Sirova mast	Ukupna vlakna	Proteini	Dostupni ugljeni hidrati	Energetska vrijednost
	%	%	%	%	%	%	kcal/100 g
Samonikle biljke							
Zoganje	11,94±0,40 <sup>b</sup>	1,54±0,03 <sup>a</sup>	0,45±0,09 <sup>a</sup>	4,99±0,14 <sup>b</sup>	2,19±0,10 <sup>b</sup>	2,77±0,25 <sup>e</sup>	24
Risan	14,31±0,28 <sup>a</sup>	1,58±0,04 <sup>a</sup>	0,49±0,10 <sup>a</sup>	4,35±0,20 <sup>c</sup>	1,90±0,12 <sup>c</sup>	5,99±0,17 <sup>b</sup>	36
Podgor	11,83±0,73 <sup>bc</sup>	1,39±0,02 <sup>b</sup>	0,35±0,05 <sup>b</sup>	4,11±0,15 <sup>c</sup>	1,63±0,08 <sup>d</sup>	4,35±0,22 <sup>c</sup>	27
Tivat	11,00±0,34 <sup>d</sup>	1,37±0,04 <sup>b</sup>	0,41±0,11 <sup>a</sup>	3,01±0,16 <sup>e</sup>	1,89±0,14 <sup>c</sup>	4,32±0,26 <sup>c</sup>	29
Pričelje	14,47±0,19 <sup>a</sup>	1,42±0,04 <sup>b</sup>	0,45±0,10 <sup>a</sup>	3,39±0,14 <sup>d</sup>	2,78±0,06 <sup>a</sup>	6,43±0,38 <sup>a</sup>	41
Plavnica	11,46±0,72 <sup>c</sup>	1,20±0,05 <sup>c</sup>	0,33±0,14 <sup>b</sup>	3,27±0,14 <sup>de</sup>	2,75±0,06 <sup>a</sup>	3,90±0,14 <sup>d</sup>	30
Pljevlja	11,93±0,34 <sup>b</sup>	1,05±0,05 <sup>c</sup>	0,22±0,07 <sup>c</sup>	6,16±0,19 <sup>a</sup>	2,19±0,08 <sup>b</sup>	2,31±0,25 <sup>f</sup>	20
<i>Srednja vrijednost</i>	12,42±1,39	1,36±0,19	0,39±0,09	4,18±1,11	2,19±0,44	4,30±1,52	30±7
Gajene biljke							
Komani	9,48±0,18	1,23±0,02	0,48±0,06	4,29±0,15	2,16±0,11	1,32±0,19	18
Šušanj	8,21±0,09	1,08±0,04	0,39±0,10	2,90±0,11	2,28±0,11	1,56±0,16	19
<i>Srednja vrijednost</i>	8,85±0,90 <sup>#</sup>	1,16±0,11	0,44±0,06	3,60±0,98	2,22±0,08	1,44±0,14 <sup>#</sup>	19±1 <sup>#</sup>

\*rezultati su prikazani na 100 g svježeg uzorka i izraženi kao srednja vrijednost±SD tri nezavisna određivanja

# značajna razlika između samoniklih i kultivisanih biljaka, p<0,05

Rezultati označeni istim slovom (a, b, c, d, e, f) u istoj koloni se ne razlikuju značajno statistički, p<0.05

Najveći sadržaj proteina utvrđen je na lokaciji Pričelje (2,78%), dok je najniži sadržaj među samoniklim biljkama na lokaciji Podgor (1,63%). Statističko poređenje

utvrđenog sadržaja proteina pokazalo je da ne postoji značajna razlika između samoniklih i gajenih biljaka.

Utvrđeno je da postoji značajna razlika u sadržaju suve materije i ugljenih hidrata između listova samonikle i kultivisane žučenice ( $p < 0,05$ ). Kultivisane biljke su imale 30% manje suve materije nego samonikle, a sadržaj ugljenih hidrata kod divljih biljaka bio je tri puta viši u poređenju sa gajenim.

Pored razlika u sastavu samoniklih i gajenih biljaka, bilo je interesantno provjeriti da li lokacija sa kojih potiču analizirane samonikle biljke ima uticaja na nutritivni profil. Rezultati statističke analize (ANOVA) pokazali su da postoji značajna razlika u sadržaju većine nutrijenata, tačnije u sadržaju suve materije, pepela, sirove masti, ukupnih vlakana, proteina i dostupnih ugljenih hidrata u zavisnosti od lokacija uzorkovanja samoniklih biljaka.

U poređenju sa literaturnim podacima koji se odnose na vrste lisnatog povrća koje se najčešće konzumiraju u Crnoj Gori, kao što su npr. spanać (*Spinacia oleracea*) i zelena salata (*Lactuca sativa*), utvrđena srednja vrijednost suve materije analiziranih listova žučenice bila je 1,4 puta veća nego u spanaću, odnosno 2,5 puta veća nego u zelenoj salati [45, 52]. Razlog ovome je evidentna razlika u sadržaju dijetnih vlakana i ugljenih hidrata kada se vrši poređenje analiziranih uzoraka i ostalog zelenog lisnatog povrća. Takođe, utvrđena srednja vrijednost sadržaja proteina bila je za oko 25% veća nego kod zelene salate [53].

Na bazi procijenjenog nutritivnog sastava izračunata je energetska vrijednost jedne porcije svježih listova žučenice (100 g). Srednja vrijednost je iznosila 27 kcal/100 g, što je za 30% više nego u zelenoj salati [53]. Najveća energetska vrijednost iznosila je 41 kcal/100 g (Pričelje) a najbiža 18 kcal/100 g (Komani).

Dobijeni rezultati za sadržaj suve materije, pepela i proteina svježeg lista žučenice su u dobroj korelaciji sa rezultatima dobijenim za kultivisani žučenicu koja se koristi za ishrani životinja u Holandiji a u kojoj je utvrđen sadržaj suve materije 10,8-14,4%, pepela 12,7-15,1% i proteina 1,01-2,23% [54].

#### 4.4.2 Minerali

Analize sadržaj makro- i mikro-elemanata izvršene su u sirovima uzorcima. Od makroelemenata analiziran je sadržaj kalijuma, natrijuma, kalcijuma, magnezijuma i fosfora, a od mikroelemenata sadržaj bakra, cinka, gvožđa i mangana.

Rezultati utvrđenog sadržaja makro elemenata u devet ispitivanih uzoraka žučenice dati su u Tabeli 10.

Tabela 10. Sastav makroelemenata u listovima *Cichorium intybus* L.\*

Lokacija	Minerali				
	K	Na	Ca	Mg	P
	mg/100 g	mg/100 g	mg/100 g	mg/100 g	mg/100 g
Samonikle biljke					
Zoganje	445±5 <sup>b</sup>	49±2 <sup>bc</sup>	223±3 <sup>b</sup>	32±1 <sup>b</sup>	49±6 <sup>a</sup>
Risan	439±4 <sup>b</sup>	52±2 <sup>b</sup>	275±2 <sup>a</sup>	41±2 <sup>a</sup>	29±7 <sup>cef</sup>
Podgor	511±4 <sup>a</sup>	15±2 <sup>e</sup>	146±2 <sup>c</sup>	26±2 <sup>b</sup>	35±7 <sup>bc</sup>
Tivat	383±4 <sup>c</sup>	60±3 <sup>a</sup>	159±4 <sup>c</sup>	28±2 <sup>b</sup>	38±6 <sup>b</sup>
Pričelje	391±3 <sup>c</sup>	31±3 <sup>d</sup>	281±1 <sup>a</sup>	41±4 <sup>a</sup>	32±5 <sup>bde</sup>
Plavnica	336±3 <sup>d</sup>	45±2 <sup>c</sup>	149±1 <sup>c</sup>	25±2 <sup>bc</sup>	23±4 <sup>df</sup>
Pljevlja	311±4 <sup>e</sup>	11±1 <sup>e</sup>	89±1 <sup>d</sup>	20±2 <sup>c</sup>	33±5 <sup>bc</sup>
<i>Srednja vrijednost</i>	402±69	38±19	189±72	30±8	34±8
Gajene biljke					
Komani	383±5	29±2	88±2	24±2	23±4
Šušanj	327±3	9±2	72±2	17±2	20±3
<i>Srednja vrijednost</i>	355±40	19±14	80±11 <sup>#</sup>	21±5	22±2

\*rezultati su prikazani na 100 g svježeg uzorka i izraženi kao srednja vrijednost±SD tri nezavisna određivanja

# značajna razlika između samoniklih i kultiviranih biljaka,  $p < 0,05$

Rezultati označeni istim slovom (a, b, c, d, e, f) u istoj koloni se ne razlikuju značajno statistički,  $p < 0,05$

Svi uzorci imali su nizak sadržaj natrijuma (srednja vrijednost 34 mg/100 g), dok je sadržaj kalijuma bio relativno visok (srednja vrijednost 392 mg/100 g). Sadržaj kalcijuma je varirao u opsegu 72–281 mg/100 g. Utvrđeni sadržaj magnezijuma u svježim listovima žučenice bio je nizak i to u opsegu 17–41 mg/100 g, dok se sadržaj fosfora kretao od 20

mg/100 g u uzorku sa lokacije Šušanj do 49 mg/100 g u uzorku sa lokacije Zoganje. Izvršeno je poređenje dobijenih vrijednosti za sadržaj makroelemenata sa literaturnim podacima za njihov sadržaj u lisnatom povrću koje se najčešće koristi u ishrani u Crnoj Gori. Sadržaj kalijuma je bio za oko 40% veći nego kod zelene salate, dok je srednja vrijednost sadržaja kalcijuma (165 mg/100 g) bila slična onoj utvrđenoj za spanać, ali pet do deset puta veća nego kod zelene salate [53-55].

Dobijeni rezultati ukazuju da su listovi žučenice siromašan dijetarni izvor fosfora i magnezijuma, dok su kalcijum i kalijum prisutni u znatnim količinama, što je u dobroj korelaciji sa rezultatima dobijenim za organski gajene listove žučenice koje se na Novom Zelandu koristi kao hrana za životinje [56].

Rezultati sadržaja mikro elemenata u listu žučenice prikazani su u Tabeli 11.

Tabela 11. Sadržaj bakra, cinka, mangana i gvožđa u listovima *Cichorium intybus* L.\*

Lokacija	Minerali			
	Cu	Zn	Mn	Fe
	mg/100 g	mg/100 g	mg/100 g	mg/100 g
Samonikle biljke				
Zoganje	0,12±0,02 <sup>a</sup>	1,14±0,02 <sup>a</sup>	0,56±0,01 <sup>c</sup>	1,64±0,07 <sup>e</sup>
Risan	0,02±0,02 <sup>e</sup>	0,97±0,01 <sup>b</sup>	0,69±0,02 <sup>b</sup>	2,94±0,08 <sup>b</sup>
Podgor	0,08±0,02 <sup>c</sup>	0,82±0,02 <sup>c</sup>	0,53±0,01 <sup>c</sup>	1,71±0,06 <sup>e</sup>
Tivat	0,09±0,02 <sup>bc</sup>	0,77±0,01 <sup>c</sup>	0,70±0,02 <sup>b</sup>	2,21±0,07 <sup>c</sup>
Pričelje	0,08±0,01 <sup>c</sup>	0,96±0,02 <sup>b</sup>	1,07±0,03 <sup>a</sup>	4,51±0,09 <sup>a</sup>
Plavnica	0,10±0,01 <sup>b</sup>	0,63±0,02 <sup>d</sup>	0,41±0,01 <sup>d</sup>	1,99±0,05 <sup>d</sup>
Pljevlja	0,04±0,02 <sup>d</sup>	0,38±0,01 <sup>d</sup>	0,33±0,01 <sup>d</sup>	2,60±0,07 <sup>b</sup>
<i>Srednja vrijednost</i>	0,08±0,03	0,81±0,25	0,61±0,24	2,51±1,00
Gajene biljke				
Komani	0,05±0,02	0,22±0,01	0,26±0,01	1,60±0,06
Šušanj	0,03±0,02	0,18±0,01	0,36±0,01	1,80±0,07
<i>Srednja vrijednost</i>	0,04±0,01	0,20±0,03 <sup>#</sup>	0,31±0,07 <sup>#</sup>	1,70±0,14

\*rezultati su prikazani na 100 g svježeg uzorka i izraženi kao srednja vrijednost±SD tri nezavisna određivanja

<sup>#</sup> značajna razlika između samoniklih i kultivisanih biljaka, p<0,05

Rezultati označeni istim slovom (a, b, c, d, e, f) u istoj koloni se ne razlikuju značajno satistički, p<0.05

Sadržaj bakra u svježim listovima žučenice je bio niži i kretao se u opsegu 0,02–0,12 g/100 g. Srednja vrijednost sadržaja cinka bila je 0,68 mg/100 g.

Najniži (0,26 mg/100 g) i najviši (1,07 mg/100 g) utvrđeni sadržaj mangana bio je na lokaciji Komani odnosno Pričelje. Srednja vrijednost sadržaja gvožđa iznosila je 2,33 mg/100 g.

Utvrđena srednja vrijednost sadržaja cinka bila je oko sedam puta veća u listu žučenice nego u zelenoj salati. Takođe, žučenica je imala 30% više gvožđa, ali 50% manje bakra nego spanać [55, 57].

Sadržaj kalijuma, magnezijuma, fosfora, bakra i gvožđa nije pokazivao značajnu razliku između samoniklih i kultivisanih biljaka. S druge strane, utvrđeni sadržaj kalcijuma, cinka i mangana pokazao je bitnu razliku između divljih i gajenih biljaka ( $p < 0,05$ ). Samonikle biljke su bile 2,5 puta bogatije kalcijumom, 4 puta bogatije cinkom i 2 puta bogatije manganom u odnosu na kultivisane.

Analizom varijanse utvrđeno je da se po sadržaju svih analiziranih makro- i mikroelemenata samonikle biljke značajno razlikuju u zavisnosti od lokaliteta uzorkovanja ( $p < 0,05$ ). U uzorcima iz plasteničke proizvodnje sadržaj svih ispitivanih minerala, osim natrijuma, bio je ujednačen. Iako se uticaj lokaliteta na sadržaj minerala u biljkama podrazumijeva, nema mnogo radova koji to naučno potvrđuju. Da je taj uticaj značajan potvrđeno je u radovima Petersona i sar. (pšenica), Forster i sar. (banane), Di Giacomo i sar. (krompir) [58-60].

Iako je poznato da sadržaj minerala umnogome zavisi od brojnih faktora, kao što su, pored lokaliteta i uslovi životne sredine i starost biljke, dobijeni rezultati ukazuju da samonikle biljke mogu imati mnogo korisniji mineralni profil od kultivisanih, što može biti dobar uvod u dalja istraživanja.

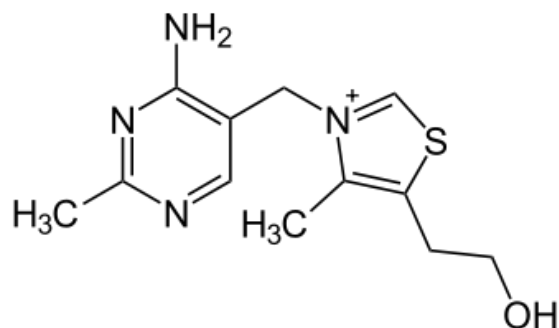
#### 4.4.3 Vitamini

Vitamini su organska jedinjenja neophodna za normalan rast, razvoj i reprodukciju. Ljudsko tijelo ih ne može sintetisati, te se stoga moraju unositi putem hrane. Najveći broj aktiviranih vitamina u ćelijama učestvuje u ćelijskom metabolizmu kao kofaktori enzima (faktori koji aktiviraju enzime vezujući se za njih) i nazivaju se biološki katalizatori. Zeleno

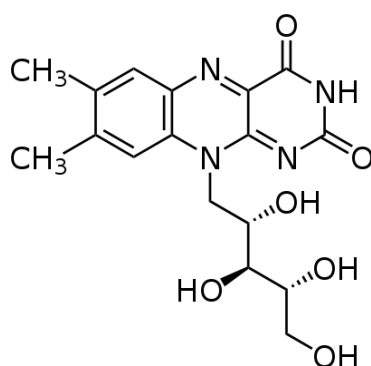


lisnato povrće je prepoznato kao dobar izvor hidrosolubilnih vitamina, prije svega vitamina C.

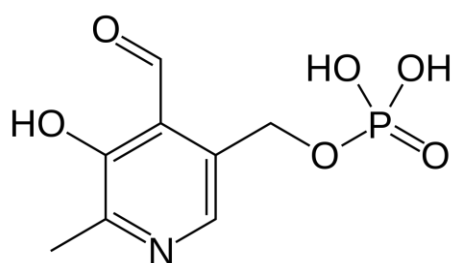
Na slici 21. prikazane su hemijske strukture vitamina B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub> i B<sub>6</sub>, koji su određivani u uzorcima lista žučenice.



(a)



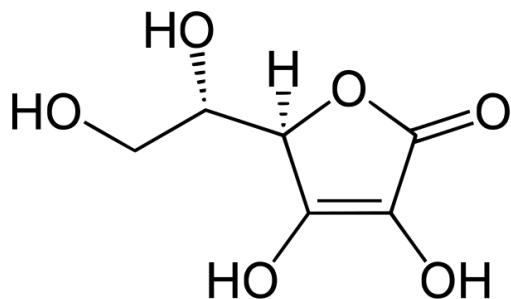
(b)



(c)

Slika 21. Hemijske strukture vitamina B grupe: (a) vitamin B<sub>1</sub> (tiamin), (b) vitamin B<sub>2</sub> (riboflavin) i (c) vitamin B<sub>6</sub> (pirodoksin)

Hemijska struktura vitamina C prikazana je na slici 22.



Slika 22. Hemijska struktura vitamina C

Dobijeni rezultati koji predstavljaju sadržaj vitamina B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, B<sub>6</sub> i vitamina C prikazani su u Tabeli 12.

Srednja vrijednost sadržaja vitamina B<sub>1</sub> u svježim listovima žučenice iznosila je 138 µg/100 g, dok je sadržaj vitamina B<sub>2</sub> bio u opsegu 85–181 µg/100 g, a vitamina B<sub>6</sub> 137–253 µg/100 g. Sadržaj vitamina C varirao je od 3,2 do 6,0 mg/100 g.

Rezultati dobijeni za sadržaj vitamina B<sub>6</sub> pokazuju vrijednosti veće za oko dvadeset puta u odnosu na objavljene podatke za spanać i oko sto puta veće kada je u pitanju zelena salata [61]. Utvrđeni sadržaj vitamina C u listovima žučenice bio je oko četrdeset puta veći u odnosu na zelenu salatu, ali i četiri puta niži u poređenju sa spanaćem [61].

Interesantno je zapažanje da sadržaj navedenih vitamina ne pokazuje postojanje značajnih razlika između samoniklih i kultivisanih biljaka, dok je porijeklo značajno uticalo na sadržaj minerala (kalcijum, cink i mangan) i ukupnih ugljenih hidrata. Međutim, kao i kod minerala zapažena je statistički značajna razlika u sadržaju vitamina kod samoniklih biljaka u zavisnosti od lokaliteta na kojima su uzorkovane.

Neki zdravstveni radnici ali i potrošači preferiraju samonikle biljke u odnosu na kultivisane zbog činjenice da intenzivna proizvodnja biljaka može dovesti do nižeg sadržaja određenih punovrijednih sastojaka. Nekoliko istraživanja na ovu temu potvrdilo je ovu hipotezu u slučaju kada su ispitivana eterična ulja i polifenoli [62, 63]. Rezultati obavljenih ispitivanja na predmetnim uzorcima potvrđuju hipotezu da listovi divljih biljaka imaju bolji nutritivni profil od listova kultivisanih ne samo kad su u pitanju nenutritivni sastojci, već i kad je riječ o nekim osnovnim nutrijentima, prije svega mineralima.

Tabela 12. Sadržaj vitamina B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub> i B<sub>6</sub> i vitamina C u listovima žučnice\*

Lokacija	Vitamini			
	B <sub>1</sub>	B <sub>2</sub>	B <sub>6</sub>	C
	µg/100 g	µg/100 g	µg/100 g	mg/100 g
Samonikle biljke				
Zoganje	82±1 <sup>e</sup>	85±1 <sup>e</sup>	141±2 <sup>e</sup>	6,0±0,3 <sup>a</sup>
Risan	138±1 <sup>c</sup>	119±1 <sup>c</sup>	162±1 <sup>c</sup>	4,6±0,4 <sup>b</sup>
Podgor	127±1 <sup>d</sup>	99±2 <sup>d</sup>	161±2 <sup>c</sup>	3,5±0,3 <sup>dg</sup>
Tivat	216±1 <sup>a</sup>	116±1 <sup>c</sup>	149±1 <sup>d</sup>	3,5±0,3 <sup>de</sup>
Pričelje	82±2 <sup>e</sup>	84±1 <sup>e</sup>	137±1 <sup>f</sup>	3,9±0,4 <sup>c</sup>
Plavnica	160±2 <sup>b</sup>	182±1 <sup>a</sup>	253±1 <sup>a</sup>	3,2±0,1 <sup>efg</sup>
Pljevlja	129±1 <sup>d</sup>	129±1 <sup>b</sup>	179±2 <sup>b</sup>	3,2±0,2 <sup>df</sup>
<i>Srednja vrijednost</i>	133±46	116±34	169±40	4,0±1,0
Gajene biljke				
Komani	106±3	120±1	160±2	3,6±0,1
Šušanj	207±6	104±1	165±1	3,3±0,1
<i>Srednja vrijednost</i>	157±71	112±11	163±3	3,5±0,2

\*rezultati su prikazani na 100 g svježeg uzorka i izraženi kao srednja vrijednost±SD tri nezavisna određivanja

# značajna razlika između samoniklih i kultivisanih biljaka, p<0,05

Rezultati označeni istim slovom (a, b, c, d, e, f) u istoj koloni se ne razlikuju značajno statistički, p<0.05

#### 4.4.4 Potencijal lista žučnice kao izvora minerala i vitamina u ishrani

Kao i sve druge esencijelne nutrijente i vitamine i minerale je potrebno unositi hranom svakodnevno u adekvatnim količinama kako ne bi došlo do pojave simptoma njihovog deficita. Količine koje su svakodnevno potrebne organizmu nazivaju se preporučenim dnevnim unosom. Preporučeni dnevni unos (PDU) predstavlja prosječan dnevni unos neke hranljive supstance koji je dovoljan da zadovolji potrebe gotovo svih (97-98%) zdravih osoba. Vrijednosti PDU se utvrđuju od strane nacionalnih ili internacionalnih tijela i organizacija za svaki pojedinačni nutrijent i razlikuju se u zavisnosti od uzrasta, pola

i fiziološkog stanja pojedinaca. Kada se utvrđuje nutritivni potencijal neke namirnice uobičajeno je da se procijeni u kojoj mjeri bi ta namirnica mogla zadovoljiti potrebe za pojedinim nutrijentima.

Tabela 13. prikazuje poređenje utvrđenog sadržaja makro i mikro elemenata i vitamina u jednoj porciji lista žučenice (100 g svježeg) sa vrijednostima preporučenog dnevnog unosa (PDU) za odrasle osobe.

Posmatrajući količine analiziranih vitamina i minerala u jednoj porciji svježih listova žučenice (100 g) izražene kao procenat PDU može se zaključiti da bi sadržaj kalijuma, kalcijuma, mangana i gvožđa zadovoljio >15% PDU odraslih osoba, što je uslov da hrana može nositi nutritivnu izjavu „dobar izvor...” [64]. Doprinos jedne porcije žučenice dnevnom unosu fofora i vitamina C je mali, ispod 5%.

*Tabela 13. Sadržaj makro i mikro elemenata i vitamina u poređenju sa preporučenim dnevnim unosom (PDU\*)*

Makro elementi	PDU, %	Mikro elementi	PDU, %	Vitamini	RDI, %
K	19,2	Zn	6,8	B1	12,5
Ca	20,6	Cu	8,0	B2	8,2
Mg	7,5	Mn	27,5	B6	11,9
P	4,4	Fe	16,6	C	4,8

\*-Regulation (EC) No 1169/2011 of the European Parliament

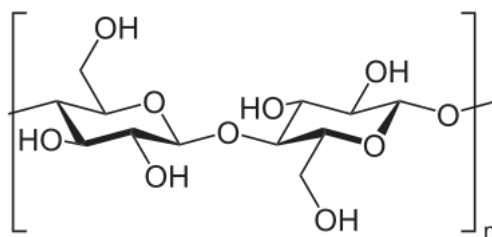
#### 4.4.5 Profil dijetnih vlakana

Dijetna vlakna su polimeri ugljenih hidrata sa tri ili više monomernih jedinica, koji se ne apsorbuju u tankom crijevu. Vlakna se na osnovu fizičkih karakteristika dijele na:

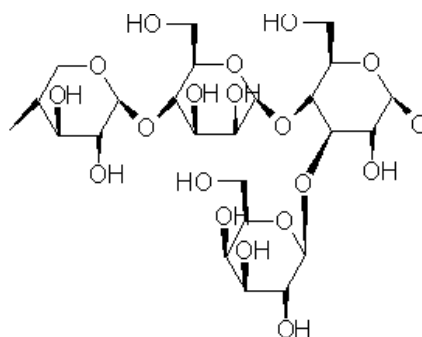
- rastvorljiva i nerastvorljiva u vodi,
- viskozna i neviskozna i
- fermentabilna i nefermentabilna.

U rastvorna vlakna se ubrajaju: oligosaharidi (dobri izvori su leguminoze, bijeli luk, crni luk), vlaknaste komponente pojedinih vrsta voća, povrća i leguminoza, glukani (ovas i ječam) i pentoze (raž). U nerastvorna vlakna spadaju: celuloza, hemiceluloza i lignin (slika

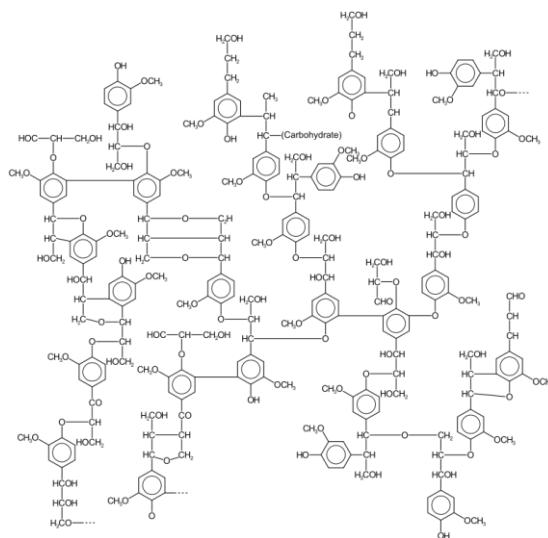
23), kao i rezistentni skrob. Poznavanje profila vlakana može biti od veoma velikog značaja jer njihovo pravilno uključivanje u ishranu dovodi do regulisanja statusa lipida u krvi, rada crijeva i eliminacije pojedinih štetnih sastojaka.



(a)



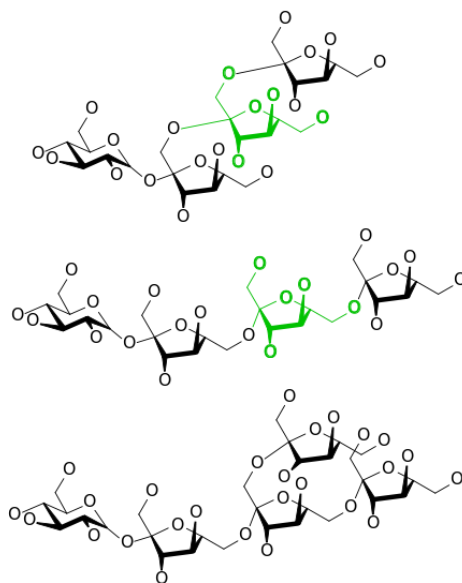
(b)



(c)

Slika 23. Hemijske strukture određivanih nerastvornih vlakana: (a) celuloza, (b) hemiceluloza i (c) lignin

Na slici 24. prikazana je hemijska struktura lignina.



Slika 24. Hemijska struktura fruktana

Rezultati analize sadržaja vlakana (ukupna vlakna, nerastvorna vlakna, rastvorna vlakna, hemiceluloza, lignin i celuloza i fruktana) prikazani su u Tabeli 14. Srednja vrijednost utvrđenog sadržaja ukupnih vlakana iznosila je 4,2 g/100 g u listovima samoniklih biljaka i 3,6 g/100 g u listovima kultivisanih biljaka. Odnos sadržaja nerastvornih i rastvornih vlakana bio je 1,6-4,4:1. Takav odnos je uobičajen i kod zelenog lisnatog povrća [45]. Glavni oblici u kojima su nerastvorna vlakna bila prisutna u ispitivanim uzorcima su hemiceluloza i celuloza (srednja vrijednost sadržaja 1% odnosno 1,19%), dok je sadržaj lignina bio prilično nizak (oko 0,2%).

Fruktan je veoma zastupljen kao frakcija vlakana kada je riječ o cjelokupnoj biljci, ali je njegov sadržaj u listovima nizak (srednja vrijednost približno 0,1%). Inače, fruktan je polimer fruktoze i značajan je depo ugljenih hidrata kod velikog broja biljnih vrsta. Poznato je da je sadržaj inulina i ostalih fruktana u korijenu žućenice 15-20%. Ova jedinjenja čine više od 70% sadržaja ukupnih ugljenih hidrata u svježem korijenu ove biljke [65]. Fruktan iz žućenice je poznat kao inulin i korijen ove biljke zajedno sa korijenom jerusalimske artičoke (čičoka) predstavlja važan izvor inulina za industrijsku proizvodnju. S obzirom da

se fruktan ne vari u tankom crijevu zbog  $\beta(2-1)$  veza između molekula fruktoze, on spada u rastvornu frakciju dijetnih vlakana. Poznato je nekoliko pozitivnih zdravstvenih efekata fruktana i inulina. U slučaju kada se konzumiraju njihove adekvatne količine oni utiču na povećane frekvencije stolice, imaju koristan uticaj na status lipida krvi, a takođe i probiotski efekat na način što stimulišu rast korisnih bifidobakterija u crijevima [66].

Tabela 14. Profil vlakana u listovima samonikle i gajene žučenice\*

Lokacija	Sadržaj (g/100 g)						
	Ukupna vlakna	Nerstvorna vlakna	Rastvorna vlakna	Hemiceluloza	Lignin	Celuloza	Fruktan
Samonikle biljke							
Zoganje	5,0±0,1 <sup>b</sup>	3,7±0,1 <sup>a</sup>	1,26±0,15 <sup>b</sup>	1,14±0,11 <sup>bc</sup>	0,24±0,10	1,60±0,25 <sup>a</sup>	0,23±0,05 <sup>a</sup>
Risan	4,3±0,2 <sup>c</sup>	3,3±0,3 <sup>b</sup>	1,10±0,09 <sup>c</sup>	1,10±0,20 <sup>bc</sup>	0,20±0,12	1,49±0,17 <sup>a</sup>	0,06±0,03 <sup>ef</sup>
Podgor	4,1±0,2 <sup>c</sup>	2,9±0,2 <sup>c</sup>	1,17±0,14 <sup>bc</sup>	1,31±0,16 <sup>ac</sup>	0,17±0,08	1,31±0,22 <sup>ab</sup>	0,15±0,07 <sup>b</sup>
Tivat	3,0±0,2 <sup>e</sup>	2,1±0,2 <sup>d</sup>	0,93±0,13 <sup>d</sup>	1,07±0,18 <sup>bc</sup>	0,09±0,14	0,77±0,26 <sup>cd</sup>	0,07±0,02 <sup>cd</sup>
Pričelje	3,4±0,1 <sup>d</sup>	2,8±0,2 <sup>c</sup>	0,64±0,12 <sup>e</sup>	1,51±0,19 <sup>a</sup>	0,11±0,06	1,06±0,38 <sup>bc</sup>	0,12±0,04 <sup>bc</sup>
Plavnica	3,3±0,1 <sup>de</sup>	2,1±0,2 <sup>d</sup>	1,14±0,12 <sup>bc</sup>	1,34±0,22 <sup>ab</sup>	0,19±0,06	0,41±0,14 <sup>d</sup>	0,07±0,01 <sup>ce</sup>
Pljevlja	6,2±0,2 <sup>a</sup>	3,8±0,3 <sup>a</sup>	2,35±0,11 <sup>a</sup>	1,56±0,19 <sup>a</sup>	0,21±0,08	1,56±0,25 <sup>a</sup>	0,07±0,02 <sup>bdef</sup>
<i>Srednja vrijednost</i>	4,2±0,1	3,0±0,1	1,23±0,02	1,29±0,04	0,17±0,03	1,17±0,08	0,11±0,02
Gajene biljke							
Komani	4,3±0,2	3,2±0,2	1,08±0,10	0,80±0,16	0,19±0,08	1,11±0,19	0,10±0,03
Šušanj	2,9±0,1	2,2±0,1	0,67±0,08	0,58±0,12 <sup>#</sup>	0,18±0,11	1,30±0,16	0,06±0,02
<i>Srednja vrijednost</i>	3,6±0,1	2,7±0,1	0,88±0,01	0,69±0,03 <sup>a</sup>	0,19±0,02	1,21±0,02	0,08±0,01

\*rezultati su prikazani na 100 g svježeg uzorka i izraženi kao srednja vrijednost±SD tri nezavisna određivanja

# značajna razlika između samoniklih i kultivisanih biljaka,  $p < 0,05$

Rezultati označeni istim slovom (a, b, c, d, e, f) u istoj koloni se ne razlikuju značajno satistički,  $p < 0,05$

Na žalost, iako je korijen žučenice bogat izvor fruktana, listovi su veoma oskudni u sadržaju ugljenih hidrata sa prebiotskim djelovanjem. Dobijeni rezultati su pokazali da je udio fruktana u rastvornim vlaknima samo oko 4%, a u ukupnim oko 2%. Ranija istraživanja su takođe pokazala da listovi žučenice sadrže fruktan u niskim koncentracijama iako su prezentovani rezultati sadržaja fruktana bili nešto veći [48].

Dobijeni rezultati profila vlakana jasno pokazuju da samonikle biljke sadrže veće količine skoro svih frakcija vlakana u poređu sa onima iz plasteničke proizvodnje. Međutim, statistički značajna razlika postoji samo u slučaju sadržaja hemiceluloze ( $p < 0,05$ ).

S druge strane, samonikle biljke se međusobno statistički razlikuju u zavisnosti od lokacije na kojoj rastu po sadržaju svih analiziranih frakcija vlakana izuzev lignina. Lokacija uzorkovanja utiče na sadržaj ukupnih vlakana kako kod divljih tako i kod gajenih biljaka, što potvrđuje širok raspon rezultata (3,0-6,2% ukupnih vlakana u listovima samonikle žučenice i 2,9-4,3% u listovima gajene).

U poređenju sa ostalim najčešće konzumiranim zelenim lisnatim povrćem listovi žučenice su značajno bolji izvor vlakana. Rezultati dobijeni za količinu celuloze su bili oko dvadeset puta veći nego oni publikovani za blitvu i čak četrdeset puta veći od onih koji se odnose na zelenu salatu. Kada se posmatra sadržaj hemiceluloze, može se izvesti zaključak da su divlje biljke oko dva puta bogatije u poređenju sa spanaćem, 3,5 puta u poređenju sa blitvom i 7,5 puta u poređenju sa zelenom salatom [67].

Analiza ukupnog sadržaja vlakana kao i sadržaj pojedinih frakcija vlakana (najčešće inulinske) bili su predmet nekih od do sada objavljenih istraživanja korijena, lista i sjemena žučenice [48, 68]. Stoga možemo reći da je ovo prvo istraživanje u kojem je utvrđen cjelokupan profil vlakana lista ove biljke.

#### 4.4.6 Sastav masnih kiselina

Povrće je generalno loš dijetarni izvor lipida, što je potvrđeno i kod lista žučenice u kojima je sadržaj lipida bio u prosjeku 0,40 g/100 g. I pored malih količina, lipidi povrća spadaju u biološki vrijedne lipide zbog visoke zastupljenosti polinezasićenih masnih kiselina. Zato je značajno, pored sadržaja lipida, utvrditi i sastav pojedinih masnih kiselina u namirnicama.

Osnovna podjela masnih kiselina je na:

- zasićene masne kiseline (najznačajnije: palmitinska, miristinska, laurinska, stearinska kiselina) i
- nezasićene masne kiseline.

Nezasićene masne kiseline se dijele na:



- mononezasićene masne kiseline (najznačajnija: oleinska kiselina) i
- polinezasićene masne kiseline (PMK).

Polinezasićene masne kiseline se dalje dijele na dvije podklase:

- $\omega$ -3 polinezasićene masne kiseline (najznačajnije  $\alpha$ -linolenska i arahidonska kiselina) i
- $\omega$ -6 polinezasićene masne kiseline (najznačajnije linolna, eikozapentaenska i dokozaheksaenska kiselina).

Masne kiseline različitog stepena nezasićenosti imaju različite uloge u organizmu. Dok se zasićene masne kiseline smatraju potencijalno štetnim zbog visokog aterogenog potencijala, unos mono- i poli-nezasićenih masnih kiselina se podstiče zbog brojnih fizioloških funkcija i povoljnih zdravstvenih efekata [69]. Pored toga,  $\omega$ -3 i  $\omega$ -6 polinezasićene masne kiseline se ne mogu sintetisati u organizmu, za razliku od zasićenih i mononezasićenih masnih kiselina, te se smatraju esencijenim nutrijentima i moraju se u odgovarajućoj količini unositi hranom. Unos ukupnih masti Svjetska zdravstvena organizacija ograničava na 30% od dnevno potrebne energije. Zasićene masne kiseline treba da budu zastupljene do najviše 10% od ukupne dnevne potrebe energije. Polinezasićene masti ( $\omega$ -6 i  $\omega$ -3) treba da čine 3-7% dnevnog unosa energije, a ostatak potreba za mastima mora se dopuniti sa mononezasićenim mastima.

Sastav masnih kiselina u listovima divlje i kultivisane žučenice prikazan je Tabeli 15 i izražen je kao procenat u odnosu na ukupne masne kiseline.

Ispitivanjem je identifikovano i kvantifikovano deset različitih masnih kiselina u lipidima lista žučenice. Utvrđeno je da su najzastupljenije masne kiseline bile  $\alpha$ -linolenska (C18:3n-3), linolna (C18:2n-6c) i palmitinska (C16:0) kiselina (slika 25). One su činile više od 95% ukupnih masnih kiselina. Ovi rezultati su u dobroj korelaciji sa rezultatima utvrđenim za listove kultivisane žučenice u Sloveniji i Holandiji [49, 71].

$\alpha$ -linolenska kiselina je masna kiselina kojom listovi žučenice najviše obiluju i njen sadržaj je varirao od 60,0 do 75,3% od ukupnih masnih kiselina kod samoniklih biljaka, dok je srednja vrijednost kod kultivanih biljaka iznosila 75,8% od ukupnih masnih kiselina.

Tabela 15. Sastav masnih kiselina u listovima samonikle i gajene žučenice\*

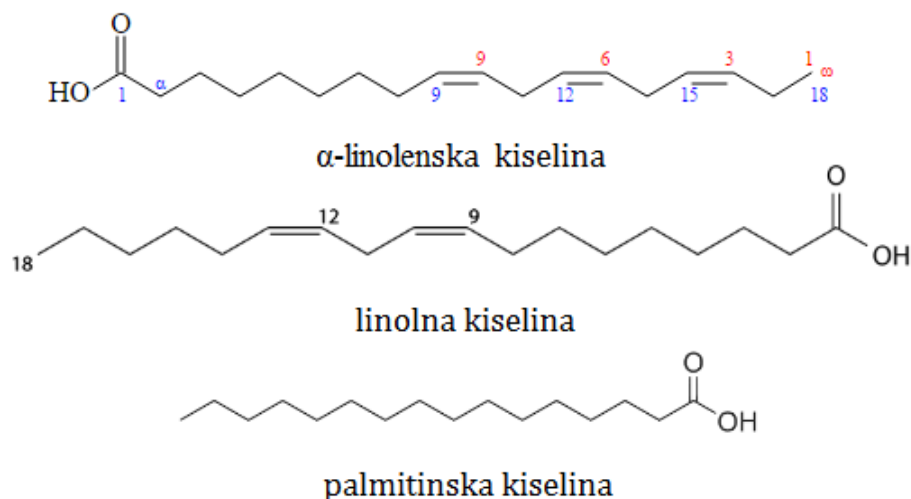
%	Samonikle biljke ( <i>Cichorium intybus</i> L.)							Gajene biljke ( <i>Cichorium intybus</i> L.)			
	Zoganje	Risan	Podgor	Tivat	Pričelje	Plavnica	Pljevlja	Srednja vrijednost	Komani	Šušanj	Srednja vrijednost
C14:0	0,5±0,1	0,2±0,1	0,4±0,1	0,2±0,1	0,3±0,1	0,3±0,1	0,2±0,1	0,3±0,1	0,4±0,1	0,2±0,1	0,3±0,1
C15:0	nd	nd	0,2±0,1	nd	nd	0,2±0,1	nd	-	nd	nd	-
C16:0	17,5±0,6 <sup>a</sup>	9,6±0,5 <sup>d</sup>	13,6±0,7 <sup>b</sup>	10,0±0,3 <sup>d</sup>	12,6±0,4 <sup>c</sup>	12,2±0,7 <sup>c</sup>	10,2±0,4 <sup>d</sup>	12,2±0,5	10,2±0,5	10,4±0,1	10,3±0,3
C18:0	2,0±0,1	0,7±0,1	1,0±0,1	0,8±0,2	0,8±0,2	1,1±0,2	1,4±0,3	1,1±0,2	0,9±0,2	0,6±0,2	0,8±0,2
C18:1n-9c	2,8±0,2	0,8±0,2	1,1±0,2	0,7±0,2	1,4±0,4	1,1±0,2	1,2±0,4	1,3±0,3	0,7±0,1	0,6±0,1	0,7±0,1
C18:2n-6c	15,7±0,4 <sup>b</sup>	12,1±0,6 <sup>d</sup>	17,4±0,8 <sup>a</sup>	14,4±0,5 <sup>c</sup>	15,5±0,8 <sup>b</sup>	15,5±0,5 <sup>b</sup>	13,8±0,8 <sup>c</sup>	14,9±0,6 <sup>a</sup>	11,0±0,6	11,2±0,8	11,1±0,7 <sup>a</sup>
C18:3n-3	60,0±0,8 <sup>e</sup>	75,3±0,9 <sup>c</sup>	64,8±1,0 <sup>d</sup>	72,5±1,1 <sup>b</sup>	68,1±1,2 <sup>c</sup>	67,7±0,9 <sup>c</sup>	71,9±0,8 <sup>b</sup>	68,6±1,0 <sup>a</sup>	75,5±1,0	76,0±1,2	75,8±1,1 <sup>a</sup>
C20:0	0,2±0,1	0,2±0,1	0,2±0,1	0,2±0,1	0,2±0,1	0,2±0,1	0,2±0,1	0,2±0,1	0,2±0,1	0,2±0,1	0,2±0,1
C22:0	0,5±0,1	0,4±0,1	0,5±0,1	0,5±0,1	0,5±0,1	0,7±0,2	0,3±0,1	0,5±0,1	0,5±0,1	0,3±0,1	0,4±0,1
C24:0	0,8±0,2	0,7±0,2	0,8±0,2	0,7±0,1	0,7±0,1	0,9±0,1	0,8±0,2	0,8±0,1	0,6±0,1	0,5±0,1	0,6±0,1

\*-izraženo kao relativni procenat ukupnih masnih kiselina

# značajna razlika između samoniklih i kultivisanih biljaka,  $p < 0,05$

Rezultati označeni istim slovom (a, b, c, d, e, f) u istoj koloni se ne razlikuju značajno satistički,  $p < 0,05$

miristinska kiselina (C14:0); pentadekanska kiselina (C15:0); palmitinska kiselina (C16:0); stearinska kiselina (C18:0); oleinska kiselina (C18:1n-9c); linolna kiselina (C18:2n-6c);  $\alpha$ -linolenska kiselina (C18:3n-3); arahidonska kiselina (C20:0); behenska kiselina (C22:0); lignocerinska kiselina (C24:0); nd: nije detektovano.



Slika 25. Najzastupljenije masne kiseline u listu žučenice

Sadržaj linolne kiseline kretao se od 11,0% u uzorku iz Komana do 17,4% u uzorku iz Podgora. Oleinska kiselina (C18:1n-9c) je bila jedina detektovana mononezasićena masna kiselina u svim ispitivanim uzorcima listova žučenice (1,3% u samonikloj i 0,7% u gajenoj žučenici).

Statistički značajna razlika između listova divljih i gajenih biljaka utvrđena je za sadržaj linolne i  $\alpha$ -linolenske kiseline ( $p < 0,05$ ). Na osnovu dobijenih rezultata takođe se moglo zaključiti da su samonikle biljke bogatije po sadržaju linolne kiseline, dok su one iz plastenika posjedovale veće količine  $\alpha$ -linolenske kiseline. Takođe, evidentna razlika i sadržaju palmitinske, linolne i  $\alpha$ -linolenske kiseline zabilježena je između samoniklih biljaka sa različitih lokaliteta.

Odnos nezasićenih i zasićenih kiselina kod divljih biljaka je bio 6:1, dok je kod kultivisanih isti odnos bio 7:1.

$\alpha$ -linolenska kiselina kao  $\omega$ -3 polinezasićena masna kiselina ima puno nutritivnih i zdravstvenih benefita: doprinosi sniženju nivoa LDL holesterola, smanjuje nivo triglicerida i agregaciju trombocita, vazokonstrikciju i ventrikularnu aritmiju. Povećanje njenog unosa ishranom veoma često se sugerše zbog povoljnih efekata [71].

U savremenoj ishrani odnos  $\omega$ -6 i  $\omega$ -3 masnih kiselina je prilično visok i kreće se od 4:1 (Japan) do čak 15-17:1 (Ujedinjeno kraljevstvo, sjeverna Evropa, SAD). U prošlosti je ovaj odnos bio mnogo niži i to 1-2:1 u Grčkoj prije 1960. godine, a čak samo 0,79:1 u doba

palelolita [72]. Ova pojava je posljedica sve većeg smanjenja konzumiranja ribe bogate  $\omega$ -3 kiselinama, kao i upotrebe hrane za životinje bogate žitaricama koje sadrže  $\omega$ -6 kiseline što utiče ne proizvodnju mesa bogatog ovim kiselinama, a siromašnog u  $\omega$ -3 kiselinama. Ishrana koja je previše bogata  $\omega$ -6 masnim kiselinama dovodi se u vezu sa povećanjem viskoznosti krvi, povećanim rizikom od vazospazma i vazokonstrikcije i smanjenim vremenom krvarenja. Uravnotežen odnos unosa  $\omega$ -6 i  $\omega$ -3 masnih kiselina je važna odrednica za razvoj mozga i smanjenje rizika od koronarne bolesti srca, hipertenzije, kancera, dijabetesa, artritisa, i drugih autoimunih i eventualno neurodegenerativnih bolesti.

Lipidi listova biljaka obično sadrže značajne količine  $\omega$ -3  $\alpha$ -linolenske kiseline koja ulazi u sastav hloroplastnih membrana, tako da je ovo još jedan razlog za njihovo redovno uključivanje u svakodnevnu ishranu. Rezultati obavljenih istraživanja pokazuju da listovi samoniklih biljaka sadrže znatno veće količine ovih kiselina u odnosu na konvencionalno zeleno lisnato povrće [72-74], što je svoju potvrdu našlo i u ovom istraživanju. Odnos  $\omega$ -6 i  $\omega$ -3 masnih kiselina u listovima samoniklih biljaka iznosio je u prosjeku 0,22:1, dok je kod onih gajenih u plasteniku bio 0,14:1.

U poređenju sa literaturnim podacima o sastavu masnih kiselina najčešće konzumiranih vrsta lisnatog povrća, žućenica porijeklom iz Crne Gore je bogatija po sadržaju  $\alpha$ -linolenske kiseline u odnosu na zelenu salatu za više od 20% [75], a u odnosu na spanać za 40% [76].

#### 4.4.7 Pigmenti

Pigmenti su supstance koje daju boju biljkama. Primarni pigmenti koji se javljaju u biljkama su hlorofili i karotenoidi, akumulirani u plastide, i antocijani i betalaini, koji su rastvoreni u vakuolarnoj tečnosti.

Flavonoidi i karotenoidi su najčešće prisutni kao rastvoreni u osnovnim biljnim pigmentima.

Svaka od ovih grupa jedinjenja pokazuje svoje prisustvo davanjem cvijeću, voću i listovima različite nijanse zelene, crvene, ljubičaste, žute i narandžaste boje.

Biljni pigmenti su od velikog značaja u industriji hrane gdje se najčešće koriste kao prirodne boje. Pigmenti takođe imaju i veliki značaj u ishrani, jer je upravo boja hrane jedan od osnovnih faktora koji je čini prihvatljivom za potrošača.

Potencijalna fiziološka uloga pigmenata ogleda se u njihovom antioksidativnom djelovanju. Tako su karotenoidi, kao jedna od najzastupljenijih grupa pigmenata u biljkama, veoma važni u ishrani jer predstavljaju izvor vitamina A i antioksidanasa.

Identifikovane i kvantifikovane su tri klase pigmenata u listu žučenice i to: ksantofili, hlorofili i karoteni (Tabela 16 i 17). Analiza pigmenata je vršena u liofilizovanom materijalu ali su rezultati prikazani na vlažnu masu.

*Tabela 16. Pigmenti (lutein, violaksantin, anteraksantin i neoksantin) u listovima samonikle i gajene žučenice\**

Lokacija	Sadržaj (mg/100 g)				
	Lutein	Violaksantin	Anteraksantin	VAZ**	Neoksantin
Samonikle biljke					
Zoganje	7,0±0,5 <sup>f</sup>	3,0±0,4 <sup>c</sup>	0,25±0,04 <sup>a</sup>	3,2±0,2 <sup>b</sup>	3,3±0,2 <sup>d</sup>
Risan	10,7±0,9 <sup>a</sup>	5,2±0,5 <sup>b</sup>	0,14±0,02 <sup>bc</sup>	5,4±0,4 <sup>b</sup>	5,4±0,5 <sup>a</sup>
Podgor	9,5±0,6 <sup>bd</sup>	3,1±0,4 <sup>c</sup>	0,11±0,02 <sup>bc</sup>	3,2±0,3 <sup>b</sup>	3,5±0,2 <sup>cd</sup>
Tivat	10,3±0,6 <sup>ab</sup>	3,5±0,3 <sup>c</sup>	0,10±0,02 <sup>c</sup>	3,6±0,2 <sup>b</sup>	4,9±0,4 <sup>a</sup>
Pričelje	9,6±0,6 <sup>bc</sup>	6,5±0,6 <sup>a</sup>	0,29±0,05 <sup>a</sup>	6,8±0,4 <sup>a</sup>	4,0±0,3 <sup>bc</sup>
Plavnica	8,9±0,6 <sup>cde</sup>	6,3±0,6 <sup>a</sup>	0,15±0,04 <sup>bc</sup>	6,5±0,4 <sup>a</sup>	4,0±0,3 <sup>bc</sup>
Pljevlja	9,5±0,6 <sup>be</sup>	5,5±0,5 <sup>b</sup>	0,16±0,05 <sup>b</sup>	5,7±0,3 <sup>b</sup>	4,2±0,4 <sup>b</sup>
<i>Srednja vrijednost</i>	9,4±0,6	4,7±0,5	0,17±0,03 <sup>a</sup>	4,9±0,3	4,2±0,3 <sup>a</sup>
Gajene biljke					
Komani	13,1±0,2	5,8±0,5	0,05±0,01	5,8±0,3	6,6±0,6
Šušanj	11,9±0,2	3,3±0,3	0,06±0,02	3,3±0,2	6,5±0,7
<i>Srednja vrijednost</i>	12,5±0,2	4,6±0,4	0,05±0,01 <sup>a</sup>	4,6±0,2	6,6±0,7 <sup>a</sup>

\*rezultati su prikazani na 100 g svježeg uzorka i izraženi kao srednja vrijednost±SD tri nezavisna određivanja

\*\*sadržaj ksantofil cikličnih pigmenata (violaksantin, anteraksantin, zeaksantin)

# značajna razlika između samoniklih i kultivisanih biljaka, p<0,05

Rezultati označeni istim slovom (a, b, c, d, e, f) u istoj koloni se ne razlikuju značajno statistički, p<0.05

Karotenoidi su žuti, narandžasti i crveni pigmenti rastvorljivi u mastima i široko prisutni u biljkama, voću i povrću. Karotenoidi pripadaju velikoj grupi izoprenoidnih jedinjenja. Osnovna gradivna jedinica je izopren, koji ne postoji slobodan već se kao izopentenil-pirofosfat ugrađuje u karotenoide. Mogu se klasifikovati kao karoteni, koji se sastoje od ugljenika i vodonika, a uvođenjem hidroksilne grupe u molekulu dobijaju se ksantofili. Karotenoidi su antioksidativni nutrijenti koji djeluju uglavnom kao sekundarni antioksidanti vezujući singlet kiseonik. U odsustvu singlet kiseonika karotenoidi mogu spriječiti oksidaciju vezivanjem slobodnih radikala [77]. Karotenoidi su dobri sinergisti sa tokoferolom.  $\alpha$ -tokoferol i  $\beta$ -karoten zajednički štite ćelijsku membranu od oksidativnog oštećenja.  $\alpha$ -tokoferol može zaštititi karotenoide od oksidacije, dok s druge strane karotenoidi regenerišu  $\alpha$ -tokoferol prenosom elektrona na  $\alpha$ -tokoferolski ostatak uzrokujući ponovno nastajanje  $\alpha$ -tokoferola [78].

Tabela 17. Pigmenti (hlorofol a, hlorofil b, feofoton a, feofitin b i  $\beta$ -karoten) u listovima samonikle i gajene žučnice\*

Lokacija	Sadržaj (mg/100 g)				
	Hlorofil a	Hlorofil b	Feofintin a	Feofintin b	$\beta$ -karoten
Samonikle biljke					
Zoganje	45,0±0,9 <sup>f</sup>	13,7±0,9 <sup>f</sup>	1,6±0,2 <sup>c</sup>	20,1±0,4 <sup>b</sup>	3,7±0,5 <sup>c</sup>
Risan	97,2±1,3 <sup>a</sup>	30,2±1,0 <sup>a</sup>	2,1±0,1 <sup>b</sup>	13,4±0,3 <sup>c</sup>	6,1±0,7 <sup>a</sup>
Podgor	74,0±1,1 <sup>e</sup>	23,4±1,0 <sup>de</sup>	2,1±0,2 <sup>b</sup>	19,8±0,2 <sup>b</sup>	6,2±0,6 <sup>a</sup>
Tivat	77,6±1,0 <sup>d</sup>	28,2±1,0 <sup>b</sup>	2,4±0,4 <sup>a</sup>	22,9±0,4 <sup>a</sup>	6,1±0,7 <sup>a</sup>
Pričelje	92,5±1,2 <sup>b</sup>	25,5±1,0 <sup>c</sup>	1,7±0,1 <sup>c</sup>	10,4±0,2 <sup>d</sup>	5,8±0,4 <sup>ab</sup>
Plavnica	84,3±1,0 <sup>c</sup>	24,1±1,0 <sup>ce</sup>	0,1±0,1 <sup>d</sup>	8,7±0,2 <sup>e</sup>	6,2±0,5 <sup>a</sup>
Pljevlja	77,9±1,2 <sup>e</sup>	24,2±1,1 <sup>cd</sup>	1,7±0,2 <sup>c</sup>	10,4±0,3 <sup>d</sup>	4,8±0,5 <sup>b</sup>
<i>Srednja vrijednost</i>	78,4±0,1	24,2±1,0	1,7±0,2	15,1±0,3	5,6±0,6
Gajene biljke					
Komani	115,0±1,3	36,9±0,9	2,2±0,2	13,9±0,9	8,2±0,5
Šušanj	107,9±1,5	36,0±0,9	0,6±0,1	3,5±0,7	6,5±0,6
<i>Srednja vrijednost</i>	111,5±1,4 <sup>#</sup>	36,4±0,9 <sup>#</sup>	1,4±0,2	8,7±0,8	7,4±0,6

\*rezultati su prikazani na 100 g svježeg uzorka i izraženi kao srednja vrijednost±SD tri nezavisna određivanja

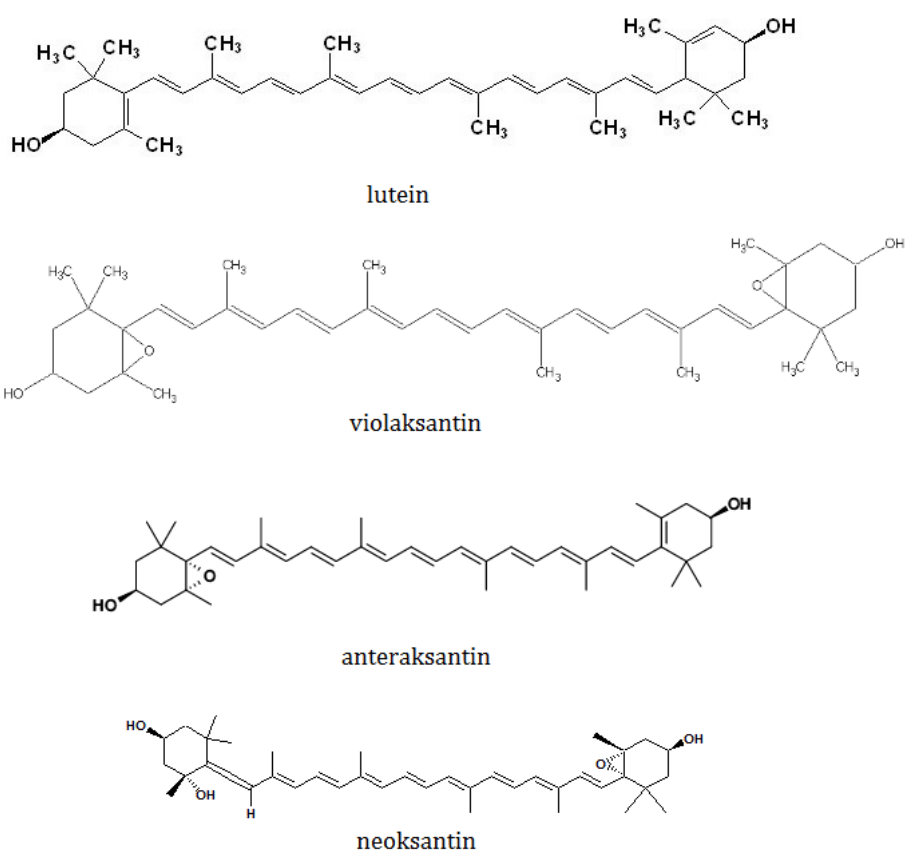
\*\*sadržaj ksantofil cikličnih pigmenata (violaksantin, anteraksantin, zeaksantin)

# značajna razlika između samoniklih i kultivisanih biljaka,  $p < 0,05$

Rezultati označeni istim slovom (a, b, c, d, e, f) u istoj koloni se ne razlikuju značajno statistički,  $p < 0,05$

Četiri pigmenta iz grupe ksantofila - lutein, violaksantin, anteraksantin i neoksantin (slika 26) identifikovani su i kvantifikovani u listovima žučenice. Zeaksantin nije nađen ni u jednom uzorku.

Na osnovu utvrđene koncentracije, glavni ksantofil bio je lutein i predstavljao je 50% ukupnih ksantofila, što je u dobroj korelaciji sa rezultatima istraživanja vršenim u Sloveniji na uzorcima zelenog lisnatog povrća gajenog na zatvorenom, među kojim se nalazila i žučenica, a u kojima je udio luteina u ukupnoj količini ksantofila iznosio 48% [32]. Najniži sadržaj luteina bio je u žučenici iz Zoganja (7,0 mg/100 g) a najveći je utvrđen na lokaciji Komani (13,1 mg/100 g). Lutein je označen kao glavni ksantofil prisutan u samonikloj i kultivisanoj žučenici u južnim krajevima Italije [8], ali su količine utvrđene u tim biljkama bile znatno niže (0,8-3,0 mg/100 g).



Slika 26. Ksantofilni pigmenti u listu žučenice: lutein, viloaksantin, anteraksantin i neoksantin

Sadržaj ksantofilnih cikličnih pigmenata – VAZ (violaksantin, anteraksantin i zeaksantin) u analiziranim uzorcima lista žučenice varirao je u 3,2-6,8 mg/100 g. Najzastupljeniji ciklični pigment bio je violaksantin, dok je udio anteraksantina bio samo 0,9-7,8% u ukupnom sadržaju VAZ-a. Statistički značajna razlika između divljih i gajenih biljaka utvrđena je za sadržaj anteraksantina ( $p < 0,05$ ). Srednja vrijednost sadržaja neoksantina, koji nije VAZ pigment, iznosila je 4,2 mg/100 g u listovima samoniklih biljaka i 6,6 g/100 g u listovima kultivisanih biljaka. U ovom slučaju takođe je utvrđena značajna statistička razlika između samoniklih i gajenih biljaka ( $p < 0,05$ ). Utvrđena je značajna razlika za sve pigmente sadržane u listovima samoniklih biljaka u zavisnosti od lokacije uzorkovanja.

Radi bolje procjene nutritivnog potencijala žučenice, upoređen je sadržaj ovih pigmenata sa povrćem koje važi za njihov najbolji izvor u ishrani. Peršun i kelj su označeni u literaturi kao najbolji dijetarni izvori luteina. U odnosu na ove biljne vrste sadržaj luteina u žučenici bio je 5 do 10 puta niži [80]. Međutim, u poređenju sa literaturnim podacima dobijeni rezultati za sadržaj luteina u listovima žučenice su bili dva puta veći nego u spanaću i čak šezdeset puta veći nego u zelenoj salati [79].

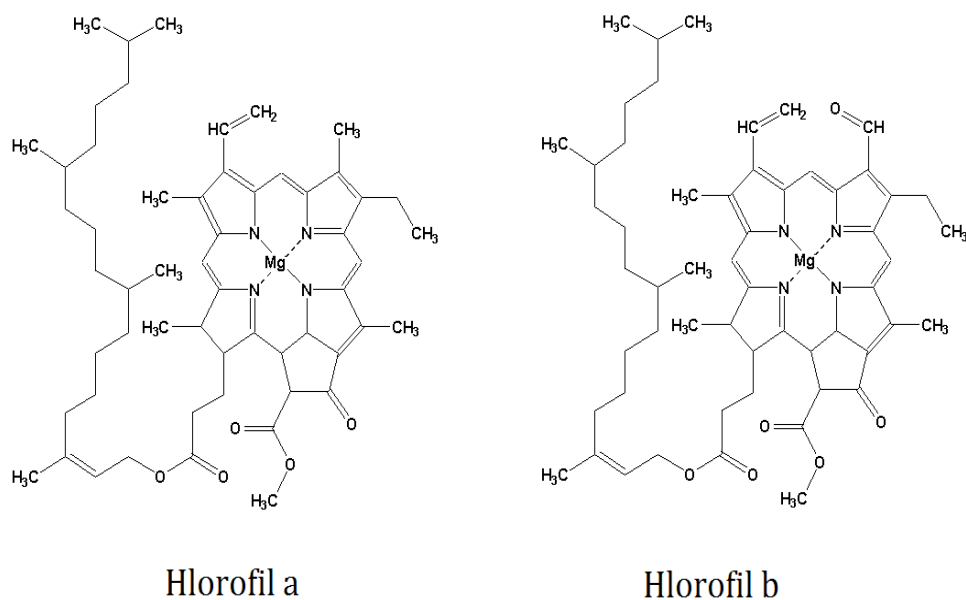
Dijetarni karotenoidi, posebno ksantofili, privlače pažnju naučnika zbog svojih karakterističnih bioloških aktivnosti, uključujući anti-alergijske, anti-kancerogene i one koje utiču na gojaznost. Lutein, kao jedan od glavnih ksantofila prisutnih u zelenom lisnatom povrću, poznat je po tome što se selektivno akumulira u makuli retine kod ljudi [81]. Kao antioksidans [82, 83] i kao svijetlo-plavi filter [84] lutein može da zaštiti oko od oksidativnog stresa, što može biti povezano sa staračkom makularnom degeneracijom i kataraktom.

Daljom analizom pigmenata u listu žučenice utvrđeno je da je odnos hlorofila a i hlorofila b (slika 27) sličan u svim analiziranim uzorcima, s tim da je njihov sadržaj znatno varirao (hlorofil a od 45,0-115,0 mg/100 g, a hlorofil b 13,7-36,9 mg/100 g). Rezultati analize sadržaja hlorofila a i hlorofila b pokazali su da postoji statistička razlika između samoniklih i gajenih biljaka, pri čemu su gajene biljke bogatije od samoniklih. Rezultati su takođe pokazali da je značajna količina hlorofila a i hlorofila b konvertovana u feofitin a i feofoton b (slika 28), najvjerovatnije zbog procesa liofilizacije tokom pripreme uzoraka za analizu.

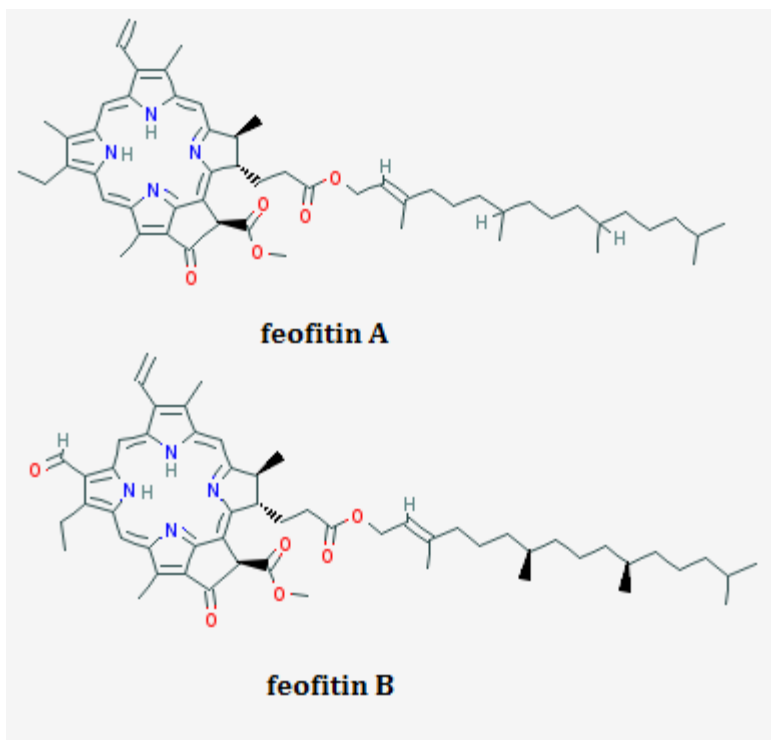


Hlorofil daje specifičnu boju listovima zelenih biljaka i njegov sadržaj je povezan sa potencijalom fotosinteze što daje informaciju o fiziološkom statusu biljke. Postoje indicije da hlorofil može imati važnu ulogu u prevenciji raznih bolesti, povezanih sa antioksidativnim stresom i pojedinim kontaminantima iz životne sredine, kao što su karcinom, kardiovaskularne bolesti i druge hronične bolesti [85, 86]. Pretpostavljeni mehanizam dejstva hlorofila odgovoran za supresiju *in vitro* mutagenih efekata pojedinih kontaminanata iz životne sredine može biti zadržavanje kancerogenih molekula [87].

U poređenju sa zelenom salatnom žučenicom je imala sedam puta veći sadržaj hlorofila a i hlorofila b. Dobijeni rezultati su potvrdili sličnost žučenice i spanaća kada je sadržaj hlorofila a i hlorofila b u pitanju [88].

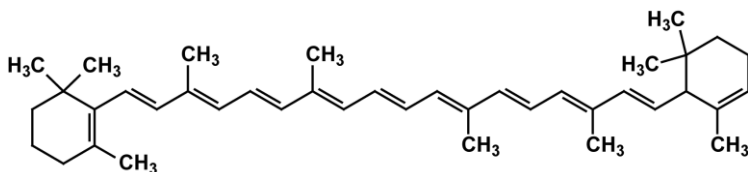


Slika 27. Hemijska struktura hlorofila a i hlorofila b



Slika 28. Hemijska struktura feofitina a i feofitina b

$\beta$ -karoten (slika 29) je nađen u svim uzorcima (3,7–8,2 mg/100 g), dok je sadržaj  $\alpha$ -karotena bio ispod granice kvantifikacije. Ove vrijednosti su veoma slične sa rezultatima istraživanja vršenim u Italiji [7]. U poređenju sa spanaćem i blitvom listovi žučenice sadrže 10-30% odnosno 500% više  $\beta$ -karotena [79, 89].



Slika 29. Hemijska struktura  $\beta$ -karotena

$\beta$ -karoten je najpoznatije jedinjenje iz grupe karotenoida. Karotenoidi su prirodni prekursori vitamina A.  $\beta$ -karoten je najzastupljeniji predstavnik grupe karotenoida, sadrži 40 ugljenikovih atoma i 9 konjugovanih dvostrukih veza. Pokazuje maksimum apsorpcije u vidljivom spektru pri  $\sim 450$  nm što rezultira narandžastom do crvenom bojom ovog jedinjenja. Smatra se da je glavna funkcija  $\beta$ -karotena u ljudskom organizmu konverzija u

vitamin A (6  $\mu\text{g}$   $\beta$ -karotena = 1  $\mu\text{g}$  vitamina A). Ovaj vitamin je važan za brojne funkcije u ljudskom organizmu, posebno za normalan rast i razvoj, funkcionisanje imunog sistema i vid. Dnevni unos  $\beta$ -karotena široko varira, većina ljudi konzumira 1-2 mg/dan iako u rijetkim slučajevima može iznositi i 10 mg/dan. Najviši unos je postignut u prehrani vegana i vegetarijanaca [90].

Povećani unos hrane bogate  $\beta$ -karotenom u svakodnevnoj ishrani može biti jedna od strategija za poboljšanje statusa vitamina A u zamjenu za unos sintetičkog vitamina A [91]. Na osnovu podataka dobijenih za sadržaj  $\beta$ -karotena zaključuje se da konzumiranje 100 g žučenice obezbjeđuje čak 135% preporučenog dnevnog unosa (PDU) vitamina A.

#### *4.4.8 Ukupni polifenoli, ukupni flavonoidi, hlorogenska i kafena kiselina*

Fenolna jedinjenja su veoma rasprostranjeni proizvodi sekundarnog metabolizma biljaka i za njih se uglavnom vezuje antioksidativno dejstvo biljnih ekstrakata. Fenolna jedinjenja se po svojoj strukturi veoma razlikuju, od jednostavnih molekula, kao što su fenolne kiseline do visoko kondenzovanih jedinjenja kao što su tanini. U biljkama su ova jedinjenja pretežno konjugovana sa jednim ili više molekula šećera, pa pokazuju aktivnost kako u hidrofobnim, tako i u lipofilnim sistemima. Najzastupljenija fenolna jedinjenja su: fenolne kiseline (derivati benzoeve i cimetine kiseline), flavonoidi, dihidrohalkoni, izoflavoni, flavan-3-oli, antocijani, proantocijanidini, tanini, itd. Do danas je poznato priližno 8.000 polifenolnih molekula.

U biljnom svijetu polifenoli imaju ulogu u pigmentaciji, rastu, reprodukciji i odbrani od patogena i predatora zahvaljujući svom adstringentnom djelovanju i fitoaleksinskom učinku. Adstringentno djelovanje je posljedica reakcije polifenola sa proteinima prisutnim u pljuvački zbog čega dovode do trpkog ukusa i osjećaja stezanja u ustima te time odbijaju predatore. Ukoliko je biljka napadnuta od strane patogena, najčešće gljivica, proizvodi spektar polifenolnih jedinjenja koji se nazivaju fitoaleksini i koji pokazuju antivirusno, antibakterijsko i antiinsekticidno djelovanje. Takođe, oni predstavljaju vrlo značajne komponente ishrane ljudi zahvaljujući širokom spektru bioloških aktivnosti [92, 93]. Polifenoli pokazuju antioksidativno djelovanje tako što neutrališu slodobne radikale koji nastaju u organizmu kao posljedica ćelijskog metabolizma i time sprječavaju nastanak oštećenja u organizmu koja mogu dovesti do pojave patoloških stanja [94]. Prema

rezultatima brojnih istraživanja, ova jedinjenja pored antioksidativnih posjeduju i antimutagena, antikancerogena, anti-inflamatorna, antiulkusna i antimikrobna svojstva, a takođe smanjuju rizik od pojave kardiovaskularnih oboljenja [94-98].

U poređenju sa klasičnim nutrijentima kao što su vitamini i minerali, polifenoli ne predstavljaju supstance potrebne za vitalne tjelesne funkcije i za sada nisu poznati simptomi koje izaziva deficit polifenola u ishrani, te se stoga često nazivaju nenutrijentima. Polifenoli se ishranom najčešće unose putem voća, povrća, mahunarki, vina i čaja. Jednostavne fenolne kiseline čine trećinu ukupnog unosa polifenola dok flavonoidi zauzimaju preostale dvije trećine [92].

Količina polifenola u biljkama može značajno varirati zbog različitih faktora, kao što su sorta, sastav tla i uslova gajenja, a takođe starost biljke i rukovanje poslije berbe. Kao sekundarni metaboliti ova jedinjenja su široko zastupljena u povrću, uključujući i žućenicu [49].

U Tabeli 18 dati su rezultati utvrđenog sadržaja ukupnih polifenola (TPC), ukupnih flavonoida (TFC), hlorogenske i kafene kiseline u listovima samonikle i gajene žućenice.

Sadržaj ukupnih polifenola (TPC) i ukupnih flavonoida (TFC) u različitim uzorcima žućenice varirao je od 0,65 do 3,73 mg GAE/g odnosno 1,57-4,42  $\mu$ mol CE/g, redom. Sadržaj flavonoida pratio je sadržaj polifenola u svim uzorcima. Rezultati su pokazali da su biljke koje su rasle na različitim lokacijama imale različit sadržaj TPC i TFC. Sličan opseg vrijednosti utvrđen je za sadržaj TPC u populaciji „Catalogna“ (*C. Intybus*) u radu D'Acunza i sar. [7].

S druge strane, utvrđena srednja vrijednost za sadržaj ukupnih polifenola je niža od rezultata objavljenih u istraživanjima u Turskoj i Poljskoj [9, 48], ali i znatno veća od rezultata za sve kultivisane sorte ove biljke koje se gaje u Sloveniji i Italiji [6, 8].

Rezultati dobijeni za sadržaj flavonoida su pokazali veće vrijednosti u našim uzorcima u odnosu na žućenicu koja je bila predmet isptivanja u Italiji [8].

Tabela 18. Sadržaj ukupnih polifenola (TPC), ukupnih flavonoida (TFC), hlorogenske i kafene kiseline u listovima samonikle i gajene žučenice \*

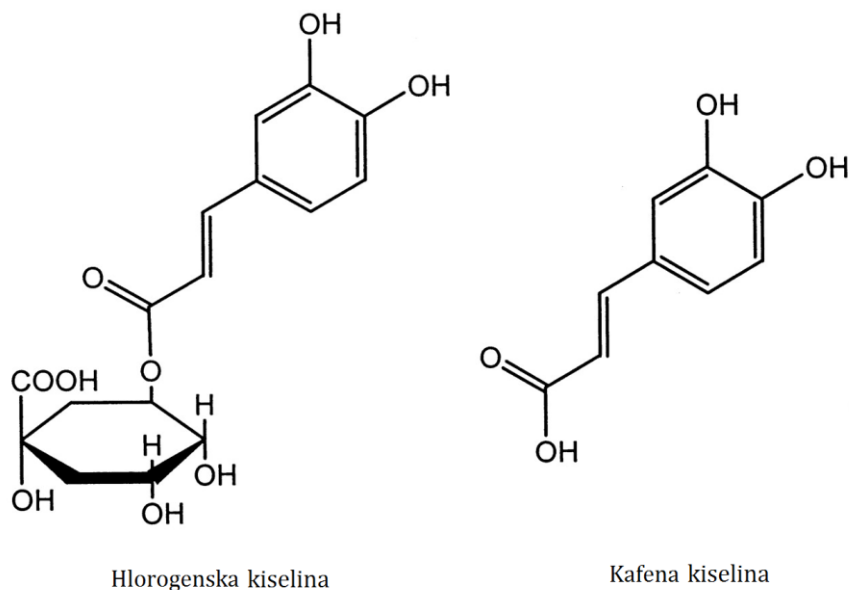
Lokacija	TPC (mg GAE/g)	TFC ( $\mu$ M CE/g)	Hlorogenska kiselina ( $\mu$ g/100 g)	Kafena kiselina ( $\mu$ g/100 g)
<b>Samonikle biljke</b>				
Zoganje	3,73 $\pm$ 0,04 <sup>a</sup>	4,42 $\pm$ 0,01 <sup>a</sup>	1034 $\pm$ 18 <sup>a</sup>	7,0 $\pm$ 0,6 <sup>a</sup>
Risan	1,17 $\pm$ 0,02 <sup>d</sup>	2,54 $\pm$ 0,12 <sup>e</sup>	251 $\pm$ 9 <sup>f</sup>	3,2 $\pm$ 0,1 <sup>d</sup>
Podgor	2,90 $\pm$ 0,08 <sup>b</sup>	3,81 $\pm$ 0,01 <sup>b</sup>	908 $\pm$ 14 <sup>b</sup>	6,6 $\pm$ 0,1 <sup>a</sup>
Tivat	1,45 $\pm$ 0,02 <sup>c</sup>	2,67 $\pm$ 0,03 <sup>d</sup>	437 $\pm$ 9 <sup>d</sup>	4,6 $\pm$ 0,8 <sup>bc</sup>
Pričelje	1,45 $\pm$ 0,03 <sup>c</sup>	3,00 $\pm$ 0,09 <sup>c</sup>	440 $\pm$ 10 <sup>d</sup>	4,4 $\pm$ 0,6 <sup>bc</sup>
Plavnica	1,15 $\pm$ 0,02 <sup>d</sup>	2,50 $\pm$ 0,02 <sup>e</sup>	378 $\pm$ 10 <sup>e</sup>	3,1 $\pm$ 0,8 <sup>d</sup>
Pljevlja	1,05 $\pm$ 0,02 <sup>e</sup>	2,29 $\pm$ 0,04 <sup>f</sup>	526 $\pm$ 8 <sup>c</sup>	3,8 $\pm$ 0,5 <sup>cd</sup>
<i>Srednja vrijednost</i>	1,84 $\pm$ 0,03	3,03 $\pm$ 0,05	568 $\pm$ 4	4,7 $\pm$ 0,3
<b>Gajene biljke</b>				
Komani	0,82 $\pm$ 0,01	2,01 $\pm$ 0,03	104 $\pm$ 4	2,1 $\pm$ 0,5
Šušanj	0,65 $\pm$ 0,01	1,57 $\pm$ 0,02	104 $\pm$ 6	1,4 $\pm$ 0,6
<i>Srednja vrijednost</i>	0,74 $\pm$ 0,01 <sup>#</sup>	1,79 $\pm$ 0,01 <sup>#</sup>	104 $\pm$ 1 <sup>#</sup>	1,7 $\pm$ 0,5 <sup>#</sup>

\*rezultati su prikazani na 100 g svježeg uzorka i izraženi kao srednja vrijednost $\pm$ SD tri nezavisna određivanja

# značajna razlika između samoniklih i kultivisanih biljaka,  $p < 0,05$

Rezultati označeni istim slovom (a, b, c, d, e, f) u istoj koloni se ne razlikuju značajno satistički,  $p < 0,05$

Najvažnija fenolna jedinjena u listovima žučenice su derivati hidroksicimetne kiseline kao što su hlorogenska i kafena kiselina (slika 30) [48, 49]. Najveći sadržaj hlorogenske kiseline (suma izomera) utvrđen je u listovima žučenice na lokaciji Zoganje (1034  $\mu$ g/100 g) a najniži u plastenicima Komani and Šušanj (104  $\mu$ g/100 g). Raspon utvrđenih koncentracija kafene kiseline bio je 1,4-7,0  $\mu$ g/100 g.



Slika 30. Hemijska struktura hlorogenske i kafene kiseline

Između divljih i gajenih biljaka, kao i između samoniklih biljaka u zavisnosti od lokacije, utvrđena je značajna statistička razlika u sadržaju TPC, TFC i analiziranih polifenolnih kiselina ( $p < 0.05$ ). Divlje biljke su bile bogatije sadržajem TPC 2,5 puta, dok je sadržaj TFC bio veći 1,7 puta.

#### 4.4.9 Antioksidativni kapacitet

Antioksidanti su supstance koje, prisutne u malim količinama u odnosu na supstrat podložan oksidaciji (lipidi, proteini, ugljeni hidrati, DNK), inhibiraju ili potpuno sprječavaju njihovu oksidaciju. Polifenolna jedinjenja, zajedno sa  $\alpha$ -tokoferolom,  $\beta$ -karotenom i vitaminom C, spadaju u grupu neenzimatskih antioksidanata. Smatra se da je antioksidativna aktivnost polifenolnih jedinjenja u prvom redu rezultat njihove sposobnosti da budu donatori vodonika, nakon čega nastaju manje reaktivni fenoksil radikali. Relativno velika stabilnost fenoksil radikala se objašnjava delokalizacijom elektrona uz postojanje više rezonantnih formi.

Smatra se da se dio antioksidativnog potencijala mnogih vrsta biljaka može pripisati polifenolnim jedinjenjima.

Antioksidativna aktivnost polifenolnih jedinjenja zasniva se na njihovom redoks potencijalu, pa stoga oni mogu da djeluju kao redukujući agensi, „skevendžeri“ singletnog kiseonika, da otpuštaju vodonik i helatizuju metale [99].

Polifenolna jedinjenja ispoljavaju antioksidativnu aktivnost u biološkim sistemima na više načine i to:

- predajom H – atoma, direktnim vezivanjem („hvatanjem“) slobodnih kiseonikovih i azotnih radikala;
- heliranjem prooksidativnih metalnih jona ( $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$  i  $\text{Mg}^{2+}$ );
- aktiviranjem antioksidacijskih enzima;
- inhibicijom prooksidativnih enzima (lipoksigenaza, NAD(P)H oksidaza, ksantin-oksidaza, oksidaza, enzimi citohroma P-450).

Sa porastom molekulske mase antioksidativna aktivnost polifenola se smanjuje.

Troloks ekvivalent (TE) antioksidativnog kapaciteta predstavlja mjeru antioksidativne sposobnosti određene supstance u poređenju sa Troloks standardom. Najčešće se antioksidativni kapacitet određuje uz pomoć testova kod kojih se Troloks koristi kao standard i to: DPPH (difenilpikrilhidrazil) test, ABTS test obezbojenja i FRAP test.

Međutim, mnogi prirodni antioksidanti su multifunkcionalni, odnosno mogu na više načina ispoljiti svoje antioksidantno dejstvo. Zbog ovoga je poželjno antioksidantnu sposobnost nekog uzorka procjenjivati na osnovu više nezavisnih *in vitro* testova, a kao mjera te sposobnosti uvodi se antioksidativni kompozitni indeks (ACI). On se dobija tako što se najprije svakom uzorku u okviru antioksidativnog testa dodjeljuje brojna vrijednost (BV), tako da uzorak sa najvišim antioksidativnim potencijalom (AOP) dobija vrijednost 100, a ostali proporcionalno njemu. To bi se moglo matematički predstaviti jednačinom:

$$BV = \frac{\text{AOP uzorka}}{\text{najviša vrijednost AOP}} \times 100$$

Kada se izračunaju BV u okviru svakog antioksidativnog testa nađe se njihova srednja vrijednost koja predstavlja antioksidativni kompozitni indeks (ACI) [100].

Ovakvim računanjem se svakom testu dodjeljuje podjednaka važnost i dobijena vrijednost je manje podložna uticaju mehanizma reakcije kojom se ispituje antioksidativna sposobnost. Sam antioksidativni kompozitni indeks predstavlja srednju vrijednost svih primjenjenih antioksidativnih testova.

Rezultati antioksidativne aktivnosti dobijenih ekstrakata listova žučenice, njihova sposobnost istiskivanja sintetičkih DPPH i ABTS radikala, kao i njihova sposobnost redukcije feri jona (FRAP) prikazani su u Tabeli 19. Analize su vršene u triplikatu, a rezultati izraženi u  $\mu\text{M TE/g}$  računato na vlažnu masu.

Tabela 19. Antioksidativni kapacitet listova samonikle i gajene žučenice\*

Lokacija	FRAP ( $\mu\text{M TE/ 1g}$ )	DPPH ( $\mu\text{M TE/1 g}$ )	ABTS ( $\mu\text{M TE/ 1g}$ )
Samonikle biljke			
Zoganje	46,90±1,08 <sup>a</sup>	11,66±0,02 <sup>a</sup>	32,81±0,15 <sup>a</sup>
Risan	13,31±0,42 <sup>e</sup>	6,85±0,26 <sup>e</sup>	16,82±0,09 <sup>c</sup>
Podgor	36,45±0,56 <sup>b</sup>	10,29±0,03 <sup>b</sup>	26,32±0,15 <sup>b</sup>
Tivat	19,44±0,36 <sup>c</sup>	7,64±0,08 <sup>d</sup>	16,20±0,11 <sup>d</sup>
Pričelje	17,43±0,50 <sup>d</sup>	8,41±0,27 <sup>c</sup>	15,12±0,17 <sup>e</sup>
Plavnica	13,65±0,09 <sup>e</sup>	6,90±0,29 <sup>e</sup>	10,61±0,08 <sup>f</sup>
Pljevlja	13,33±0,27 <sup>e</sup>	6,19±0,22 <sup>f</sup>	10,80±0,09 <sup>f</sup>
<i>Srednja vrijednost</i>	22,93±0,47	8,28±0,17	18,38±0,12
Gajene biljke			
Komani	8,80±0,52	5,05±0,27	11,07±0,07
Šušanj	6,75±0,13	3,76±0,17	10,46±0,09
<i>Srednja vrijednost</i>	7,77±0,33 <sup>#</sup>	4,40±0,22 <sup>#</sup>	10,77±0,08

\*rezultati su prikazani na 100 g svježeg uzorka i izraženi kao srednja vrijednost±SD tri nezavisna određivanja

<sup>#</sup> značajna razlika između samoniklih i kultivisanih biljaka,  $p < 0,05$

Rezultati označeni istim slovom (a, b, c, d, e, f) u istoj koloni se ne razlikuju značajno statistički,  $p < 0,05$

DPPH - 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil; FRAP - antioksidativna sposobnost redukcije feri jona; ABTS (TEAC) - Troloks ekvivalent antioksidativnog kapaciteta; TE - Troloks ekvivalent

FRAP test je brz i jednostavan za izvođenje, reakcija ima dobru ponovljivost, a redukciona sposobnost mjerena u ovom testu je linearno povezana sa molarnom



koncentracijom antioksidanasa [101]. Stoga, sadržaj ukupnih polifenola predstavlja pouzdan pokazatelj antioksidativne aktivnosti analiziranih biljaka. Antioksidativna aktivnost određena FRAP testom i sadržaj ukupnih polifenola su bili skoro tri puta niži kod gajenih biljaka u poređenju sa samoniklim. Utvrđene vrijednosti su se kretale od 13,31 do 46,90  $\mu\text{M TE/ 1g}$  (srednja vrijednost 22,93  $\mu\text{M TE/ 1g}$ ) za samonikle biljke. Srednja vrijednost za biljke iz plasteničke proizvodnje iznosila je 7,77  $\mu\text{M TE/ 1g}$ .

Za procjenu sposobnosti ekstrakata da istisnu slobodne radikale korišćena su dva testa: DPPH radikalski i ABTS radikla katjonski test.

Relativno stabilni organski radikal DPPH se veoma često koristi za određivanje antioksidativne aktivnosti različitih biljnih ekstrakata [102]. Sposobnost istiskivanja slobodnog radikala utvrđena DPPH metodom varirala je između 3,76  $\mu\text{M TE/g}$  za kultivisani uzorak sa lokacije Šušanj do 11,66  $\mu\text{M TE/g}$  za uzorak samonikle biljke sa lokacije Zoganje.

Antioksidativna aktivnost samoniklih biljaka utvrđena ABTS testom kretala se od 10,61  $\mu\text{M TE/ 1g}$  na lokaciji Plavnica do 32,81  $\mu\text{M TE/ 1g}$  na lokaciji Zoganje. Srednja vrijednost utvrđena za gajene biljke iznosila je 10,77  $\mu\text{M TE/ 1g}$ . U skladu sa dobijenim podacima za ABTS radikalski katjon (10,46-32,81  $\mu\text{M TE/ 1g}$ ), interesantno je da je smanjena antioksidativna aktivnost gajenih uzoraka u skladu sa utvrđenim nižim sadržajem ukupnih flavonoida u njima. U poređenju sa samoniklim biljkama ova aktivnost je bila u prosjeku 40% niža. Razlog ove pojave može biti zbog toga što su flavonoidi klasa fenolnih jedinjenja koja specifično odražava i bolji je indikator segmenta antioksidativne aktivnosti dobijene putem ABTS testa.

Dobijeni rezultati za sva tri testa su pokazali da je antioksidativni kapacitet analiziranih ekstrakta, kao što je i pretpostavljeno, pratio sadržaj ukupnih polifenola i ukupnih flavonoida. FRAP i DPPH test su pokazali značajnu razliku između samoniklih i gajenih biljaka ( $p < 0,05$ ), kao i između samoniklih biljaka u zavisnosti od lokaliteta na kojem rastu. Korelacija između rezultata koji su dobijeni u sva tri testa je bila jako dobra, kao i korelacija između antioksidativne aktivnosti i sadržaja ukupnih polifenola i ukupnih flavonoida ( $r \sim 0,99$ ,  $p < 0,05$ ).

U poređenju sa podacima objavljenim u radu Sahana i sar. za antioksidativnu aktivnost ekstrakata lista žućenice porijeklom iz Turske [9], rezultati ABTS i DPPH testa dobijeni u ovom istraživanju pokazali su niže vrijednosti.

Prosječna antioksidativna aktivnost analiziranih uzoraka je prikazana kao antioksidativni kompozitni indeks (ACI).

ACI vrijednost prati statističko-matematički model koji predstavlja savremen alat za predstavljanje antioksidativne aktivnosti različitih biljaka.

Osnovna prednost upotrebe ACI je vrijednost u procentima koja pokriva sve segmente antioksidativnog djelovanja dobijene putem različitih testova.

Utvrđeni antioksidativni kompozitni indeks (ACI) za ispitivane uzorke listova žućenice prikazan je u Tabeli 20 i prati sljedeći opadajući niz:

*Zoganje > Podgor > Tivat > Pričelje > Risan > Plavnica > Pljevlja > Komani > Šušanj.*

Svi uzorci samoniklih biljaka imali su veći ACI od kultivisanih.

*Tabela 20. Antioksidativni kompozitni indeks (ACI) listova samonikle i gajene žućenice*

Lokacija	FRAP indeks	DPPH indeks	ABTS indeks	ACI (%)
Samonikle biljke				
Zoganje	100,0	100,0	100,0	100,0
Risan	28,4	58,7	51,3	46,1
Podgor	77,7	88,2	80,2	82,1
Tivat	41,4	65,5	49,2	52,1
Pričelje	37,2	72,1	46,1	51,8
Plavnica	29,1	59,2	32,3	40,2
Pljevlja	28,4	53,1	32,9	38,1
Gajene biljke				
Komani	18,8	43,3	33,7	31,9
Šušanj	14,4	32,2	31,9	26,2

FRAP – antioksidativna sposobnost redukcije feri jona; DPPH – 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil; ABTS (TEAC) – Troloks ekvivalent antioksidativnog kapaciteta; ACI – antioksidativni kompozitni indeks

#### 4.5 Nutritivne vrijednosti odabranih tradicionalnih jela od lista žućenice

Tradicionalna hrana predstavlja važan dio kulture, istorije, identiteta i nasljeđa nekog regiona ili zemlje i predstavlja ključni element u strukturi ishrane. U većini zemalja, pa i u Crnoj Gori, nema informacija ili su one ograničene kada je u pitanju nutritivni sastav takve hrane. Stoga postoji stvarna potreba istraživanja u ovoj oblasti, čime se omogućava stvaranje neke vrste popisa tradicionalne hrane, načina pripreme i njene same promocije. Jedan od ciljeva ovog istraživanja je bio da se po prvi put na jednom mjestu sakupe podaci o nutritivnom sastavu odabranih tradicionalnih jela od lista žućenice i na taj način sa naučne strane doprinese promociji tradicionalne hrane u Crnoj Gori.

Slična istraživanja vršena su i u drugim zemljama širom svijeta.

Tako je u Zimbabveu predmet istraživanja bila tradicionalna fermentisana hrana i pića. Tom prilikom opisana su tradicionalna fermentisana jela i pića na bazi kukuruza, mlijeka, žitarica i voća [103].

Istraživanje sprovedeno u zemljama Crnomorskog regiona obuhvatilo je 33 tradicionalna jela iz Bugarske, Gruzije, Rumunije, Ruska federacije, Turske i Ukrajine [44]. Podjela tradicionalnih jela u ovom istraživanju izvršena je na osnovu sastojaka koji prevladavaju u njihovom sastavu i to: žitarice i proizvodi od žitarica, povrće i proizvodi od povrća, voće i proizvodi od voća, uljarice i njihovi proizvodi, biljke, začini i aromatično bilje i niskoalkoholna ili bezalkoholna fermentisana hrana i pića biljnog porijekla. Cilj istraživanja je bio dokumentovanje načina pripreme i analiza nutritivnog profila ovih jela. Istraživanja ove vrste počela su da se vrše i na tradicionalnim jelima Srbije. U radu Popović i sar. [104] izvršena je hemijska analiza tradicionalnih namirnica i jela srpske trpeze, kao što su kajmak, gibanica, ajvar, prebranac, svježi sir i vanilice.

U ovom radu izbor jela izvršen je na osnovu dostupnih pisanih podataka o njihovoj pripremi na tradicionalan način.

Избор јела извршен је тако да њиме буде обухваћена употреба како сировог листа жућенце, тако и термички третираног. С друге стране, одабир јела је вршен узимајући у обзир заступљеност жућенце у појединим врста јела. Чињеница да се лист жућенце у Црној Гори традиционално користи на сличан начин као и зелено лиснато поврће условила је да избор јела буде направљен на начин да половина од укупно осам одабраних јела буду предјела или

salate, zatim dvije vrste čorbe, jedno glavno jelo i jedan prilog jelima. U Prilogu su prikazani detaljni opisi i fotografije ovih jela, njihova receptura i način pripreme.

U dijelu ispitivanja nutritivnog sastava ovih jela utvrđen je sadržaj suve materije, pepela, ukupnih masti, ukupnih vlakana, proteina i ugljenih hidrata i procijenjena energetska vrijednost ovih jela. Sadržaj makro- i mikroelemenata obuhvatio je utvrđivanje količine kalcijuma, magnezijuma, kalijuma, fosfora, bakra, cinka, mangana i gvožđa.

#### 4.5.1 Nutritivni potencijal i energetska vrijednost odabranih tradicionalnih jela od lista žučenice

U Tabeli 21 prikazani su rezultati sadržaja suve materije, pepela, sirove masti, ukupnih vlakana, proteina, dostupnih ugljenih hidrata, kao i procijenjena energetska vrijednost ispitivanih uzoraka odabranih tradicionalnih jela od lista žučenice.

Tabela 21. Nutritivni potencijal i energetska vrijednost ispitivanih uzoraka odabranih tradicionalnih jela od lista žučenice

Oznaka tradicionalnog jela	Suva materija %	Pepeo %	Ukupna mast %	Ukupna vlakna %	Proteini %	Ugljeni hidrati %	Energetska vrijednost kcal/100 g
I	20,0±0,5	0,46±0,07	10,9±1,0	2,4±0,3	4,6±0,7	1,4±0,5	121
II	23,2±0,7	0,61±0,17	10,7±0,8	1,9±0,3	5,3±0,7	3,1±0,6	129
III	46,4±0,9	0,55±0,11	11,2±1,3	0,9±0,1	7,5±0,9	25,4±1,6	233
IV	61,3±0,8	0,61±0,09	29,0±1,2	4,0±0,7	8,4±0,9	17,4±0,6	362
V	17,1±0,7	0,60±0,09	5,5±0,8	1,9±0,4	4,6±0,6	3,1±0,3	80
VI	9,6±0,8	0,16±0,09	2,7±0,7	0,8±0,2	2,0±0,5	3,0±0,4	44
VII	35,1±0,9	0,80±0,12	8,6±0,9	2,3±0,4	10,1±0,9	12,1±0,6	166
VIII	38,4±0,9	0,23±0,09	25,7±1,1	1,3±0,2	2,8±0,4	6,7±0,5	266

I - Kuvana žučenica sa jajima; II - Omlet od žučenice; III - Pita od kukuruznog brašna i žučenice; IV - Kroketi od žučenice; V - Hladna čorba od žučenice; VI - Čorba od mlade žučenice; VII - Zapečena fažola sa žučenicom; VIII - Zeleni umak

Utvrđeni sadržaj suve materije korenspodira kategorijama jela, odnosno vrsti i količini upotrijebljenih sastojaka i samom načinu pripreme. Tako je udio suve materije najniži u čorbama, zatim slijede jela koja su termički tretirana kuvanjem, dok je najveći udio suve materije u prženim/pečenim jelima.

Na sličan način se način pripreme i sastav ovih jela odražava na rezultate dobijene za sadržaj ukupnih masti, proteina i pepela.

Evidentna razlika u sadržaju ugljenih hidrata i samoj energetskej vrijednosti uslovljena je prisustvom sastojaka bogatih ugljenim hidratima u pojedinim jelima (proizvodi od žita i suve leguminoze-pasulj).

Generalno gledano na nutritivni sastav ispitivanih tradicionalnih jela mnogo više utiče prisustvo ostalih sastojaka nego sama žućenica.

#### 4.5.2 Minerali

Rezultati utvrđenog sadržaja makro elemenata u uzorcima odabranih tradicionalnih jela od lista žućenice dati su u Tabeli 22.

Tabela 22. Sastav makroelemenata u uzorcima odabranih tradicionalnih jela

Oznaka tradicionalnog jela	Minerali				
	K	Na	Ca	Mg	P
	mg/100 g	mg/100 g	mg/100 g	mg/100 g	mg/100 g
I	1358±15	542±12	694±13	237±11	803±16
II	1552±14	4880±22	859±12	275±12	1027±17
III	1351±14	1640±11	2226±22	191±12	2362±17
IV	2530±24	5779±23	780±14	194±12	1377±16
V	1649±13	3787±13	2076±19	226±14	2091±15
VI	851±10	2252±12	427±11	122±12	430±9
VII	4158±14	4411±21	672±12	375±14	1166±15
VIII	942±19	5151±19	116±10	116±11	477±11

I - Kuvana žućenica sa jajima; II - Omlet od žućenice; III - Pita od kukuruznog brašna i žućenice; IV - Kroketi od žućenice; V - Hladna čorba od žućenice; VI - Čorba od mlade žućenice; VII - Zapečena fažola sa žućenicom; VIII - Zeleni umak

Rezultati sadržaja mikroelemenata u uzorcima odabranih tradicionalnih jela od lista žućenice prikazani su u Tabeli 23.

Tabela 23. Sadržaj bakra, cinka, mangana i gvožđa u uzorcima odabranih tradicionalnih jela od lista žučenice

Oznaka tradicionalnog jela	Minerali			
	Cu	Zn	Mn	Fe
	mg/100 g	mg/100 g	mg/100 g	mg/100 g
I	0,49±0,09	4,1±0,2	1,7±0,5	8,5±0,7
II	0,64±0,10	4,6±0,4	1,9±0,5	12,4±0,8
III	0,46±0,11	9,1±0,6	1,1±0,5	7,7±0,6
IV	0,65±0,09	10,2±0,5	1,5±0,2	12,5±0,9
V	0,53±0,10	4,8±0,5	1,2±0,3	3,3±0,5
VI	0,31±0,06	2,4±0,4	1,0±0,1	4,3±0,5
VII	2,20±0,11	9,6±0,7	4,0±0,3	13,9±0,7
VIII	0,38±0,03	2,9±0,3	1,3±0,2	8,7±0,4

I - Kuvana žučenica sa jajima; II - Omlet od žučenice; III - Pita od kukuruznog brašna i žučenice; IV - Kroketi od žučenice; V - Hladna čorba od žučenice; VI - Čorba od mlade žučenice; VII - Zapečena fažola sa žučenicom; VIII - Zeleni umak

Utvrđeni sadržaj kalijuma, natrijuma, kalcijuma, magnezijuma, fosfora, bakra, cinka, mangana i gvožđa ukazuje na činjenicu da su jela od žučenice pripremljena na tradicionalan način prilično dobar izvor makro- i mikroelemenata. Količina natrijuma u ovim jelima potvrđuje činjenicu tradicionalno visoke zastupljenosti kuhinjske soli u ishrani na ovim prostorima.

Dobijeni podaci o nutritivnom sastavu tradicionalnih jela sa žučenicom mogu biti značajni pri formiranju nacionalne baze podataka o sastavu hrane Crne Gore, ali takođe predstavljaju jedan od naučno zasnovanih koraka u zaštiti tradicionalnih dijetarnih navika kao dijela kulturnog nasleđa svake zemlje. Na sličan način i u drugim geografskim područjima vrše se istraživanja pojedinih tradicionalnih namirnica i jela koja se od njih pripremaju. Tako je u toku 2017. godine objavljen veći broj naučnih radova posvećen ovoj temi. U radu Davidson i sar. su, na primjer, prikazani rezultati ispitivanja nutritivnog sastava kasave i jela koja se od nje pripremaju u Nigeriji [105], a u radu Al Faris NA su prikazani rezultati ispitivanja sastava tradicionalnih jela iz Saudijske Arabije [106]. Iako namirnica i jela koja stanovništvo nekog regiona ili zemlje tradicionalno koristi mogu imati značajan uticaj na kvalitet njihove ishrane, u većini nacionalnih i međunarodnih baza

podataka nema informacija o njihovom sastavu i sadržaju nutrijenata, te su radovi objavljeni u međunarodnim časopisima često jedini način da se dođe do ovakvih podataka.

## ZAKLJUČCI

Ovo istraživanje je prva sveobuhvatna studija ove vrste, koja nudi detaljne informacije o nutritivnom profilu, mineralima, vitaminima, vlaknima, masnim kiselinama, pigmentima, fenolima, flavonoidima i antioksidativnoj aktivnosti listova žučenice (*Cichorium intibus* L.) koja raste ili se gaji u Crnoj Gori. Takođe je u ovom istraživanju prvi put u Crnoj Gori primjenjena metodologija dokumentovanja jedne namirnice kao tradicionalne.

Na osnovu sprovedenih istraživanja mogu se donijeti sljedeći zaključci:

- Na osnovu podataka iz arhivske građe može se zaključiti da se list žučenice u Crnoj Gori, i to posebno u primorskoj regiji, koristio u ishrani i prije Drugog svjetskog rata, tj. prije perioda od kojeg počinje nagli razvoj industrije i drugih grana privrede. Time se njegova upotreba u ishrani može, prema EuroFIR-u, definisati kao „tradicionalna hrana“.
- Biljka se kao samonikla veoma često može naći na cijeloj teritoriji Crne Gore, posebno u primorskom području na nižoj nadmorskoj visini, ali se sreće sve do 800-900 m nadmorske visine.
- Određeni broj jela sa žučenicom se takođe može svrstati u tradicionalnu hranu na osnovu pisanih dokaza i u posljednje vrijeme objavljenih publikacija sa receptima njihove pripreme.
- Na osnovu rezultata obavljenih istraživanja može se zaključiti da su listovi žučenice, koji se vjekovima koriste kao hrana, tj. sastojak hrane u Crnoj Gori, vrijedan izvor hranljivih sastojaka, minerala i vitamina, tako da se mogu smatrati zdravim izborom u dobro izbalansiranoj ishrani koji ima veliki broj nutritivnih prednosti u odnosu na drugo lisnato povrće.
- Suva materija listova žučenice je posebno bogata ugljenim hidratima i vlaknima, od kojih su nerastvorna bila najviše zastupljena, dok je udio fruktana (inulina) bio veoma nizak (ispod 0,15 mg/100 g). Listovi žučenice se mogu koristiti u



niskokaloričnoj ishrani zbog svoje niske energetske vrijednosti koja ne prelazi 50 kcal/100 g).

- Od mikronutrijenata list žučenice je posebno bogat kalijumom, kalcijumom, manganom, gvožđem i provitaminom A. Jedna porcija lista žučenice obezbjeđuje 19,2; 20,6; 27,5; 16,6 i 135% PDU vrijednosti ovih nutrijenata, redom. Utvrđena je i značajna količina vitamina B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub> i B<sub>6</sub>, (8,2-12,5% PDU).
- Iako je sadržaj masti u listovima žučenice nizak, ona ima visoku biološku vrijednost zbog svog specifičnog sastava masnih kiselina sa dominantnom  $\omega$ -3  $\alpha$ -linolenskom kiselinom koja čini 60-75% svih prisutnih masnih kiselina, dok je u prosjeku odnos  $\omega$ -6 i  $\omega$ -3 masnih kiselina iznosio 0,2:1.
- Takođe, listovi ove biljke predstavlja značajan izvor nenutritivnih biološki aktivnih sastojaka, prije svega polifenola, flavonoida i pigmenata.
- U metanolskim ekstraktima analiziranih uzoraka lista žučenice utvrđene su značajne količine polifenolnih kiselina, hlorogenske i kafene.
- Antioksidativni potencijal metanolskih ekstrakata lista žučenice, određen korišćenjem tri testa (DPPH, FRAP i ABTS), bio je pozitivno povezan sa njenim sadržajem polifenola i flavonoida, što je potvrdio visok koeficijent korelacije ( $r \sim 0,99$ ,  $p < 0,05$ ).
- Antioksidativni kompozitni indeks (ACI) kretao se u intervalu 26,2-100%.
- Identifikovane i kvantifikovane su tri klase pigmenata u listu žučenice i to: ksantofili (lutein, violaksantin, anteraksantin i neoksantin), hlorofili (hlorofil a, hlorofil b, feofitin a i feofitin b) i karoteni ( $\beta$ -karoten). Najzastupljeniji pigment bio je lutein i predstavljao je 50% ukupnih ksantofila.
- Samonikle biljke su u većini slučajeva značajno bogatije analiziranim sastojcima u poređenju sa kultivisanim. To je dokazano za sljedeće sastojke suva materija, dostupni ugljeni hidrati, kalcijum, cink, mangan, hemiceluloza,  $\alpha$ -linolenska i linolna kiselina, anteraksantin, neoksantin, hlorofil a i b, ukupni polifenoli, ukupni flavonoidi, hlorogenska i kafena kiselina ( $p < 0,05$ ).
- Primjenom ANOVA metode dokazan je značajan uticaj lokacije uzorkovanja samoniklih biljaka na sadržaj svih sastojaka osim lignina ( $p < 0,05$ ).

- Utvrđeno je da se na teritoriji Crne Gore tradicionalno priprema veći broj jela od lista žučenice koja se po svom sastavu razlikuju od jela koja se pripremaju u drugim zemljama mediteranskog regiona.
- Dokumentovane su recepture, spisak sastojaka i način pripreme osam odabranih jela pripremljenih po tradicionalnoj recepturi.
- Analizom hemijskog sastava ovih jela utvrđeno je da vrsta jela, način pripreme i upotrijebljeni sastojci direktno utiču na sadržaj nutrijenata, kao i da su ova jela prilično dobar izvor mikro- i makroelemenata.
- Bolje poznavanje nutritivnog potencijala i bioaktivnih sastojaka tradicionalne hrane može poslužiti kao osnova za njeno intenzivnije uključivanje u savremene trendove ishrane.
- Primjer žučenice u Crnoj Gori dokazuje da je revitalizacija određenih samoniklih biljaka, bilo da se iste sakupljaju iz prirode ili se kultiviraju, najbolji način za očuvanje tradicionalne hrane u određenim geografskim područjima.

## LITERATURA

1. Grlić Lj. 1986. *Enciklopedija samoniklog jestivog bilja*. August Cesarec, Zagreb.
2. Gostuški R. 1979. *Lečenje lekovitim biljem*. Narodna knjiga, Beograd.
3. Street R.A., Sidana J., Prinsloo G. 2013. *Cichorium intybus: Traditional uses, Phytochemistry, Pharmacology, and Toxicology*. Evidence-based Complementary and Alternative Medicine. Article ID 579319, 13 pages
4. WenYing G. and JinGui Li. 2012. Chicory seeds: a potential source of nutrition for food and feed. *Journal of Animal & Plant Sciences*, 2012. Vol. 13, Issue 2: 1736-1746
5. [www.eurofir.eu](http://www.eurofir.eu)
6. Sinkovič L., Hribar J., Žnidarčič D., Treutter D. and Vidrih R. 2014. Comparison of the Phenolics Profiles of Forced and Unforced Chicory (*Cichorium intybus* L.) Cultivars. *Agriculturae Conspectus Scientificus*. Vol. 79. No. 2 (133-137)
7. D'Acunzo F., Giannino D., Longo V., Ciardi M., Testone G., Mele G., Nicolodi C., Gonnella M., Renna M., Arnesi G., Schiappa A. and Ursini O. 2017. Influence of cultivation sites on sterol, nitrate, total phenolic contents and antioxidant activity in endive and stem chicory edible products. *Int J Food Sci Nutr*. Vol. 68, No. 1: 52–64
8. Montefusco A., Semitaio G., Marrese P.P., Iurlaro A., De Caroli M., Piro G., Dalessandro G., Lenucci M.S. 2015. Antioxidants in Varieties of Chicory (*Cichorium intybus* L.) and Wild Poppy (*Papaver rhoeas* L.) of Southern Italy. *Journal of Chemistry*. Volume 2015. Article ID 923142, 8 pages
9. Sahan Y., Gurbuz O., Guldaz M., Degirmencioglu N. and Begenirbas A. 2017. Phenolics, antioxidant capacity and bioaccessibility of chicory varieties (*Cichorium* spp.) grown in Turkey. *Food Chem*. 217: 483–489

10. Sinkovič L., Hribar J., Vidrih R., Ilin Ž.M. Žnidarčič D. 2015. Fatty acid composition of leaves of forced chicory (*Cichorium intybus* L.). Arch. Biol. Sci., Belgrade, 67(2), 647-653
11. Elisabeth W., Bridget B., Helena S.C. 2009. *Traditional Foods in Europe*. Synthesis report No. 6. EuroFIR Project Management Office/British Nutrition Foundation 2009. Institute of Food Research, Norwich, UK
12. Trichopoulou A., Soukara S., Vasilopoulou E. 2007. *Traditional foods: a science and society perspective*. Trends in Food Science & Technology. 18: 420-427
13. Zuzanna P., Wim V., Filiep V., Luis G., Margrethe H. 2009. *Association between traditional food consumption and motives for food choice in six European countries*. Appetite. 53: 101–108
14. [www.truefood.eu](http://www.truefood.eu)
15. [www.basefood-fp7.eu](http://www.basefood-fp7.eu)
16. Spasojević V. 2011. *Stara crnogorska trpeza*. Obod, Cetinje
17. Spasojević V. 2010. *Crnogorski kuvar do kraja XIX vijeka*. Pobjeda, Podgorica
18. Čekić M. i Vučurović B. 2014. *Knjiga o žučenici*. Knjižara So, Herceg Novi
19. Ogle B.M., Tuyet H.T., Duyet H.N., Xuan Dung N.N. 2003. *Food, feed or medicine: The multiple functions of edible wild plants in Vietnam*. Economic Botany. 57(1): 103-117
20. Ozen T. 2010. *Antioxidant activity of wild edible plants in the Black Sea Region of Turkey*. Grasas y Aceites. 61(1): 86-94
21. Licata M., Tuttolomondo T., Leto C., Virga G., Bonsangue G., Cammalleri I., Gennaro M.C. and La Bella S. 2017. A survey of wild plant species for food use in Sicily (Italy) – results of a 3-year study in four Regional Parks. Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine 12:12
22. Vanzani P., Rossetto M., De Marco V., Sacchetti L.E., Paoletti M.G. and Rigo A. 2011. Wild Mediterranean plants as traditional food: a valuable source of antioxidants. J Food Sci. 76(1): C46-51

23. Costa H.S., Vasilopoulou E., Trichopoulou A., Finglas P. 2010. New nutritional data on traditional foods for European good consumption databases. *Eur J Clin Nutr.* 64: S73-S81
24. AOAC. 1997. *Official Methods of Analysis*. 16th ed, 3rd rev. Association of Official Analytical Chemists, Gaithersburg, MD.
25. Regulation (EU) No. 1169/2011 of the European Parliament and of the Council of 25 October 2011 on the provision of food information to consumers, *Official Journal of the European Communities*, L304, pp. 18–63
26. MEST EN 13804: Foodstuffs – Determination of trace elements – Performance criteria, general considerations and sample preparation, 2009
27. MEST EN 14084: Foodstuffs – Determination of trace elements - Determination of lead, cadmium, zinc, copper and iron by atomic absorption spectrometry (AAS) after microwave digestion, 2009
28. Lee S.C., Prosky L. and DeVries J.W. 1992. Determination of total, soluble, and insoluble, dietary fiber in foods—enzymatic gravimetric method, MES-TRIS buffer: Collaborative study. *J. Assoc. Off. Ana. Chem.* 75: 395-416
29. Goering H.K. and Van Soest P.J. 1970. Forage Fiber Analysis (apparatus, reagents, procedures and some applications). *USDA Agricultural Handbook No. 379*
30. Van Soest P.J., Robertson J. B. and Lewis B. A. 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber and non-starch polysaccharides in relation to animal nutrition. *J. Dairy Sci.* 74: 3583-3597
31. McCleary BV, Rossiter P. 2004. Measurement of novel dietary fibres. *J. AOAC International.* 87: 707-711
32. Znidarcic D., Ban D. and Sircelj H. 2011. Carotenoid and chlorophyll composition of commonly consumed leafy vegetables in Mediterranean countries. *Food Chem.* 129: 1164–1168

33. Wen D., Li C., Di H., Liao Y. and Liu H. 2005. A Universal HPLC Method for the Determination of Phenolic Acids in Compound Herbal Medicines. *J. Agric. Food Chem.*, 53: 6624-6629
34. Todorovic V., Radojic Redovnikovic I., Todorovic Z., Jankovic G., Dodevska M. and Sobajic S. 2015. Polyphenols, methylxanthines, and antioxidant capacity of chocolates produced in Serbia. *J. Food Compos. Anal.* 41: 137–143
35. Brand-William W., Cuvelier M.E. and Berset C. 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensm. Wiss. Technol.* 28: 25–30
36. Benzie I.F. and Strain J.J. 1996. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of antioxidant power: the FRAP assay. *Anal. Biochem.* 239: 70–76
37. Re R., Pellegrini N., Proteggente A., Pannala A., Yang M. and Rice-Evans C. 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radic. Bio. Med.* 26: 1231–1237
38. Bryman A. and Cramer D. 2012. *Quantitative Data Analysis with IBM SPSS 17, 18 & 19: A Guide for Social Scientists.* Routledge.
39. Ebel V. 2006. *Dvanaest dana u Crnoj Gori. (Zwölf tage auf Montenegro. Königsberg, 1842.)*, CID, Podgorica.
40. Adamović L. 1913. *Građa za floru kraljevine Crne Gore. Rad Jugoslovenske akademije znanosti i umjetnosti. Knjiga 53 (1913). Svezak 195: 1-96*
41. Čekić M. 2012. *Još jedna priča - Žučénica festa - Chicory, bitte.* Hrvatski glasnik. Godina X. Broj 86. 20-22
42. Najznačajniji nacionalni - autohtoni proizvodi na prekograničnom području Bosne i Hercegovine i Crne Gore. 2012. Privredna komora Kantona Sarajevo i Montenegro Business Alliance Podgorica uz podršku Evropske unije, 47.
43. Čekić M. 2005. *Serenada od žučénici.* Centar za informativnu djelatnost Tivat
44. Costa H.S., Albuquerque T.G., Sanches-Silva A., Vasilopoluou E., Trichopoulou A., D'Antuono L.F., Alexieva J., Boyko N., Costea C., Fedosova K., Hayran O., Karpenko D.,

- Kilasonia Z., Finglas P. 2013. New nutritional composition data on selected traditional foods consumed in Black Sea Area countries. *J Sci Food Agric.* 93 (14): 3524-34
45. Dodevska M., Sobajic S., Djordjevic B. 2015. Fibre and polyphenols of selected fruits, nuts and green leafy vegetables used in Serbian diet. *J. Serb. Chem. Soc.* 80 (1) 21–33
46. Ali MdB, Khandaker L., Oba S. 2009. Comparative study on functional components, antioxidative activity and color parameters of selected colored leafy vegetables as affected by photoperiods. *J Food Agric Envir.* 7: 392-398
47. Stibilj V., Smrkolj P., Jacimovic R., Osvald J. Selenium uptake and distribution in chicory (*Cichorium intybus* L.) grown in an aeroponic system. *Acta agriculturae Slovenica*, 97 (3):189 – 196
48. Milala J., Grzelak K., Król B., Juśkiewicz J. and Zduńczyk Z. 2009. Composition and properties of chicory extracts rich in fructans and polyphenols. *Pol. J. Food Nutr. Sci.* Vol. 59, No. 1: 35-43
49. Sinkovic L., Demsar L., Znidarcic D., Vidrih R., Hribar J. and Treuttler D. 2015. Phenolic profiles in leaves of chicory cultivars (*Cichorium intybus* L) as influenced by organic and mineral fertilizers. *Food Chem.* 166: 507-513
50. Sinkovic L., Hribar J. and Vidrih R. 2014. Influence of cultivar and storage of chicory (*Cichorium intybus* L) plants on polyphenol composition and antioxidative potential. *Czech J Food Sci.* 32(1): 10-15
51. Ejoh A.R., Tchouanguep M.F., Fokou E. 1996. Nutrient composition of the leaves and flowers of *Colocasia esculenta* and the fruits of *Solanum melongena*. *Plant Food Hum. Nutr.* 49: 107-112
52. Hanif R., Iqbal Z., Iqbal M., Hanif S., Rasheed M. 2006. Use of vegetables as nutritional food: role in human health. *J. Agric. Biol. Sci.* 1: 18-22
53. Caunii A., Cuciureanu R., Zakar A. M., Tonea E., Giuchici C. 2010. *Stud. Univ. Vasile Goldiș Arad, Ser. Siintele Vietii* 20: 45

54. Warner D., Jensen S. K., Cone J.W., Elgersma A. 2010. Fatty acid composition of forage herb species. In Proceedings of the 23rd General Meeting of the European Grassland Federation, 2010, Kiel, Germany, Grassland Science in Europe, Kiel. p. 491
55. Lisiewska Z., Gebczynski P., Bernas E., Kmiecik W. 2009. Retention of mineral constituents in frozen leafy vegetables prepared for consumption J. Food Comp. Anal. 22: 218-223
56. Harrington K. C., Thatcher A., Kemp P. D. 2006. Mineral composition and nutritive value of some common pasture weeds. N. Z. Plant Prot. 59: 261-265
57. Kawashima L. M., Soares L. M. V. 2003. Mineral profile of raw and cooked leafy vegetables consumed in southern Brazil. J. Food Comp. Anal. 16: 605-611
58. Peterson CJ, Johnson VA, Mattern PJ. Evaluation of variation in mineral element concentrations in wheat flour and bran of different cultivars. Cereal Chem 1983; 60: 450-454
59. Forster MP, Rodriguez E, Martin JD, Romero CD. Statistical differentiation of bananas according to their mineral composition 2002; Journal of Agricultural and Food Chemistry 50: 6130-6135
60. Di Giacomo F, Del Signore A, Giaccio M. Determining the geographic origin of potatoes using mineral and trace element content 2007. J Agr Food Chem; 55: 860-866
61. Santos J., Mendiola J., Oliveira M., Ibáñez E., Herrero M. 2012. Development of a HPLC-DAD-MS/MS method for simultaneous determination of fat- and water-soluble vitamins in green leafy vegetables. J. Chromatogr. A 1261: 179-188
62. Braca A., Politi E., Sanogo R., Sanou H., Moreli I., Pizza C., De Tommasi N. 2003. Chemical Composition and Antioxidant Activity of Phenolic Compounds from Wild and Cultivated *Sclerocarya birrea* (Anacardiaceae) Leaves. J. Agric. Food Chem. 51: 6689-6695



63. Silva F. G., Oliveira C. B. A., Pinto J. E., Nascimento V. E., Santos S. C., Seraphin J. C., Ferri P. H. 2007. Seasonal variability in the essential oils from wild and cultivated *Baccharis trimera*. J. Braz. Chem. Soc. 18: 990-997
64. Regulation (EC) No 1924/2006 of the European parliament and of the council of 20 December 2006 on nutrition and health claims made on foods, Official Journal of the European Communities, L404, pp. 9–25
65. Gupta A.K., Kaur N. and Kaur N. 2003. Preparation of inulin from chicory roots. J. Sci. Industrial Res. 62: 916-920
66. Roberforid M.B. 1999. Concepts in functional foods: the case of inulin and oligofructose. J Nutr. 129 (7 Suppl): 1398S-1401S
67. Herranz J., Vidal-Valverde C. and Rojas-Higaldo E. 1981. Cellulose, Hemicellulose and lignin content of raw and cooked Spanish vegetables. J. Food Sci. Vol. 46: 1927-1933
68. Jurgonski A., Milala J., Juszkiewicz J., Zenon Zdunbczyk and Król B. 2011. Composition of Chicory Root, Peel, Seed and Leaf Ethanol Extracts and Biological Properties of Their Non-Inulin Fractions. Food Technol. Biotechnol. 49 (1) 40–47
69. Fatty acids in foods and their health implications. Editor Ching Kuang Chow. CRC Press, New York, 2007
70. Warner D., Jensen S.K., Cone J.W. and Elgersma A. 2010. Fatty acid composition of forage herb species. In Proceedings of the 23rd General Meeting of the European Grassland Federation, Kiel, Germany, Grassland in a changing world, Grassland Science in Europe, Kiel, p. 491
71. Bradberry J.C. and Hilleman D.E. 2013. Overview of omega-3 fatty acid therapies. P T. 38:681–691
72. Simopoulos A.P. 2004. Omega-3 fatty acids and antioxidants in edible wild plant plants. Biol Res. 37(2): 263-277
73. Simopoulos A.P. and Salem N J.R. 1986. Purslane: a terrestrial source of omega-3 fatty acids. N Engl J Med 315: 833 (letter)

74. Simopoulos A.P., Norman H.A., Gillaspay J.E. 1995. Purslane in human nutrition and its potential for world agriculture. *World Rev Nutr Diet* 77: 47-74
75. Vidrih R., Filip S. and Hribar J. 2009. Content of higher fatty acids in green vegetables. *Czech J. Food Sci.* Vol. 27, Special Issue: S125-S129
76. Narsing Rao G., Prabhakara Rao P.G., Sulochanamma G. and Satyanarayana A. 2015. Physico-chemical Amino acid composition, fatty acid profile, functional and antioxidant properties of *Spinacia oleracea* L. leaf. *J. Food Pharm. Sci.* 3: 27-37
77. Shahidi F., Desilva C. and 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
78. Krinsky N.I., Yeum K.J. 2003. Carotenoid-radical interactions. *Biochemical and Biophysical Communications*, 305: 754-760
79. Perry A., Rasmussen H. and Johnson E.J. 2009. Xanthophyll (lutein, zeaxanthin) content in fruits, vegetables and corn and egg products. *J. Food Comp. Anal.* 22: 9–15
80. El-Sayed M.A., Humayoun A., Khalid Z. and Rashida A. 2013. Dietary sources of lutein and zeaxanthin carotenoids and their role in eye health. *Nutrients*. 5: 1169-1185
81. Kotake-Nara E. and Nagao A. 2011. Absorption and Metabolism of Xanthophylls. *Mar Drugs*. 9(6): 1024–1037
82. Miller N.J., Sampson J., Candeias L.P., Bramley P.M. and Rice-Evans C.A. 1996. Antioxidant activities of carotenes and xanthophylls. *FEBS Lett.* 384:240–242
83. Di Mascio P., Kaiser S. and Sies H. 1989. Lycopene as the most efficient biological carotenoid singlet oxygen quencher. *Arch Biochem Biophys.* 274: 532–538
84. Junghans A., Sies H. and Stahl W. 2001. Macular pigments lutein and zeaxanthin as blue light filters studied in liposomes. *Arch Biochem Biophys.* 391: 160–164
85. Gamon J.A. and Surfus J.S. 1999. Assessing leaf pigment content with a reflectometer. *New Phytologist.* 43, 105–117

86. Sangeetha R.K. and Baskaran V. 2010. Carotenoid composition and retinol equivalent in plants of nutritional and medicinal importance. Efficacy of b-carotene from *Chenopodium album* in retinol-deficient rats. *Food Chem.* 119, 1584–1590
87. Sarkar D., Sharma A. and Talukder G. 1994. Chlorophyll and chlorophyllin as modifiers of genotoxic effects. *Mutation Res.* 318: 239-247
88. Duma M., Alsina I., Zeipina S., Lapse L. and Dubova L. 2014. Leaf vegetables as source of phytochemicals. In: 9th Baltic Conference on Food Science and Technology “Food for Consumer Well-Being” FOODBALT 2014 Conference Proceedings. Jelgava, LLU. P 262-265
89. Raju M., Varakumar S., Lakshminarayana R., Krishnakantha T.P. and Baskaran V. 2007. Carotenoid composition and vitamin A activity of medicinally important green leafy vegetables. *Food Chem.* 101: 1598–1605
90. Grune T., Lietz G., Palou A., Ross C.A. et al. 2010.  $\beta$ -Carotene is an important Vitamin A source for humans. *J. Nutr.* 140(12): 2268–2285
91. Gopalan C. 1992. New dimensions of ‘old problem’. In *Nutrition in development transition in South-East Asia* (pp. 34–48). New Delhi: World Health Organization, Regional Office for Southeast Asia.
92. Keith R.M., Christy L.A. 2010. Polyphenols as dietary supplements: A double-edged sword. *Nut. and Diet. Supp.* 2: 1-12
93. Kazazić P. 2004. Antioksidacijska i antiradikalska aktivnost flavonoida. *Arh. Hig. Toksikol.* 55: 279-290
94. Miao-Lin H. 2011. Dietary Polyphenols as Antioxidants and Anticancer Agents: More Questions than Answers. *Chang Gung Med J* Vol. 34 (5): 449-460
95. Padam S.K., Grover I.S., Singh M. 1996. Antimutagenic effects of polyphenols isolated from *Terminalia bellerica* myroblan in *Salmonella typhimurium*. *Indian J Exp Biol.* 34(2): 98-102
96. Guo W., Kong E., Meydani M. 2009. Dietary polyphenols, inflammation, and cancer. *Nutr Cancer.* 61: 807-10

97. Minozzo B.R., Lemes B.M., Justo Ada S., Lara J.E., Petry V.E., Fernandes D., Belló C., Velloso J.C., Campagnoli E.B., Nunes O.C., Kitagawa R.R., Avula B., Khan I.A., Beltrame F.L. 2016. Anti-ulcer mechanisms of polyphenols extract of *Euphorbia umbellata* (Pax) Bruyns (Euphorbiaceae). *J Ethnopharmacol.* 191: 29-40
98. Daglia M. 2012. Polyphenols as antimicrobial agents. *Curr Opin Biotechnol.* 23(2): 174-81.
99. Ivanova D., Gerova D., Chervenkov T., Yankova T. 2005. Polyphenols and antioxidant capacity of Bulgarian medicinal plants, *J. Ethnopharm.,* 96, 145-150
100. Seeram N.P., Aviram M., Zhang Y., Henning S.M., Feng L., Dreher M., Heber D. 2008. Comparison of Antioxidant Potency of Commonly Consumed Polyphenol-Rich Beverages in the United States, *Journal of Agricultural and Food Chemistry,* 56, 1415–1422
101. Müller L., Gnoyke S., Popken A.M. and Bohm V. 2010. Antioxidant capacity and related parameters of different fruit formulations. *LWT-Food Sci. Technol.* 6: 992-999
102. Costa R.M., Magalhaes A.S., Pereira J.A., Valentao P., Carvalho M. and Silva B.M. 2009. Evaluation of free radical-scavenging and antihemolytic activities of quince (*Cydonia oblonga*) leaf: A comparative study with green tea (*Camellia sinensis*). *Food Chem.Toxicol.* 4: 860-865
103. Gadagaa T.H., Mutukumiraa A.N., Narvhusb J.A., Feresu S.B. 1999. A review of traditional fermented foods and beverages of Zimbabwe. *International Journal of Food Microbiology* 53: 1–11
104. Popović B.T., Debeljak Martačić D.J., Tepsić J.J., Kujundžić M.S., Konić Ristić A., Glibetić M., Gurinović M.. 2011. Analytical analysis of traditional foods: Filling the gap in Serbian food composition database information. *Food&Feed Res.* 38: 39-42
105. Davidson G.I., Ene-Obong H.N., Chinma C.E.. 2017. Variations in nutrients composition of most commonly consumed cassava (*Manihot esculenta*) mixed dishes in South-Eastern Nigeria. *J Food Quality;* ahead of print

106. Al Faris N.A. 2017. Nutritional evaluation of selected traditional foods commonly consumed in Saudi Arabia. *J Food Nutr Res.* 5(3): 168-175

# **PRILOG**

## I Kuvana žučenica sa jajima

### 1. Sastojci

Naziv sastojka	Količina
list žučenice	500 g
voda	1000 ml
jaja	4 komada
so	
papar	
ostac	

### 2. Način pripreme

Žučenicu staviti u ključalu i posoljenu vodu i kuvati 10 minuta.



Dobro ocijediti, ohladiti i nasjeckati.



Tome dodati tvrdo kuvana i izmrvljena jaja.

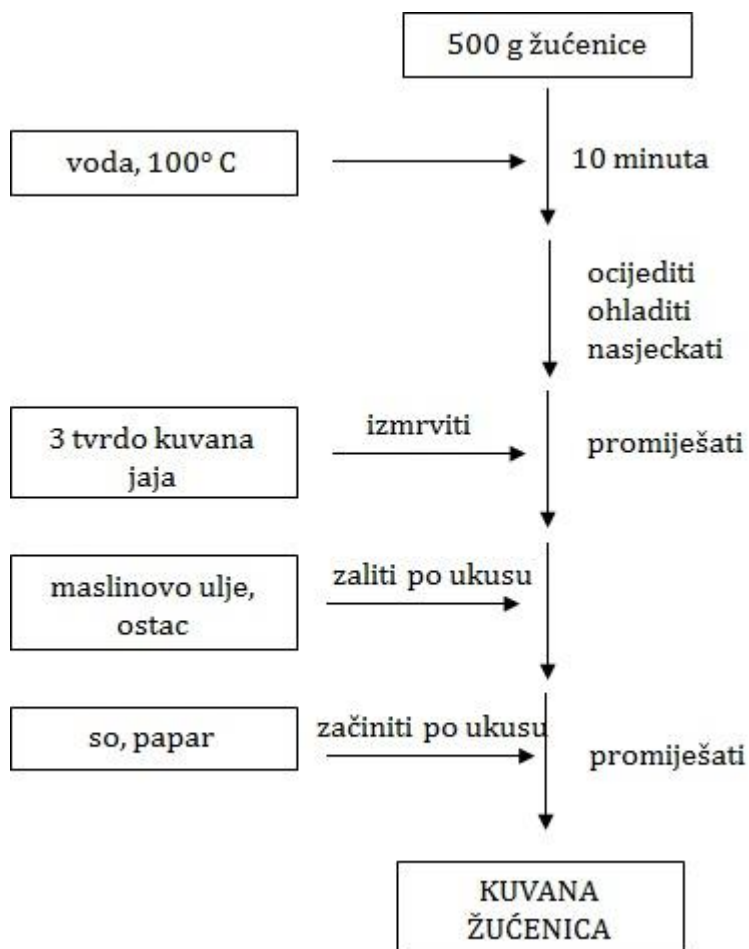


Zaliti uljem i ostom, posoliti i popapriti po ukusu.





## 3. Dijagram toka priprave



## 4. Značenje pojmov

*papar*-biber; *ostac*-vinsko sirće

## II Omlet od žučenice

### 1. Sastojci

Naziv sastojka	Količina
žučenica	500 g
jaja	3 komada
maslinovo ulje	
so	
papar	

### 2. Način pripreme

Žučenicu staviti u ključalu i posoljenu vodu i kuvati 10 minuta.



Ocijediti, ohladiti, nasjeckati pa je „prevrnuti“ na vruće ulje.

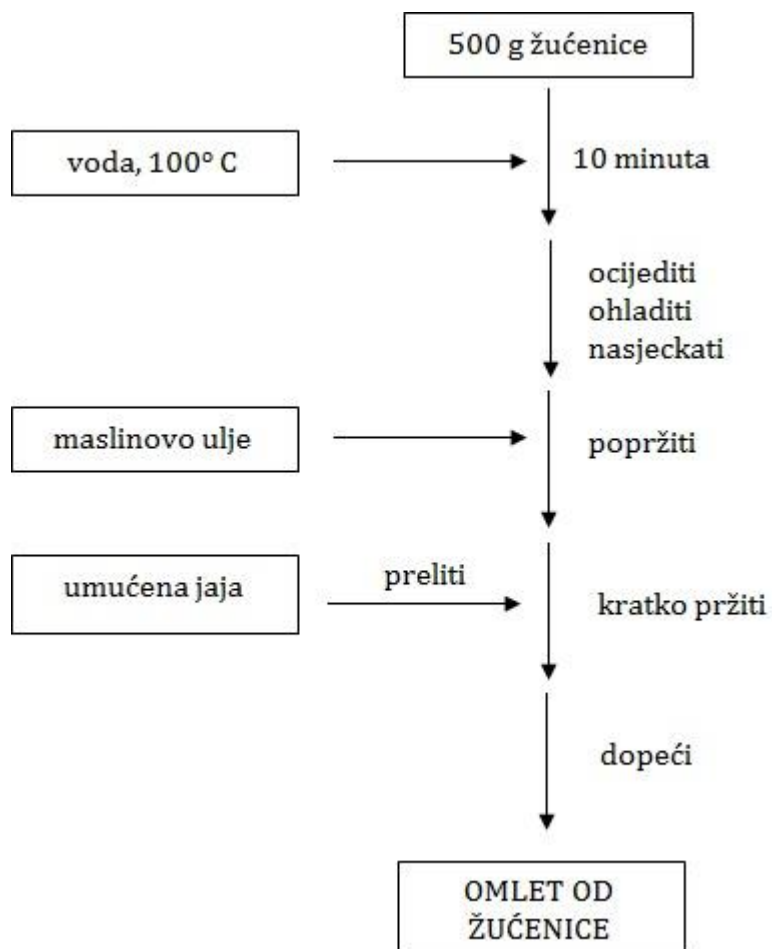




Kratko prigati sa umućenim jajima i dopeći.



## 3. Dijagram toka pripreme



## 4. Značenje pojmova

*papar-biber; prigati-pržiti*

### III Pita od kukuruznog brašna i žučenice

#### 1. Sastojci

Naziv sastojka	Količina
jaja	5 komada
mladi sir	500 g
kukuruzno brašno	4 čikare
žučenica	500 g
kisela voda	1 čikara
cukar	1 kućarin
kvasac	1 kocka
mlijeko	1 čikara
ulje	1 čikara
bijelo brašno	1 čikara
so	

#### 2. Način pripreme

Kvasac rastopiti u malo mlake vode i cukra.



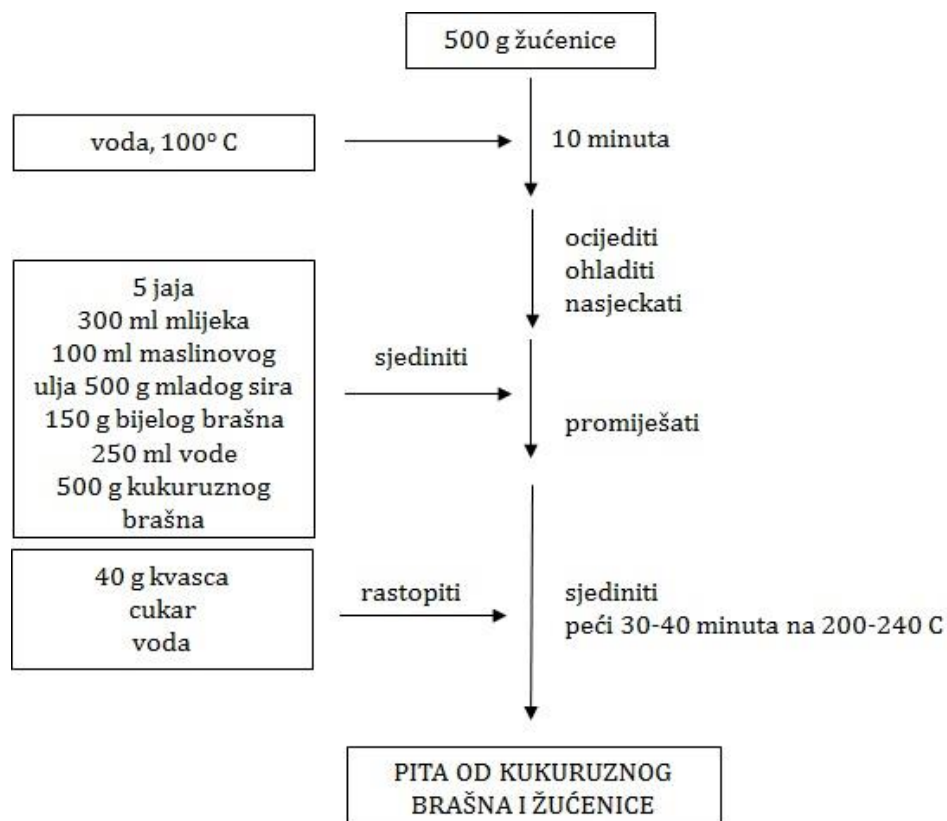
Žučenicu skuvati u posoljenoj vodi. Ocijediti i isjeckati.



Sve sastojke pomiješati pa dodati kvasac i peći na visokoj temperaturi 30-40 minuta.



### 3. Dijagram toka pripreme



### 4. Značenje pojmova

*ćikara* – šolja; *cukar*-šećer; *kućarin*-kašičica; bijelo brašno-pšenično brašno

## IV Kroketi od žučenice

### 1. Sastojci

Naziv sastojka	Količina
jaja	2 komada
bijelo brašno	150 g
mlijeko	200 ml
kisela pavlaka	2 ožice
slanina	100 g
žučenica	200 g
ulje za prženje	
petrusin	
so	
papar	

### 2. Način pripreme

Žumanca pomiješati sa brašnom, mlijekom, pavlakom i solju, pa pustiti da odstoji deset minuta.



Slaninu isjeći na kockice i poprigrati (popržiti), a na istom ulju poprigrati isjeckanu žučenicu i petrusin.

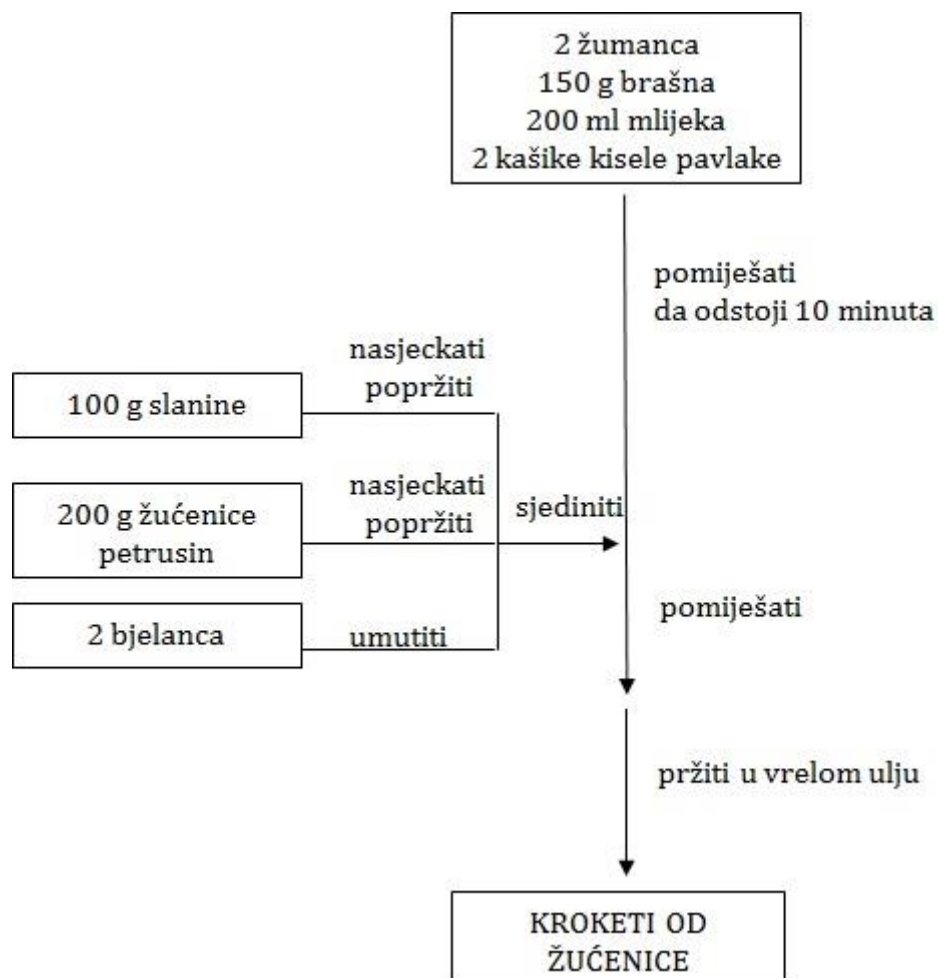


Umutiti bjelanca, pa sve sastojke sjediniti,  
po potrebi dodati još brašna, soli i papra pa  
praviti krokete i prigati u dosta ulja.





## 3. Dijagram toka pripreme



## 4. Značenje pojmova

*ožica*-kašika; *petrusin*-peršun; *papar*-biber; *prigati*-pržiti

## V Hladna čorba od žućenice

### 1. Sastojci

Naziv sastojka	Količina
jogurt	750 g
mlijeko	125 ml
žućenica	250 g
česan	2 špice
sjeckani orasi	2 ožice
sir u fete	150 g
sok od limuna	1 komad
maslinovo ulje	1 ožica
so	

### 2. Način pripreme

Sjediniti jogurt, mlijeko, limunov sok i maslinovo ulje, pa posoliti i popapriti po ukusu.



Dodati obarenu i isjeckanu žučenicu.



Česan usitniti i na ulju kratko poprigrati.



Sir isjeckati na kockice.



Sve sastojke staviti u supijeru pa posuti sjeckanim orasima.



## 3. Dijagram toka pripreme



## 4. Značenje pojmova

česan-bijeli luk; špica-čen; ožica-kašika; papar-biber; popapriti-pobiberiti; poprigati-popržiti; supijera-posuda za supu; feta-kriška

## VI Čorba od mlade žučenice

### 1. Sastojci

Naziv sastojka	Količina
žučenica	500 g
maslinovo ulje	3 ožice
integralno brašno	2-3 ožice
česan	2-3 špice
voda	500 ml
jaja	2 komada
kiselo mlijeko	200 ml
crveni papar	
so	

### 2. Način pripreme

Žučenicu skuvati u posoljenoj vodi. Ocijediti i isjeckati.



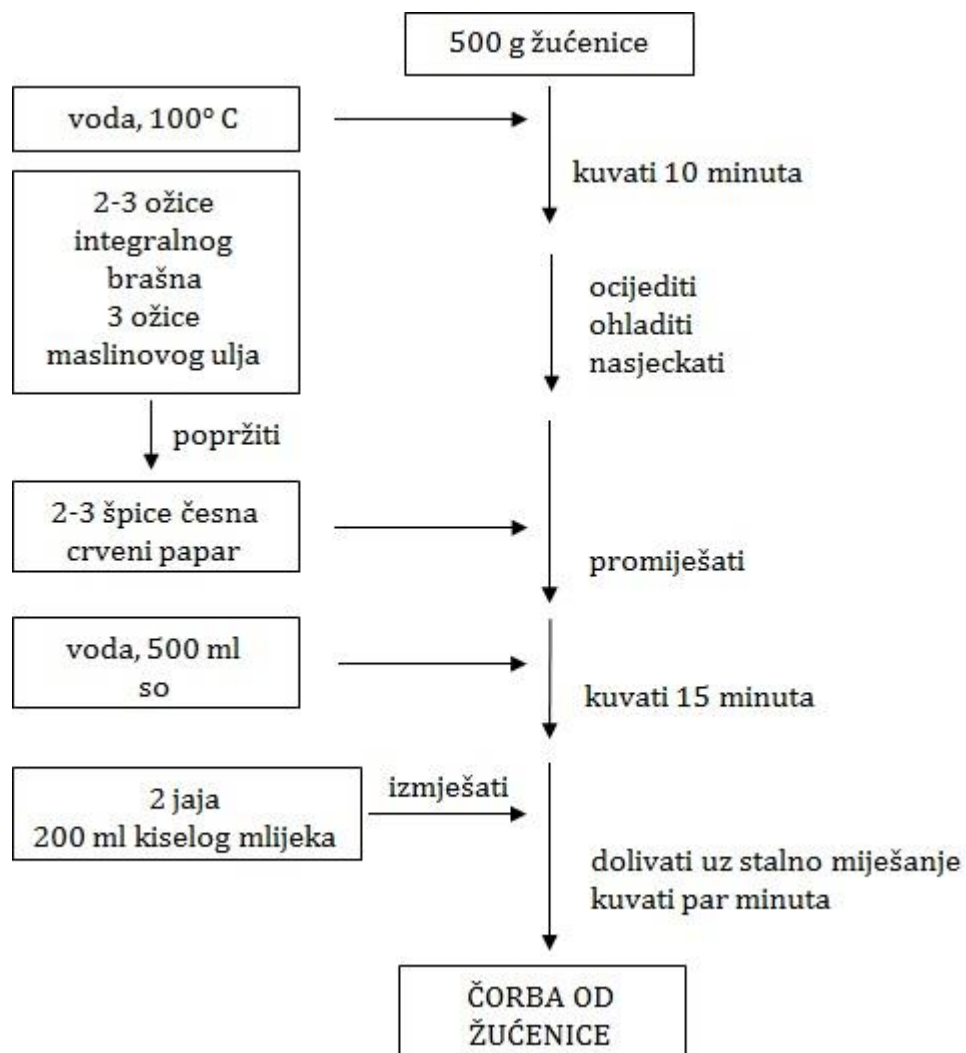
Na zagrijanom ulju zarumeniti brašno pa dodati isjeckan česan luk, crveni papar, žučenicu i sve zaliti vodom.



Posoliti i kuvati petanestak minuta.  
U supijeru ubatiti jaja, dodati kiselo mlijeko i  
miješajući, dolivati u čorbu.



## 3. Dijagram toka pripreme



## 4. Značenje pojmova

*ožica*-kašika; *špica*-čen; *česan*-bijeli luk; *crveni papar*-začinska paprika; *ubatiti*-umutiti; *supijera*-posuda za supu, čorbu.

## VII Zapečena fažola sa žućenicom

### 1. Sastojci

Naziv sastojka	Količina
fažola	500 g
žućenica	500 g
pamidore	1 kg
česan	5 špica
cukar	1 ožica
bosiok	
origano	
so	
papar	
maslinovo ulje	

### 2. Način pripreme

Pamidoru potopiti u vrelu vodu i ostaviti par minuta. Oguliti i isjeckati.

Na maslinovom ulju kratko poprigrati sitno isjckani česan i dodati pamidoru. Kuvati 20 minuta. U toć dodati začinsko bilje, so, papar i cukar. Nastaviti sa kuvanjem još pet minuta.

Fažolu, isjeckanu žućenicu i toć od pamidore pomiješati i staviti u zemljanu ili vatrostralnu posudu. Zapeći u špaheru.







## VIII Zeleni umak

### 1. Sastojci

Naziv sastojka	Količina
jaje	1 komad
hleb	3 fete
voda	pola čaše
kapar	1 ožica
ostac	1 ožica
maslinovo ulje	200 ml
žućenica	200 g
petrusin	

### 2. Način pripreme

Jaje tvrdo skuvati.



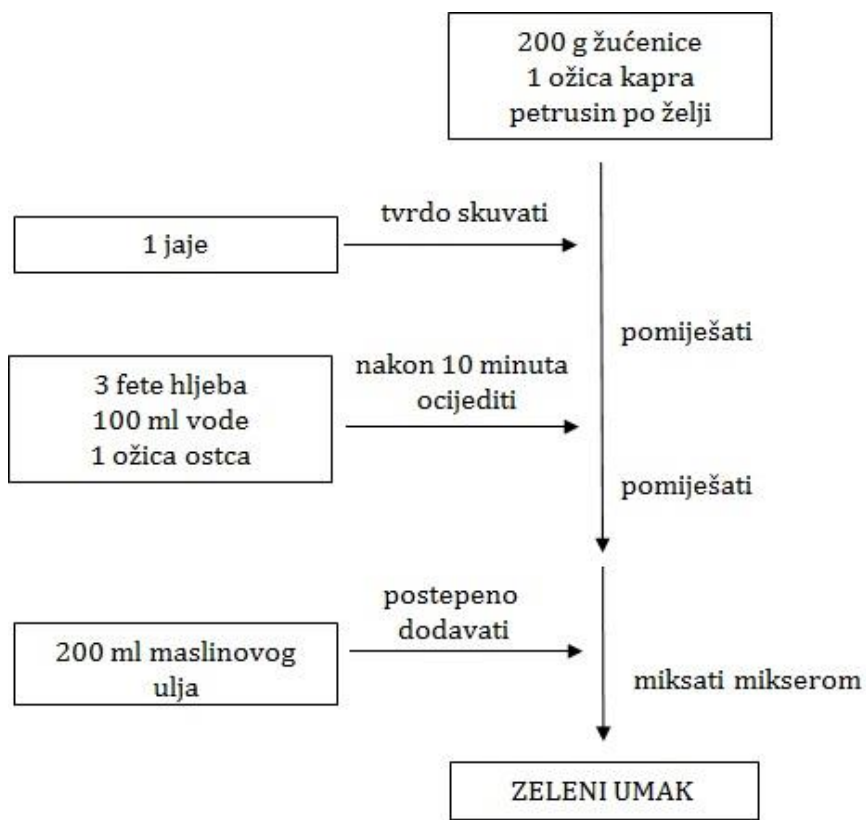
Hljeb staviti u zdjelu i zaliti sa pola čaše vode i ožicom osta, pa nakon deset minuta ocijediti.



Hljeb, jaje, ožicu kapra, žućenicu i petrusin staviti u mikser i izmiksati uz postepeno dodavanje 200 ml maslinovog ulja.



## 3. Dijagram toka pripreme



## 4. Značenje pojmova

*feta*-kriška; *kapar*-mirođoja; *petrusin*-peršun; *ožica*-kašika

## Изјава о ауторству

Име и презиме аутора \_\_\_\_\_ Дејан Јанчић \_\_\_\_\_

Број индекса \_\_\_\_\_ 13/07 \_\_\_\_\_

### Изјављујем

да је докторска дисертација под насловом

Традиција коришћења у исхрани, хемијске и нутритивне карактеристике  
самониклог и гајеног листа жућнице (*Cichorium intybus* L. Asteraceae)

---

---

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

Потпис аутора

У Београду, 11.09.2017.



---

## Изјава о истоветности штампане и електронске верзије докторског рада

Име и презиме аутора Јанчић Дејан

Број индекса 13/07

Студијски програм докторске академске студије – модул броматологија

Наслов рада Традиција коришћења у исхрани, хемијске и нутритивне карактеристике самониклог и гајеног листа жућенице (*Cichorium intybus* L. Asteraceae)


Ментор др Слађана Шобајић

Изјављујем да је штампана верзија мог докторског рада истоветна електронској верзији коју сам предао/ла ради похрањена у **Дигиталном репозиторијуму Универзитета у Београду**.

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

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

Потпис аутора



У Београду, 11.09.2017.

---

## Изјава о коришћењу

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

Традиција коришћења у исхрани, хемијске и нутритивне карактеристике самониклог и гајеног листа жућенице (*Cichorium intybus* L. Asteraceae)

---

која је моје ауторско дело.

Дисертацију са свим прилозима предао/ла сам у електронском формату погодном за трајно архивирање.

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

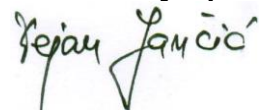
1. Ауторство (CC BY)
2. Ауторство – некомерцијално (CC BY-NC)
- 3. Ауторство – некомерцијално – без прерада (CC BY-NC-ND)**
4. Ауторство – некомерцијално – делити под истим условима (CC BY-NC-SA)
5. Ауторство – без прерада (CC BY-ND)
6. Ауторство – делити под истим условима (CC BY-SA)

(Молимо да заокружите само једну од шест понуђених лиценци.

Кратак опис лиценци је саставни део ове изјаве).

У Београду, 11.09.2017.

Потпис аутора



1. **Ауторство.** Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце, чак и у комерцијалне сврхе. Ово је најслободнија од свих лиценци.

2. **Ауторство – некомерцијално.** Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела.

3. **Ауторство – некомерцијално – без прерада.** Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, без промена, преобликовања или употребе дела у свом делу, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела. У односу на све остале лиценце, овом лиценцом се ограничава највећи обим права коришћења дела.

4. **Ауторство – некомерцијално – делити под истим условима.** Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце и ако се прерада дистрибуира под истом или сличном лиценцом. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела и прерада.

5. **Ауторство – без прерада.** Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, без промена, преобликовања или употребе дела у свом делу, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца дозвољава комерцијалну употребу дела.

6. **Ауторство – делити под истим условима.** Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце и ако се прерада дистрибуира под истом или сличном лиценцом. Ова лиценца дозвољава комерцијалну употребу дела и прерада. Слична је софтверским лиценцама, односно лиценцама отвореног кода.