

Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku

Odjel za biologiju

Preddiplomski studij biologije

Ivan Vlašiček

**Antioksidativna aktivnost vrste
Salvia hispanica L.**

Završni rad

Mentor: prof. dr. sc. Vera Cesar

Osijek, 2017. godina

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Odjel za biologiju

Završni rad

Znanstveno područje: Prirodne znanosti

Znanstveno polje: Biologija

ANTIOKSIDATIVNA AKTIVNOST VRSTE *Salvia hispanica* L.

Ivan Vlašiček

Rad je izrađen: Laboratoriju za staničnu i molekularnu biologiju biljaka, Odjel za biologiju, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku

Mentor: Dr. sc. Vera Cesar, red. prof.

Neposredni voditelj: Dr.sc. Lidija Begović

Kratak sažetak završnog rada: Chia (*Salvia hispanica* L.) jednogodišnja je biljka poznata kao izvor sjemenki bogatih nutrijentima. U ovome radu ispitivan je utjecaj osvjetljavanja etioliranih klijanaca chije, tijekom 24 i 48 sata, na njihovu ukupnu antioksidativnu aktivnost, te na sadržaj ukupnih topljivih polifenola, askorbinske kiseline i koncentraciju karotenoida. Najveća koncentracija karotenoida izmjerena je nakon 48 sati osvjetljavanja, jednako kao i sadržaja askorbinske kiseline. Sadržaj ukupnih topljivih polifenola te ukupna antioksidativna aktivnost veći su u klijanaca izloženih svjetlosti u odnosu na etiolirane kljance, ali nema razlike između klijanaca izloženih svjetlu nakon 24 i 48 sati. Iz dobivenih rezultata možemo zaključiti da osvjetljavanje povoljno djeluje na ukupnu antioksidativnu aktivnost klijanaca, sadržaj ukupnih topljivih polifenola i askorbinske kiseline te koncentraciju karotenoida.

Broj stranica: 15

Broj slika: 6

Broj tablica:

Broj literaturnih navoda: 16

Jezik izvornika: hrvatski

Ključne riječi: *Salvia hispanica*, chia, antioksidativna aktivnost, DPPH, polifenoli, askorbinska kiselina, karotenoidi

Rad je pohranjen u: u knjižnici Odjela za biologiju Sveučilišta Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku i u Nacionalnoj sveučilišnoj knjižnici u Zagrebu, u elektroničkom obliku, te je objavljen na web stranici Odjela za biologiju.

BASIC DOCUMENTATION CARD

Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Department of Biology

Bachelor's Thesis

Scientific area: Natural science

Scientific Field: Biology

ANTIOXIDATIVE ACTIVITY OF *Salvia hispanica* L.

Ivan Vlašiček

Thesis performed at: Laboratory of plant cell and molecular biology, Department of Biology

Supervisor: PhD Vera Cesar, Full professor

Assistant in charge: PhD Lidija Begović

Short abstract: Chia (*Salvia Hispanica* L.) is a one-year plant known as a source of nutrient-rich seeds. This thesis investigated the effect of illumination on etiolated seedlings during 24 and 48 hours. After treatment total antioxidant activity, total soluble polyphenols content, ascorbic acid content and carotenoid concentration was measured. The highest carotenoid concentration and ascorbic acid content were measured 48 hours after seedlings illumination. Total soluble polyphenols content and total antioxidant activity were higher in illuminated seedlings compared to etiolated, but there was no difference between seedlings exposed for 24 and 48 hours. From the obtained results we can conclude that illumination had beneficial effect on the total antioxidative activity, the content of total soluble polyphenols, ascorbic acid content and carotenoids concentration and in chia seedlings.

Number of pages: 15

Number of figures: 6

Number of tables:

Number of references: 16

Original in: Croatian

Key words: *Salvia hispanica*, chia, antioxidative activity, DPPH, total soluble phenolics, ascorbic acid, carotenoids

Thesis deposited in: Library of Department of Biology, University of J.J. Strossmayer Osijek and in National university library in Zagreb in electronic form. It is also available on the web site of Department of Biology, University of J.J. Strossmayer Osijek.

Sadržaj

1. Uvod	1
1.1. Upotreba.....	1
1.2. Nutrijenti u sjemenkama	2
1.3. Klijanci.....	2
1.4. Cilj rada.....	3
2. Materijali i metode	4
2.1. Priprema biljnog materijala.....	4
2.2. Tretman	4
2.3. Određivanje koncentracije karotenoida	4
2.4. Određivanje sadržaja ukupnih topljivih polifenola	5
2.5. Mjerenje ukupne antioksidativne aktivnosti	5
2.6. Određivanje sadržaja askorbinske kiseline	6
2.7. Statistička obrada rezultata	6
4. Rezultati	7
4.1. Koncentracija karotenoida nakon tretmana svjetlom.....	7
4.2. Sadržaj ukupnih topljivih polifenola nakon tretmana svjetlom	8
4.3. Ukupna antioksidativna aktivnost nakon tretmana svjetlom	9
4.4. Sadržaj askorbinske kiseline nakon tretmana svjetlom.....	9
5. Rasprava	10
5. Zaključci	13
7. Literatura.....	14

1. Uvod

Chia (*Salvia hispanica* L.) jednogodišnja je biljka iz porodice usnača (*Lamiaceae*). Autohtona je vrsta u Meksiku i sjevernoj Gvatemali gdje je uzgajana kao žitarica u predkolumbijsko doba (Cahill, 2003). Odrasla biljka naraste do 1 m visine, nasuprotno raspoređenih listova širokih 5cm, a dugih 8cm. Ima pojedinačne cvjetove bijele do ljubičaste boje (slika 1). Najvažniji proizvod ove biljke su sjemenke, dimenzija 1-2 mm u promjeru, ovalnog oblika, crne, sive ili bijele boje sa crnim točkicama.



Slika 1. *Salvia hispanica* L. (web 1)

1.1. Upotreba

Sjemenke se upotrebljavaju cijele, u obliku brašna ili se od njih dobiva ulje. Iako su neutralnog okusa, zanimljiv su dodatak hrani jer stvaraju ljepljivu sluz u kontaktu s vodom. Čitave sjemenke dodaju se u salate i napitke kako bi se poboljšala gustoća, a iz istog razloga brašno se može dodati u jogurte. Pošto sjemenke ne sadrže gluten, mogu se dodavati u brašno kako bi poboljšale pekarska svojstva tijesta. Sjemenke se mogu upotrijebiti i kao zamjena za jaja i ulje u slastičarstvu (Borneo, 2010).

1.2. Nutrijenti u sjemenkama

Ono što je od najvećeg značaja jest visok sadržaj nutrijenata u sjemenkama. One sadrže visok udio proteina, ne sadrže gluten, a bogate su i vlaknima. Vlakna su uglavnom netopljiva. Posebno je visok udio lipida. Od masnih kiselina najzastupljenije su linolna, (ω -3 masna kiselina), zatim linoleinska (ω -6 masna kiselina), te palmitinska kiselina i stearinska kiselina. Chia sjemenke su jedan od najboljih poznatih biljnih izvora ω -3 masnih kiselina. Sjemenke su također i vrlo dobar izvor minerala poput kalcija i magnezija (Marinelli i sur., 2014).

1.3. Klijanci

Klijanci se uzgajaju iz sjemenki raznih vrsta žitarica, povrća, orašastih plodova i sjemenki mahunarki. Klijanci žitarica i mahunarki sadrže velik udio proteina, kalcija, magnezija, vitamina A, vitamina B skupine, askorbinske kiseline (vitamina C) i E vitamina (Plaza i sur., 2003). Zbog relativno laganog, brzog i jednostavnog uzgoja, te zbog visokih nutritivnih vrijednosti, upotreba klijanaca u prehrani sve je popularnija i oni se smatraju hranom budućnosti.

Iako je uzgoj klijanaca chi je također jednostavan, oni se slabo upotrebljavaju zbog dosta intenzivnog okusa.

1.4. Cilj rada

Cilj ovoga rada je utvrditi utjecaj svjetlosnog tretmana različite duljine (24 i 48 sati) na etiolirane klijance čije mjerenjem ukupne antioksidativne aktivnosti, koncentracije karotenoida, sadržaja ukupnih topljivih polifenola i askorbinske kiseline (vitamina C).

2. Materijali i metode

2.1. Priprema biljnog materijala

Chia sjemenke (*Salvia hispanica* L., proizvođač Golden Sun, Argentina) nasađene su u 12 staklenki od 420 mL. U staklenke je prethodno stavljen sloj vate da potpuno prekrije dno i na njega dva sloja filter papira. Vodovodnom vodom navlaženi su vata i papir. Na papir je ravnomjerno raspoređeno 1,5 g sjemenki u jednom sloju. Staklenke su zatim omotane aluminijskom folijom, a folija koja prekriva otvor staklenke izbušena je histološkom iglicom kako bi se omogućilo prozračivanje. Tako pripremljene staklenke stavljene su u uzgojnu komoru na $22 \pm 1^\circ\text{C}$. Biljke su rasle 7 dana u tami i zalijevane su svaki drugi dan.

2.2. Tretman

Nakon 7 dana, uklonjena je aluminijska folija, a staklenke su izložene svjetlosti jačine 60-70 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ i temperaturi od $22 \pm 1^\circ\text{C}$ u trajanju od 24 i 48 sati dok je kontrolna grupa rasla i dalje u tami.

2.3. Određivanje koncentracije karotenoida

Karotenoidi su ekstrahirani zajedno sa ostalima fotosintetskim pigmentima i određeni po Lichenthaleru (1987). Uzeto je 0,5 g svježih klijanaca iz jedne staklenke, sa kojih su uklonjene sjemenke ili njihovi ostaci. Tkivo je homegenizirano tučkom u tarioniku sa tekućim dušikom. Prije homogenizacije dodan je $\text{Mg}(\text{HCO}_3)_2$ na vrhu spatule u tarionik. Tkivo je zatim dodano u prethodno označene i izvagane tubice od 2 mL. U svaku tubicu stavljeno je ok 0,1g tkiva. U tubice je zatim stavljeno 1 mL hladnog 100 % acetona. Pigmenti su ekstrahirani 24 sata na -20°C . Nakon ekstrakcije tubice su centrifugirane 15 minuta na 18000 G na 4°C . Mjerene su apsorbance na 470nm, 645nm, i 662nm pomoću spektrofotometra. Kao slijepa proba korišten je 1000 % aceton. Koncentracija karotenoida određene je prema formuli:

$$\text{Car} = (1000 \times A_{470} - 1,90 \times (11,24 \times A_{662} - 2,04 \times A_{645}) - 63,14 \times (20,13 \times A_{645} - 4,19 \times A_{662})) \times V / 214 \times m \times 10^3$$

gdje je Car koncentracija karotenoida u mg/g svježe tvari, A apsorbancija pri određenoj valnoj duljini, V volumen ekstrakta, a m masa svježeg tkiva.

2.4. Određivanje sadržaja ukupnih topljivih polifenola

Sadržaj ukupnih topljivih fenola određen je Folin-Ciocalteuovim reagensom (Singelton i Rossi, 1965). Uzeto je 2,5 g svježih klijanaca iz jedne staklenke. Tkivo je homogenizirano tučkom u tarioniku s tekućim dušikom. U prethodno izvagane plastične tubice od 12 mL stavljeno je oko 0,5 g tkiva i 2,5 mL 96 % etanola. Topljivi fenoli ekstrahirani su u etanolu 24 sata na -20°C . Uzorci su centrifugirani na 10 000 g, 10 minuta na 4°C te su odvojeni supernatanti. Za mjerenje ukupnih topljivih polifenola koristio se Folin- Ciocalteuov reagens (FC) razrijeđen s vodom u omjeru 1:2 (1 udio FC : 2 udjela vode). FC je razrijeđen neposredno prije uporabe i držan je u tami. Zasićena otopina natrijevog karbonata (Na_2CO_3) pripremljena je otapanjem 100g bezvodnog Na_2CO_3 u 400 mL destilirane vode nakon čega je otopina zagrijana do vrenja. Ohlađena otopina je profiltrirana i nadopunjena do konačnog volumena od 500 mL.

Za mjerenje je u reakciju dodano 100 μL uzorka, 700 μL destilirane vode i 50 μL FC reagensa. Smjesa je promiješana i inkubirana na sobnoj temperaturi 5 minuta, u nju je dodano 150 μL Na_2CO_3 te je dobro izmiješana. Uzorci su zatim inkubirani 60 minuta na 37°C u vodenoj kupelji. Apsorbanca je izmjerena na 725 nm pomoću spektrofotometra. Za izradu baždarne krivulje koristila su se razrjeđenja galne kiseline početne koncentracija 5 mg/mL. Rezultati su prikazani kao ekvivalenti galne kiseline na 100g svježe tvari.

2.5. Mjerenje ukupne antioksidativne aktivnosti

Ukupna antioksidativna aktivnost određena je metodom po Brand-Williamsu (1995.). Za mjerenje ukupne antioksidativne aktivnosti korišten je supernatant dobiven prilikom ekstrakcije ukupnih topljivih fenola. U 2mL tubice dodano je 20 μL toga ekstrakta i 980 μL 0,094mM DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) otopljenog u metanolu. Reakcija se odvijala u tami uz povremeno miješanje pri 20°C tijekom 15 minuta. Nakon 15 minuta izmjerena je apsorbanca pri 515 nm. Kako bi se izračunala ukupna antioksidativna aktivnost prethodno je izrađena baždarna krivulja za koju se koristio Trolox (6-hidroksi-2,5,7,8-tetrametilkroman-2-karbonska kiselina) kao standard. U 10 mL metanola otopljeno je 2,5 mg Troloxa. Napravljena su razrjeđenja troloksa u metanolu od 0,1mM do 5mM . Ukupna antioksidativna aktivnost izražena je u ekvivalentima Troloxa (mmol/g svježe tvari).

2.6. Određivanje sadržaja askorbinske kiseline

Sadržaj askorbinske kiseline (AA) u klijancima određen je prema Bendritter i sur. (1998.). Uzeto je 2,5 g svježih klijanaca iz jedne staklenke. Tkivo je homogenizirano tučkom u tarioniku s tekućim dušikom. U prethodno izvagane i označene tubice od 12 mL stavljeno je oko 0,5 g tkiva i dodano je 10 mL destilirane vode. Homogenati su centrifugirani 15 minuta na 3000 g i 4°C. Uzet je supernatant i korišten je za određivanje sadržaja AA. U reakcijsku smjesu koja se sastojala od 300 µL vodenog ekstrakta, odnosno supernatanta, 100 µL 13,3% trikloroetene kiseline i 25 µL deionizirane vode dodano je 75 µL 2,4-dinitrofenilhidrazin (DNPH) reagensa. Sam reagens pripremljen je otapanjem 2 g DNPH, 230 mg tiouree i 270 mg CuSO₄ u 100 mL 5M H₂SO₄. Slijepe probe napravljene su paralelno za svaki uzorak na isti način. Dobivene reakcijske smjese inkubirane su u vodenoj kupelji 60 minuta na 37°C. Nakon inkubacije i dodavanja DNPH reagensa u slijepe probe, u sve reakcijske smjese dodano je po 500 µL 65% H₂SO₄. Apsorbancija je mjerena je na 520 nm. Koncentracija AA dobivena je iz baždarne krivulje sa poznatim koncentracijama askorbinske kiseline (2,5 µg mL⁻¹ -20 µg mL⁻¹). Konačan sadržaj askorbinske kiseline izražen je u mg/100g svježe tvari.

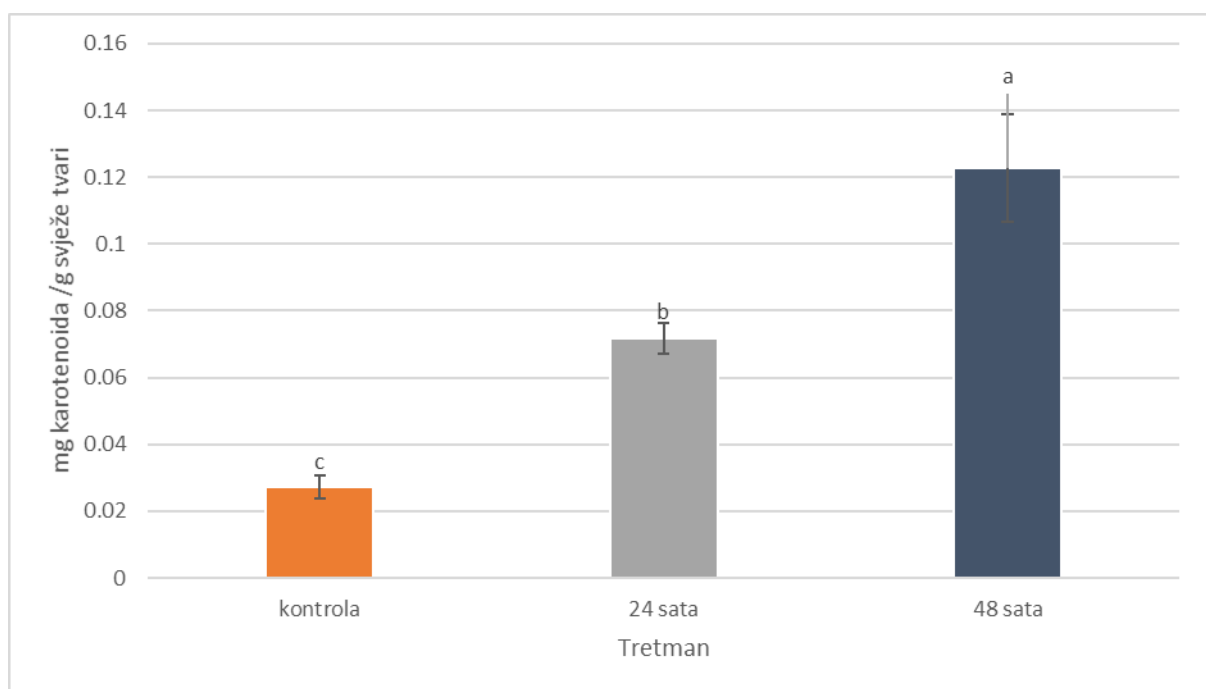
2.7. Statistička obrada rezultata

Rezultati su statistički obrađeni u programu Statistica 13.1 (StatSoft Inc. 2015). Rezultati su prikazani kao srednja vrijednost ± standardna devijacija (SD) 5 replika. Eksperiment je ponovljen 3 puta. Srednje vrijednosti između različitih grupa (kontrola, 24 sata i 48 sati tretmana) podvrgnute su analizi varijance s jednim promjenjivim faktorom, odnosno *one - way* ANOVA. Nakon toga je provedena *post hoc* analiza uz pomoć Fisher's LSD testa (engl. least significant difference).

4. Rezultati

4.1. Koncentracija karotenoida nakon tretmana svjetlom

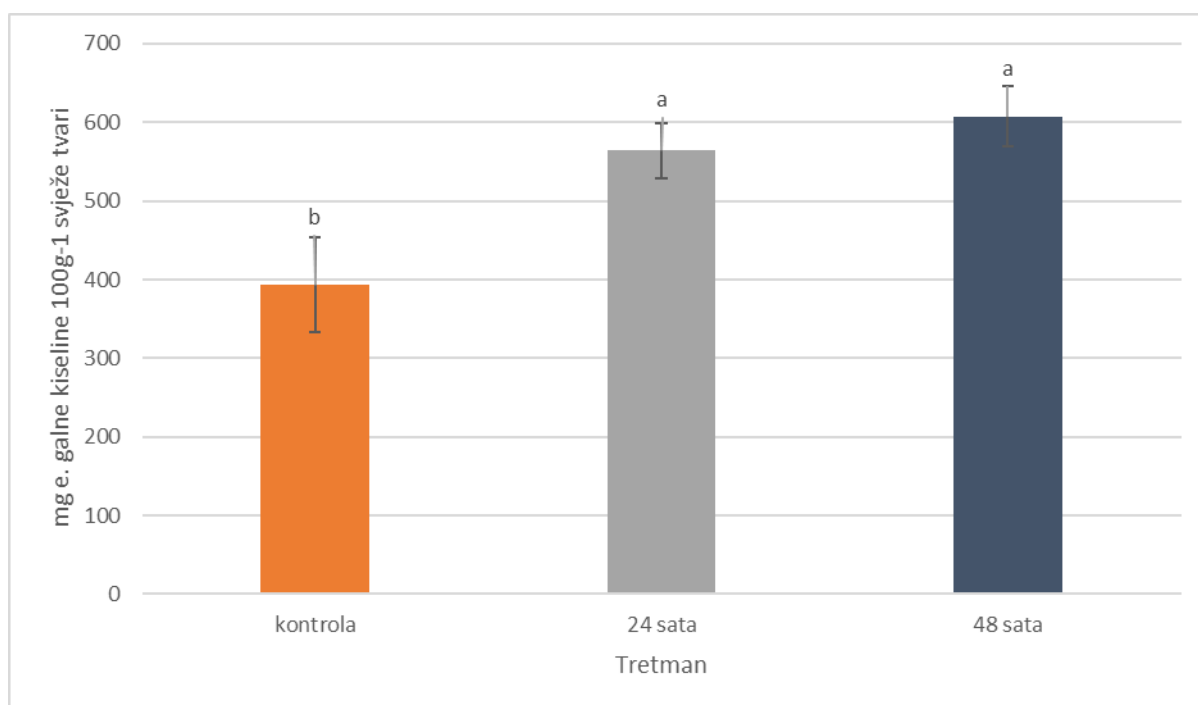
Statističkom analizom utvrđene su značajne razlike ($p \leq 0,05$) u koncentracijama karotenoida između kontrolne grupe klijanaca i klijanaca tretiranih svjetlom 24 sata, odnosno 48 sati (slika 2). Iz rezultata je vidljivo povećanje koncentracije karotenoida kod klijanaca tretiranih 24 sata svjetlom u odnosu na kontrolnu grupu. Također, vidljivo je i povećanje koncentracije karotenoida kod klijanaca tretiranih 48 sati svjetlom u odnosu na biljke tretirane 24 sata svjetlom i kontrolnu grupu.



Slika 2. Koncentracije karotenoida u klijanaca tretiranih svjetlom 24 sata, 48 sati i kontrolne grupe koja je rasla u mraku. Rezultati ($n=15$) prikazani su kao srednje vrijednosti \pm SD. Razlike između grupa testirane su LSD *post hoc* testom. Različita slova označavaju statistički značajne razlike između grupa ($p \leq 0,05$).

4.2. Sadržaj ukupnih topljivih polifenola nakon tretmana svjetlom

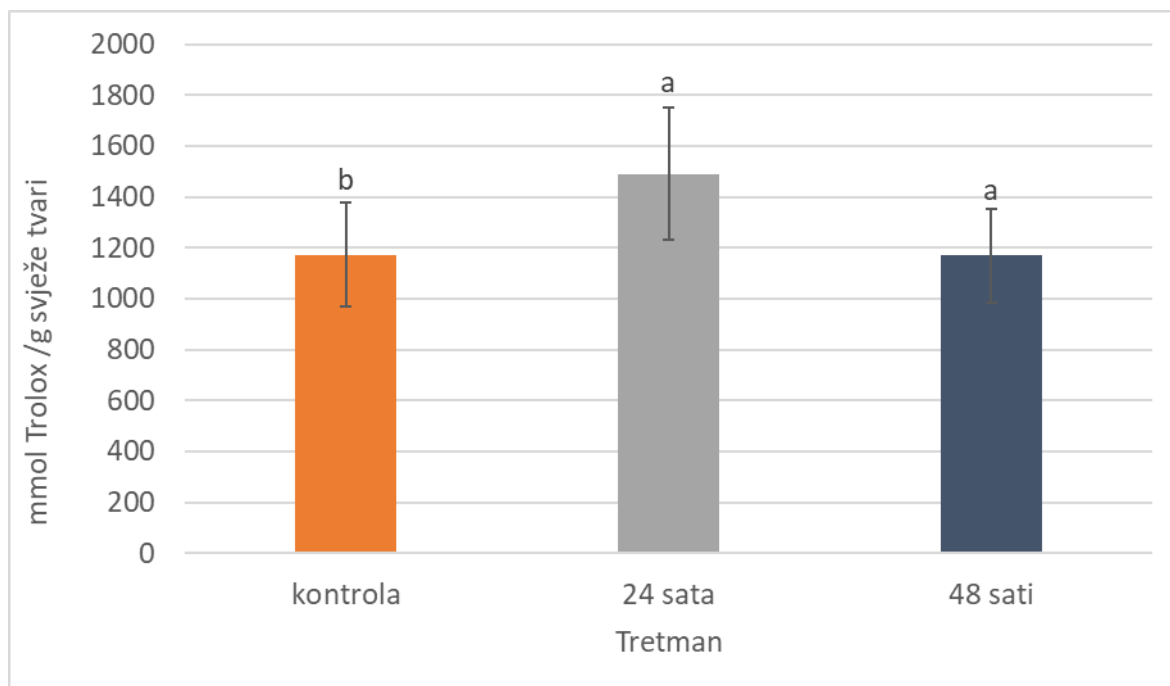
Statistička analiza pokazuje da postoje značajne razlike ($p \leq 0,05$) u sadržaju ukupnih topljivih polifenola između kontrolne grupe biljaka i biljaka tretiranih svjetlom (24 i 48 sati). Između biljaka osvijetljenih 24 sata i biljaka osvijetljenih 48 sata ne postoji statistički značajna razlika. Sadržaja ukupnih topljivih polifenola raste nakon osvijetljavanja biljaka u odnosu na kontrolnu grupu (slika 3.).



Slika 3. Sadržaj ukupnih topljivih polifenola u klijanaca tretiranih svjetlom 24 sata, 48 sati i kontrolne grupe koja je rasla u mraku. Rezultati ($n=15$) prikazani su kao srednje vrijednosti \pm SD. Razlike između grupa testirane su LSD *post hoc* testom. Različita slova označavaju statistički značajne razlike između grupa ($p \leq 0,05$).

4.3. Ukupna antioksidativna aktivnost nakon tretmana svjetlom

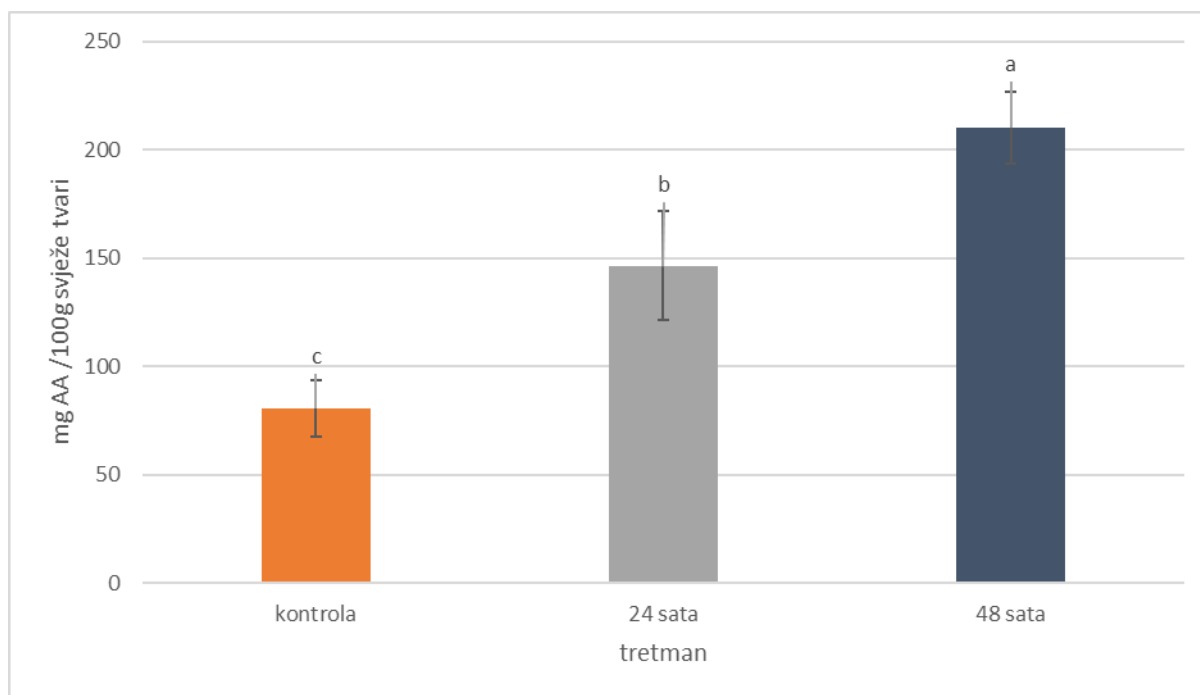
Statističkom analizom je utvrđeno da postoji statistički značajna razlika ($p \leq 0,05$) antioksidativne aktivnosti između kontrolne grupe biljaka tretiranih svjetlom 24 i 48 sata. Između biljaka osvjetljavanih 24 i 48 sati ne postoji statistički značajna razlika (slika 4).



Slika 4. Ukupna antioksidativna aktivnost u klijanaca tretiranih svjetlom 24 sata, 48 sati i kontrolne grupe koja je rasla u mraku. Rezultati ($n=15$) prikazani su kao srednje vrijednosti \pm SD. Razlike između grupa testirane su LSD *post hoc* testom. Različita slova označavaju statistički značajne razlike između grupa ($p < 0,05$).

4.4. Sadržaj askorbinske kiseline nakon tretmana svjetlom

Statističkom obradom rezultata utvrđeno je da postoje statistički značajne razlike ($p \leq 0,05$) između kontrolne grupe, biljaka osvjetljavanih 24 sata i biljaka osvjetljavanih 48 sati (slika 5.) Vidljivo je povećanje sadržaja askorbinske kiseline (AA) kod biljaka osvjetljavanih 24 sata u odnosu na kontrolnu grupu. U biljaka osvjetljavanih 48 sati je vidljivo povećanje sadržaja AA u odnosu na biljke osvjetljavane 24 sata i kontrolu.



Slika 5. Sadržaj askorbinske kiseline u klijanaca tretiranih svjetlom 24 sata, 48 sati i kontrolne grupe koja je rasla u mraku. Rezultati (n=15) prikazani su kao srednje vrijednosti \pm SD. Razlike između grupa testirane su LSD *post hoc* testom. Različita slova označavaju statistički značajne razlike između grupa ($p < 0,05$).

5. Rasprava

Rezultati pokazuju trend povećanja koncentracije karotenoida kod klijanaca tretiranih svjetlom 24 i 48 sati što ukazuje na povezanost sinteze karotenoida i duljine osvjetljavanja. Koncentracija karotenoida u klijancima puno je veća nego u sjemenkama gdje su fotosintetski pigmenti, a među njima i karotenoidi zastupljeni u tragovima (Amato i sur., 2015). Tijekom rasta klijanaca, a pogotovo prilikom osvjetljavanja dolazi do razvoja fotosintetskog aparata pa je vidljiva promjena boje (slika 6). Etiolirani klijanci iz kontrolne skupine i klijanci prije tretmana blijedo-žućkaste boje, a oni tretirani svjetlom promijenili su boju kotiledona u zelenu što je pokazatelj razvoja fotosintetskog aparata i sinteze klorofila.

U usporedbi sa koncentracijama karotenoida u povrću, rezultati pokazuju da je koncentracija karotenoida u kontrolnoj skupini klijanaca veća nego u špinatu, matovilcu, mrkvi i rajčici, a manja nego u kelju, crvenoj paprici i peršinu. U objema skupinama osvjetljanih klijanaca

koncentracija karotenoida veća je nego u spomenutom povrću (Müller, 1997). Također, koncentracija karotenoida veća je u svim grupama chia klijanaca nego u grejpu, papaji i nektarinama.



Slika 6. Razlike u boji između kontrolne grupe klijanaca (A), grupe tretirane 24 sata svjetlom (B) i grupe tretirane 48 sati svjetlom (C).

Osvjetljavanje utječe i na povećanje sadržaja ukupnih topljivih polifenola jer postoji statistički značajna razlika između osvjetljavanih klijanaca i onih koji su rasli u tami. Analiza nije pokazala utjecaj duljine osvjetljavanja na sadržaj ukupnih topljivih polifenola. Postoji hipoteza da polifenoli reguliraju fotosintezu i rast biljaka pa je moguće da je zato osvjetljavanje potaknulo povećanu sintezu polifenola (Hemingway i Laks, 1991). U istraživanju koje su proveli Khattak i sur. (2007) utvrđeno je da u klijancima slanutka (*Cicer arietinum* L.) dolazi do povećanja proizvodnje fenola topljivih u metanolu i vodi tijekom rasta 24 i 48 sati na fluorescentnom svijetlu, dok je u mraku nakon 48 sati izmjerena manji sadržaj.

Sadržaj ukupnih topljivih polifenola u sve tri skupine chia klijanaca manji je nego u chia sjemenkama (Marineli i sur., 2014). U usporedbi sa sadržajem ukupnih polifenola u voću i povrću sadržaj polifenola u chia klijancima tretiranim 48 sati svjetlom nešto je manji nego u borovnicama (*Vaccinium myrtillus* L.) koji iznosi 670,6 mg e. galne kiseline/100g svježe tvari. Od ostalog europskog voća sa sličnim sadržajem (iznad 300 mg e. galne kiseline/100g svježe tvari) ukupnih polifenola, kao i chia klijanci iz ovog istraživanja, mogu se istaknuti šljiva (*Prunus domestica* L.), divlja kupina (*Rubus coesins* L.), višnja (*Prunus cerasus* L.) i

crveni drijen (*Cornus mas* L.) Ostalo europsko voće, ali i povrće ima bitno manji sadržaj ukupnih topljivih polifenola (Marinova i sur., 2005).

Ako se uspoređi ukupni sadržaj polifenola chia klijanaca sa klijanacima dviju srednjeameričkih žitarica, kvinoje (*Chenopodium quinoa* Wild.) i amaranta (*Amaranthus cruentus* L.) (Paško i sur, 2009), vidljivo je da je i tu sadržaj ukupnih topljivih polifenola veći kod chia klijanaca pogotovo u osvjetljavanim skupinama klijanaca.

Tretman svjetlom utjecao je i na porast ukupne antioksidativne aktivnosti nakon tretiranja klijanaca svjetlom, a nema značajne razlike između onih tretiranih 24 sata i 48 sati. Kako je osvjetljavanje utjecalo na povećanje sadržaja pigmenata, odnosno koncentraciju karotenoida, ukupnih polifenola i askorbinske kiseline, koji vrše dio antioksidativne aktivnosti, bilo je za očekivati da će porasti i ukupna antioksidativna aktivnost. Zbog omjera utrošene mase Trolox-a i mase svježih tvari koji je veći od 1, nije moguće usporediti rezultate s ostalim istraživanjima antioksidativne aktivnosti, pa su ti rezultati pokazuju utjecaj osvjetljavanja na ukupnu antioksidativnu aktivnost. Moguće je reći da je kod klijanaca kvinoje i amaranta koje su analizirali Paško i sur. (2009) došlo do porasta ukupne antioksidativne aktivnosti u odnosu na sjemenke, ali ondje nije istraživana povezanost antioksidativne aktivnosti sa duljinom osvjetljavanja.

Za sadržaj askorbinske kiseline (AA) utvrđene su značajne razlike u sve tri ispitivane grupe i jasno je vidljivo da je osvjetljavanje nakon 24 sata i nakon 48 sati povezano sa povećanjem sadržaja AA. Prema istraživanju koje su proveli Xu, Dong i Zhu (2005) vrijeme rasta klijanaca soje (*Glycine max* L. Merr.) utjecalo je na rast sadržaja AA koja ima ulogu u regulaciji rasta. Najizraženije povećanje sinteze askorbinske kiseline bilo je tijekom prva četiri dana rasta, dok je dalje dolazilo do pada produkcije AA. Prilikom izlaganja svjetlu također se povećava sadržaj askorbinske kiseline, ali utjecaj svjetla nije toliko izražen kao što je utjecaj duljine samog vremena rasta na sadržaj askorbinske kiseline. Askorbinska kiselina sudjeluje u brojnim funkcijama u biljkama, od antioksidativne obrane i fotosinteze do regulacije rasta (Smirnoff, 1996). Kada se sadržaj askorbinske kiseline uspoređi sa klijanacima soje (*Glycine max* L. Merr.), lucerne (*Medicago sativa* L.) i pšenice (*Triticum aestivum* L.), može se utvrditi da osvjetljavane grupe klijanaca sadrže znatno više askorbinske kiseline od svih triju spomenutih vrsta (Plaza i sur., 2002). Također, sadržaj askorbinske kiseline znatno je veći od jagode, limuna, grejpa i ostalog voća (Szeto i sur., 2002).

5. Zaključci

Iako o postoje radovi o klijancima raznih biljnih vrsta, istraživanja na klijancima vrste chia (*Salvia hispanica* L.) nisu pronađena. Zbog toga rezultati su uspoređivani sa radovima na drugim biljnim vrstama, bilo na njihovim klijancima ili plodovima, odnosno dijelovima biljaka koji se upotrebljavaju u prehrani. Također, rezultati su uspoređivani i sa sjemenkama vrste *Salvia hispanica* L.

1. U ovom radu utvrđeno je da osvjetljavanje povoljno djeluje na ukupnu antioksidativnu aktivnost, te sintezu karotenoida, ukupnih topljivih polifenola i askorbinske kiseline.
2. Najveća koncentracija karotenoida kao i sadržaj askorbinske kiseline izmjereni su 48 sati nakon osvjetljavanja.
3. Sadržaj ukupnih topljivih polifenola te ukupna antioksidativna aktivnost veći su u klijanaca izloženih svjetlosti u odnosu na etiolirane klijance.

7. Literatura

- Amato M, Caruso CC, Guzzo F, Galgano F, Commisso M, Bochicchio R, Labella R, Favati F. 2015. Nutritional quality of seeds and leaf metabolites of Chia (*Salvia hispanica* L.) from Southern Italy. *Eur Food Res Technol* 241:1438-2377.
- Borneo R, Aguirre A, León AE. 2010. Chia (*Salvia hispanica* L) gel can be used as egg or oil replacer in cake formulations. *J Am Diet Assoc* 110:946-949.
- Brand-Williams W, Cuvelier ME, Berset C. 1995. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT - Food Sci Technol* 28:25-30.
- Cahill JP. 2003. Ethnobotany of Chia, *Salvia hispanica* L. (Lamiaceae). *Econ Bot* 57:604-618.
- Hemingway, R. W., & Laks, P. E. (Eds.). 2012. *Plant polyphenols: synthesis, properties, significance*. Vol. 59 Springer Science & Business Media, New York, USA, 1053 pp.
- Khattak AB, Zeb A, Bibi N, Khalil SA, Khattak MS. 2007. *Food Chem* 104:1074-1079.
- Lichtenthaler HK. 1987. Chlorophylls and carotenoids: Pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods Enzymol* 148:350-382.
- Marinelli RS, Moraes EA, Lenquiste SA, Godoy AT, Eberlin MN, Marostica MR. 2014. Chemical characterization and antioxidant potential of Chilean chia seeds and oil (*Salvia hispanica* L.). *LWT - Food Sci Technol* 59:1304-1310.
- Marinova D, Ribarova F, Atanassova M. 2005. Total phenolic and flavonoids in Bulgarian fruits and vegetables. *J Chem Technol Metall* 40:255-260.
- Müller H. 1997. Determination of the carotenoid content in selected vegetables and fruit by HPLC and photodiode array detection. *Eur Food Res Technol* 204:88-94.
- Paško P, Bartoń H, Zagrodzki P, Gorinstein S, Folta M, Zachwieja Z. 2009. Anthocyanins, total polyphenols and antioxidant activity in amaranth and quinoa seeds and sprouts during their growth. *Food Chem* 115:994-998.

Plaza L, de Ancos B, Cano MP. 2003. Nutritional and health- related compounds in sprouts and seeds of soybean (*Glycine max*), wheat (*Triticum aestivum* L.) and alfalfa (*Medicago sativa*) treated by a new drying method. *Eur Food Res Technol* 216:138-144.

Singleton VL, Rosi JA. 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic–phosphotungstic acid reagents. *Am J Enol Vitic* 16:144–158.

Smirnoff N. 1996. The Function and Metabolism of Ascorbic Acid in Plants. *Ann Bot* 78:661-669.

Szeto YT; Tomlinson B, Benzie FF. 2002. Total antioxidant and ascorbic acid content of fresh fruits and vegetables: implications for dietary planning and food preservation. *Br J Nutr* 87:55-59.

Web izvor

1. <http://www.biocity.hu/blog/wp-content/uploads/2014/09/salvia-hispanica-1.jpg>