Bioraspoloživost K, Ca, Mg, Mn, Fe, Zn i Se iz pšenične trave (Triticum aestivum L.)

Grubišić Šestanj, Sanja

Doctoral thesis / Disertacija

2022

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:
Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Faculty of Agrobiotechnical Sciences Osijek / Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Fakultet agrobiotehničkih znanosti Osijek

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:151:094235

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-28**

Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku
Fakultet agrobiotehničkih znanosti Osijek

Repository / Repozitorij:

Repository of the Faculty of Agrobiotechnical Sciences Osijek - Repository of the Faculty of Agrobiotechnical Sciences Osijek

Image not found or type unknown

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

Sanja Grubišić Šestanj, mag. ing. agr.

BIORASPOLOŽIVOST K, Ca, Mg, Mn, Fe, Zn I Se IZ PŠENIČNE TRAVE (*Triticum aestivum* L.)

DOKTORSKA DISERTACIJA

Osijek, 2022.

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

Sanja Grubišić Šestanj, mag. ing. agr.

BIORASPOLOŽIVOST K, Ca, Mg, Mn, Fe, Zn I Se IZ PŠENIČNE TRAVE (*Triticum aestivum* L.)

- Doktorska disertacija -

Osijek, 2022.

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

Sanja Grubišić Šestanj, mag. ing. agr.

BIORASPOLOŽIVOST K, Ca, Mg, Mn, Fe, Zn I Se IZ PŠENIČNE TRAVE (*Triticum aestivum* L.)

- Doktorska disertacija -

Mentor: izv. prof. dr. sc. Andrijana Rebekić
Komentor: doc. dr. sc. Katarina Mišković Špoljarić

Povjerenstvo za ocjenu:

1. **dr. sc. Sonja Petrović, redovita profesorica Fakulteta agrobiotehničkih znanosti Osijek, predsjednik**
2. **dr. sc. Miroslav Lisjak, izvanredni profesor Fakulteta agrobiotehničkih znanosti Osijek, član**
3. **dr. sc. Domagoj Šimić, znanstveni savjetnik u trajnom izboru Poljoprivrednog instituta Osijek, član**

Osijek, 2022.

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

Sanja Grubišić Šestanj, mag. ing. agr.

BIORASPOLOŽIVOST K, Ca, Mg, Mn, Fe, Zn I Se IZ PŠENIČNE TRAVE (*Triticum aestivum* L.)

- Doktorska disertacija -

Mentor: izv. prof. dr. sc. Andrijana Rebekić
Komentor: doc. dr. sc. Katarina Mišković Špoljarić

Javna obrana doktorske disertacije održana je 07. studenoga 2022. godine pred Povjerenstvom za obranu:

Povjerenstvo za ocjenu:

1. **dr. sc. Sonja Petrović, redovita profesorica Fakulteta agrobiotehničkih znanosti Osijek, predsjednik**
2. **dr. sc. Miroslav Lisjak, izvanredni profesor Fakulteta agrobiotehničkih znanosti Osijek, član**
3. **dr. sc. Domagoj Šimić, znanstveni savjetnik u trajnom izboru Poljoprivrednog instituta Osijek, član**

Osijek, 2022.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku

Doktorska disertacija

Fakultet agrobiotehničkih znanosti Osijek
Poslijediplomski sveučilišni (doktorski) studij: Poljoprivredne znanosti
Smjer: Oplemenjivanje bilja i sjemenarstvo

UDK:
Znanstveno područje: Biotehničke znanosti
Znanstveno polje: Poljoprivreda
Grana: Genetika i oplemenjivanje bilja, životinja i mikroorganizama

Bioraspoloživost K, Ca, Mg, Mn, Fe, Zn i Se iz pšenične trave (*Triticum aestivum* L.)

Sanja Grubišić Šestanj, mag. ing. agr.

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

Mentor: Izv. prof. dr. sc. Andrijana Rebekić
Komentor: doc. dr. sc. Katarina Mišković Špoljarić

Cilj ovog istraživanja je ispitati varijabilnost genotipova pšenice na temelju ukupnih i *in vitro* bioraspoloživih koncentracija K, Ca, Mg, Mn, Fe, Zn i Se u soku pšenične trave. Zatim, ispitivao se utjecaj biofortifikacije Zn i Se i utjecaj različitih termina žetve na ukupne *in vitro* bioraspoložive koncentracije K, Ca, Mg, Mn, Fe, Zn i Se u soku i prahu pšenične trave izabranih genotipova. Preliminarnim istraživanjem ispitana je genetska varijabilnost s obzirom na ukupne i *in vitro* bioraspoložive koncentracije K, Ca, Mg, Mn, Fe, Zn i Se na ukupno 98 sorti i 5 divljih srodnika, na temelju čega je izabrano 10 genotipova pšenice za poljski pokus u kojem su tijekom vegetacijskog uzgoja bili izloženi folijarnoj aplikaciji Zn i Se, a iz biofortificiranog zrna uzgajala se pšenična trava za daljnji tijek istraživanja. Provedenim istraživanjem utvrđena je velika varijabilnost između ispitivanih genotipova s obzirom na ukupne i *in vitro* bioraspoložive koncentracije ispitivanih elemenata. Analizom varijance utvrđeno je da primjenjena biofortifikacija Zn i Se ima statistički značajan utjecaj ($p < 0,001$) na ukupne koncentracije K, Mn, Fe, Zn i Se i *in vitro* bioraspoložive koncentracije Ca, Mg, Mn, Fe, Zn i Se u soku te na ukupne koncentracije K, Mn, Zn i Se i *in vitro* bioraspoložive koncentracije Ca, Mg, Mn, Fe, Zn i Se u prahu pšenične trave. Statistički značajan utjecaj ($p < 0,001$) na ukupne koncentracije Ca, Mg, K, Mn, Fe, Zn i Se i *in vitro* bioraspoložive koncentracije Ca, Mg, Mn, Fe i Zn u soku pšenične trave utvrđen je i kod različitog termina žetve. Provedenim istraživanjem utvrđena je veća *in vitro* bioraspoloživost svih ispitanih elemenata u soku u odnosu na prah pšenične trave, no treba napomenuti kako je veća koncentracija elemenata u prahu nego u soku pšenične trave.

Broj stranica: 163
Broj slika: 13
Broj tablica: 65
Broj literaturnih navoda: 235
Jezik izvornika: hrvatski

Ključne riječi: pšenična trava, bioraspoloživost, biofortifikacija, *in vitro* simulacija probave

Datum obrane: 07.11.2022.

Povjerenstvo za obranu:
1. **prof. dr. sc. Sonja Petrović –** predsjednica
2. **izv. prof. dr. sc. Miroslav Lisjak –** član
3. **izv. prof. dr. sc. Domagoj Šimić** – član

Disertacija je pohranjena u:
Nacionalna i sveučilišna knjižnica u Zagrebu, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Sveučilište u Zagrebu, Sveučilište u Rijeci, Sveučilište u Split

BASIC DOCUMENTATION CARD

University of Josipa Jurja Strossmayera in Osijek

PhD thesis

Faculty of Agrobiotechnical Sciences Osijek
Postgraduate university study: Agricultural sciences
Course: Plant Breeding and Seed Production

UDK:
Scientific Area: Biotechnical Sciences
Scientific Field: Agriculture
Branch: Genetics and breeding of plants, animals and microorganisms

Bioavailability of K, Ca, Mg, Mn, Fe, Zn and Se from wheatgrass (*Triticum aestivum* L.)

Sanja Grubišić Šestanj, MEngSC

Thesis performed at Faculty of Agrobiotechnical Sciences Osijek, University of Josipa Juraj Strossmayera in Osijek

Supervisor: Assoc. prof. Andrijana Rebekić, PhD
Co-supervisor: Doc. Katarina Mišković Špoljarić, PhD

The aim of this research is to examine the variability of wheat genotypes based on total and *in vitro* bioavailable concentrations of K, Ca, Mg, Mn, Fe, Zn and Se in wheatgrass juice. In addition, the influence of biofortification of Zn and Se and the influence of different harvest dates on the total *in vitro* bioavailable concentrations of K, Ca, Mg, Mn, Fe, Zn and Se in juice and powder of wheatgrass of selected genotypes were examined. The preliminary research examined the genetic variability with regard to the total and *in vitro* bioavailable concentrations of K, Ca, Mg, Mn, Fe, Zn and Se in a total of 98 varieties and 5 wild relatives, on the basis of which 10 wheat genotypes were chosen for the field experiment in which were exposed to foliar application of Zn and Se during vegetation cultivation, and wheatgrass was grown from the biofortified grain for further research. The conducted research revealed great variability between the tested genotypes with regard to the total and *in vitro* bioavailable concentrations of the tested elements. Analysis of variance revealed that the applied biofortification has a statistically significant effect ($p < 0.001$) on the total concentrations of K, Mn, Fe, Zn and Se and *in vitro* bioavailable concentrations of Ca, Mg, Mn, Fe, Zn and Se in the juice and on total concentrations of K, Mn, Zn and Se and *in vitro* bioavailable concentrations of Ca, Mg, Mn, Fe, Zn and Se in wheatgrass powder. A statistically significant influence ($p < 0.001$) on the total concentrations of Ca, Mg, K, Mn, Fe, Zn and Se and *in vitro* bioavailable concentrations of Ca, Mg, Mn, Fe and Zn in wheatgrass juice was also determined at different harvest dates. It was determined higher *in vitro* bioavailability of all tested elements in the juice compared to the wheatgrass powder.

Number of pages: 163
Number of figures: 13
Number of tables:65
Number of references: 235
Original in: croatian

Key words: wheatgrass, bioavailability, simulation digestion *in vitro*, biofortification,

Date of the thesis defense: November, 07, 2022

Reviewrs:
1. **Prof. dr. sc. Sonja Petrović –** president
2. **Assoc. prof. dr. sc. Miroslav Lisjak –** member
3. **Assoc. prof. dr. sc. Domagoj Šimić** – member

Thesis deposited in: National and University Library, University of Josip Juraj Strossmayer in Osijek, University of Zagreb; University of Rijeka; University of Split

KAZALO

1. UVOD 1
   1.1. Pregled literature 4
   1.2. Cilj istraživanja 26
2. MATERIJAL I METODE RADA 27
   2.1. Biljni materijal 27
   2.2. Uzgoj pšenične trave 30
   2.3. Poljski pokus 31
   2.4. Priprema uzoraka soka i praha pšenične trave 32
   2.5. Simulacija probave *in vitro* 34
   2.6. Određivanje *in vitro* biodostupnosti primjenom Caco-2 staničnog modela 39
   2.7. Mjerenje koncentracija K, Ca, Mg, Mn, Fe, Zn i Se 43
   2.8. Statistička obrada podataka 45
3. REZULTATI ISTRAŽIVANJA 46
   3.1. Varijabilnost genotipova pšenice obzirom na ukupne i *in vitro* bioraspoložive koncentracije K, Ca, Mg, Fe, Mn i Zn u soku pšenične trave 46
   3.2. Usporedba koncentracija genotipova izabranih za poljski pokus s prosječnim koncentracijama K, Ca, Mg, Fe, Mn i Zn u uzorku 61
   3.3. Koncentracije K, Ca, Mg, Fe, Mn, Zn i Se u zrnu pšenice nakon biofortifikacije 71
   3.4. Koncentracije K, Ca, Mg, Fe, Mn, Zn i Se u soku pšenične trave nakon biofortifikacije 79
   3.5. Koncentracije K, Ca, Mg, Fe, Mn, Zn i Se u prahu pšenične trave nakon biofortifikacije 106
   3.6. Apsorpcija Mg, Se, Fe i Zn pomoću Caco-2 stanične linije 119
4. RASPRAVA 124
   4.1. Sortna specifičnost pšenice obzirom na ukupne i *in vitro* bioraspoložive koncentracije K, Ca, Mg, Fe, Mn i Zn u soku pšenične trave 124
   4.2. Utjecaj biofortifikacije Zn i Se na ukupne i *in vitro* bioraspoložive koncentracije K, Ca, Mg, Fe, Mn, Zn i Se u pšeničnoj travi 127
   4.3. Bioraspoloživost K, Ca, Mg, Fe, Mn, Zn i Se iz pšenične trave i apsorpcija pomoću Caco-2 stanične linije 130
   4.4. Pogodnost ispitivanih genotipova pšenice kao prirodnog dodatka prehrani 132
   4.5. Značaj rezultata u oplemenjivanju pšenice 133
5. ZAKLJUČAK 135
6. LITERATURA 136
7. SAŽETAK 157
8. SUMMARY 158
9. PRILOG 159
10. ŽIVOTOPIS 163

"Kad nešto uistinu jako želiš, onda se cijeli svemir uroti da to i ostvariš."

Paulo Coelho

Za ukazano povjerenje i pruženu priliku, kao i na svom strpljenju, razumijevanju, trudu i nesebičnoj pomoći te znanju i vještinama koje mi je prenijela tijekom izrade doktorske disertacije duboku zahvalnost iskazujem mentorici izv. prof. dr. sc. Andrijani Rebekić.

Za sav uloženi trud i zalaganje, znanje koje je prenijela te pomoć koju je pružila tijekom izrade doktorske disertacije iskreno se zahvaljujem svojoj komentorici doc. dr. sc. Katarini Mišković Špoljarić.

Hvala prof. dr. sc. Sonji Petrović na svim sugestijama tijekom izrade doktorske disertacije, kao i na svim upućenim toplim riječima podrške.

Hvala izv. prof. dr. sc. Miroslavu Lisjaku na svim savjetima, pomoći i svoj pruženoj podršci tijekom izrade doktorske disertacije.

Zahvaljujem se izv. prof. dr. sc. Domagoju Šimiću na pregledu i čitanju doktorske disertacije, ali i na svim upućenim sugestijama.

Najveće i najiskrenije hvala mojoj obitelji koja mi je bila zvijezda vodilja cijeloga života, a koja mi je svojom bezuvjetnom ljubavlju, podrškom i razumijevanjem pružila potrebnu snagu i hrabrost za sva moja postignuća. Vama, najdraži moji, posvećujem ovu doktorsku disertaciju.

Sanja Grubišić Šestanj

Istraživanje je financirano od strane Hrvatske zaklade za znanost (HRZZ) u sklopu Uspostavno – istraživačkog projekta „Genotipska specifičnost pšenične trave (*Triticum aestivum* L.) visokonutritivnog prirodnog dodatka prehrani“.

1. UVOD

Pšenica (*Triticum aestivum* L.) je uz rižu (*Oryza sativ*a L.) i kukuruz (*Zea mays* L.) najznačajnija žitarica na svijetu. Prehranjuje preko 70 % svjetskog stanovništva, te se prema podacima FAOSTAT-a u 2020. godini u svijetu uzgajala na više od 219 milijuna hektara od čega se u Europi uzgajala na 61 milijuna hektara s prosječnim prinosom od 4,13 t ha^{-1}. Najveći proizvođači pšenice u svijetu su Kina, SAD, Indija, Rusija i Kanada.

Kao jedna od najčešće uzgajanih ratarskih kultura, pšenica se može uzgajati i radi svojih mladih listova koji se mogu koristiti kao prirodan dodatak prehrani. U tom slučaju, govori se o pšeničnoj travi, odnosno o mladim izdancima pšenice koji su, ako se uzgajaju u kontroliranim uvjetima, stari do 15 dana nakon nicanja. Odnosno, koriste se prije ulaska u fazu vlatanja. S obzirom na visoku nutritivnu vrijednost, pšenična trava se ubraja u funkcionalnu hranu – hranu koja pored svoje osnovne nutritivne vrijednosti na pozitivan i zadovoljavajući način utječe na jedan ili više ciljanih funkcija tijela smanjujući rizik razvoja pojedinih bolesti (Roberfroid, 2000.). Pšenična trava se najčešće koristi u obliku svježeg soka ili praha, ali se može koristiti i u obliku tableta. Visoka nutritivna vrijednost pšenične trave, temelji se na činjenici da je bogata klorofilom, mineralima, aminokiselinama, vitaminima i enzimima (Padalia i sur., 2010.). Zbog svog bogatog i raznolikog kemijskog sastava pšenična trava pozitivno utječe na funkcioniranje ljudskog organizma i općenito na zdravlje čovjeka. Brojna istraživanja su pokazala da sok pšenične trave zahvaljujući bioaktivnim komponentama i izraženoj antioksidativnoj aktivnosti pomaže u prevenciji raznih oboljenja poput karcinoma, te doprinosi lakšem podnošenju dugotrajnih terapija kod kroničnih bolesnika.

Iako se u razvijenim dijelovima svijeta velika količina hrane baca, procjenjuje se da oko tri milijarde svjetskog stanovništva nema osiguranu uravnoteženu prehranu (WHO, 2020.b) te da svaki treći čovjek na svijetu pati od nedostatka nekog mikronutrijenta. Prevalencija ovakve vrste pothranjenosti najveća je u siromašnim zemljama i zemljama u razvoju, gdje je zbog velikog siromaštva nemoguća pravilna i uravnotežena prehrana. U siromašnim dijelovima svijeta temelj svakodnevne prehrane čine žitarice koje imaju vrlo niske koncentracije željeza i cinka, a čiji nedostatak pogađa preko dvije milijarde ljudi (Cakmak i sur., 2010.). Kao moguća pomoć u smanjenju pothranjosti mikroelementima koristi se biofortifikacija. Biofortifikacije je mjera kojom se povećava sadržaj željenog nutrijenta u jestivim dijelovima biljaka. Biofortifikacijom žitarica može se utjecati na povećanje udjela željenih minerala u zrnu, što će posljedično konzumacijom obogaćenih žitarica utjecati na

povećanje dnevnog unosa mikronutrijenata u organizam. Povećanje ukupnih koncentracija minerala u zrnu je vrlo važno te se može smatrati prvim korakom u olakšavanju globalnog problema s deficitom mikronutrijenata. Obzirom da se biofortifikacijom mogu povećati ukupne koncentracije poželjnih mikronutrijenata, sljedeći korak u istraživanju učinaka biofortifikacije, bio bi određivanje bioraspoloživosti mikronutrijenata iz konvencionalnih i biofortificiranih usjeva kako bi se napravila usporedba i procijenio učinak biofortifikacije.

Bioraspoloživost se definira kao količina nutrijenta koja je dostupna za apsorpciju u organizam, a može se ispitati *in vivo* i *in vitro* modelima simulacije probave. Neupitno je da su *in vivo* modeli simulacije probave, zbog kompleksnosti probavnog sustava čovjeka, precizniji nego *in vitro* modeli. Međutim, zbog problema koji se javljaju prilikom istraživanja na *in vivo* modelima, a vezano uz etička pitanja, ograničenja u eksperimentalnom dizajnu, poteškoće u tumačenju podataka, veliku varijaciju između ispitanika te visoke troškove istraživanja, prednost se daje *in vitro* modelima koji su jeftiniji uz puno brži protok uzoraka. S obzirom na način provođenja simulacije probave *in vitro,* navedeni modeli mogu biti statički ili dinamički modeli. Najčešće se metode razlikuju po prirodi uzorka koji se ispituje, ali zajedničke su im tri faze probave: probava u ustima, probava u želucu i probava u crijevima. Statički model *in vitro* simulacije probave podrazumijeva provođenje simulacije probave u jednoj ili više faza koje se odvijaju zasebno. Značajan nedostatak statičkog modela simulacije probave je izostanak simuliranja fizičkih procesa tijekom probave (žvakanje, miješanje, hidratacija) (Fernández-García i sur., 2009.; Alegría i sur., 2015.). S druge strane, razvijanjem dinamičkih modela *in vitro* simulacije probave omogućen je protok hrane između faza probavnog sustava, a osim toga pH vrijednost, koncentracija enzima te koncentracija pufera za simulaciju pojedine faze se mijenjaju shodno traženim uvjetima. Stoga su dinamički *in vitro* modeli u određivanju bioraspoloživosti precizniji u odnosu na statičke *in vitro* modele. Od ukupne unesene količine nutrijenta putem hrane, manja količina nutrijenata je dostupna za apsorpciju u organizam (bioraspoloživa), a još manja količina je dostupna za apsorpciju i asimilaciju u stanicama crijevnog epitela (biodostupna).

Biodostupnost se može odrediti metodama *in vivo* (crijevna perfuzija), tehnikama *ex vivo* te pomoću modela stanične kulture (Fernández-García i sur., 2009.) u kojima se, između ostalih, najčešće koristi Caco-2 stanična linija.

Unatoč velikom napretku tehnologije, određeni dijelovi svijeta su zbog siromaštva izloženi jednoličnoj prehrani, a posljedično tome izloženi su nedostatku pojedinih hranjivih tvari. S druge pak strane, u razvijem dijelovima svijeta dolazi do velikih troškova u zdravstvu zbog liječenja pretilosti i bolesnih stanja koja se razvijaju uslijed prekomjerne težine. Sve veća konzumacija prerađene hrane, obogaćene dodatnim sladilima i aditivima postupno utječe na zdravlje čovjeka, što u konačnici može dovesti do razvoja teških bolesti. Zbog svega navedenoga, na globalnoj razini dolazi do dizanja svijesti ljudi o važnosti zdrave, balansirane prehrane koja se bazira na korištenju svježih i sezonskih namirnica te izbjegavanju brze hrane, gaziranih pića i prekomjerne konzumacije slatkiša. U tom kontekstu, prepoznati su i prirodni dodaci prehrani čijom se konzumacijom povećava unos važnih hranjivih tvari. Nastavno na to, pšenična trava je prepoznata kao prirodni dodatak prehrani koja zahvaljujući visokoj nutritivnoj vrijednosti postaje i predmetom znanstvenih istraživanja.

1.1. Pregled literature

Pšenična trava

Pšenična trava predstavlja mlade listove pšenice (lat. *Triticum aestivum* L.) koja pripada porodici trava (lat. *Poaceae*). Prema nekim saznanjima pšenična trava se koristila u medicinske svrhe još u doba Egipćana oko 5000 g. pr. Kr. Zbog njene ljekovitosti primjenjivali su je Grci i Rimljani, a kasnije i Kinezi u svojoj tradicionalnoj medicini. Međutim, za korištenje pšenične trave kao prirodnog dodatka prehrani zaslužni su dr. Charles Franklin Schnabel i dr. Ann Wigmore. Popularizacija pšenične trave počinje tijekom tridesetih godina 20. stoljeća. Tada su istraživanja dr. Schnabela, američkog agrokemičara, pokazala da osušena pšenična trava kao dodatak smjesi za ishranu domaćih životinja pozitivno utječe na kvalitetu i zdravlje istih. Nakon što je prvotnim istraživanjem utvrdio da kokoši hranjene smjesom koja sadržava pšeničnu travu imaju bolju nesivost za 30 do 90 % te općenito bolje zdravstevno stanje u odnosu na one kokoši koje nisu hranjene pšeničnom travom, Schnabel je proveo niz istraživanja i na drugim domaćim životinjama. U svakom istraživanju došao je do zaključka da pšenična trava pozitivno djeluje na zdravlje domaćih životinja i na njihovu produkciju (jaja, mlijeko, itd.). Poučen utvrđenim zaključcima Schnabel je osušenu pšeničnu travu uvrstio u prehranu svoje obitelji što se također pokazalo blagotvorno na njihovo zdravlje. Za potrebe svojih istraživanja osmislio je način sušenja pšenične trave na niskim temperaturama kakav se i danas koristi. Dok je Schnabel proučavao svojstva osušene pšenične trave uzgojene na otvorenom, dr. Ann Wigmore je zagovarala korištenje svježeg soka pšenične trave. Wigmore je započela s uzgojem pšenične trave u posudama kakav se i danas koristi u mnogim kućanstvima, kako bi svakodnevno ljudi u svojim kućanstvima mogli pripremati svježi sok od listova mlade pšenice. Wigmore je zastupala pristup alternativne medicine, te je po dolasku iz Litve u Sjevernu Ameriku radila na razvijanju ideje sirove hrane (tzv. raw food, livig foods) što u novim trendovima prehrane ima sve veći broj pristaša. U svojim knjigama, radionicama i predavanjima koje je održavala po cijelom svijetu, Wigmore je najčešće isticala važnost klorofila kao biokomponente pšenične trave koji pozitivno utječe na zdravlje ljudi i pomaže u prevenciji raznih bolesti.

Nutritivna svojstva pšenične trave i njezin utjecaj na zdravlje ljudi

S obzirom na svoj bogati kemijski sastav i mogućnosti primjene u prevenciji bolesti, pšenična trava sve češće postaje predmet istraživanja. Bogat mineralni sastav očituje se u činjenici da

pšenična trava sadrži kalcij (Ca), magnezij (Mg), fosfor (P), kalij (K), cink (Zn), bor (B) i molibden (Mo) (Padalia i sur., 2010.). Konzumenti pšenične trave zbog jednostavnosti postupka uzgoja i pripreme svježeg soka najčešće uzgajaju pšeničnu travu u kućanstvima gdje se odlučuju za uzgoj pšenične trave sa ili bez supstrata. Kaur i sur. (2021.) su utvrdili da uvjeti uzgoja značajno utječu na nutritivnu vrijednost pšenične trave. Naime, autori navode da je prah od soka pšenične trave uzgojene na supstratu (u tlu) u odnosu na pšeničnu travu uzgojenu na kokosovom tresetu s hranjivom otopinom i u vodi pokazao viši sadržaj pepela, veći ukupni sadržaj klorofila, fenola i flavonoida, veću ukupnu antioksidativnu aktivnost, viši sadržaj K, Ca, Mg i Mn, te viši sadržaj fenolnih kiselina (galna kiselina, protokatehuinska kiselina, ferulična kiselina, kofeinska kiselina, klorogena kiselina, p-kumarinska kiselina) i flavonoida (katehin, kvercetin, kampferol, viteksin). Osim toga, ukoliko se pšenična trava uzgaja bez ikakvog supstrata utvrđeno je da je veća mogućnost pojave i razvoja plijesni (Grubišić i sur., 2019.) što ga u tom slučaju čini nepogodnim za konzumaciju. Ako se govori o uzgoju pšenične trave u zatvorenom prostoru (kontroliranim uvjetima), tada najčešće njen uzgoj traje do 15 dana. Prema istraživanju Kulkarni i sur. (2006. (a)) utvrđeno je da se koncentracije K, Na, Ca i Mg u listovima pšenične trave linearno povećavaju, dok koncentracije Mn, Fe i Zn postižu svoj vrhunac osmog dana rasta pšenične trave, nakon čega ostaju u približnom rasponu.

Pšenična trava odlikuje se i sadržajem raznovrsnih vitamina (vitamin A, C, E i B kompleksom) (Sharma i sur., 2013.; Muyoriya i Bodla, 2011.) i nizom enzima (proteaza, amilaza, lipaza, citokrom oksidaza, transhidrogenaza, superoksid dismutaza (SOD)) (Padalia i sur., 2010.). Vitamini su esencijalni za rast i razvoj, metabolizam i reprodukciju te je unos vitamina kroz hranu izuzetno važan budući da ih ljudski organizam ne može sintetizirati, uz izuzetak vitamina D (Maqbool i sur., 2017.; Salwen, 2017.). Dnevna preporučena doza praha pšenične trave od 3,5 g sadržava 46 % preporučene dnevne količine (engl. Recommended Dietary Allowance - RDA) vitamina B2, 10 % RDA vitamina B9 i 6,3 % RDA vitamina C (Garg i sur., 2021.). Uz to, pšenična trava ima bogat sadržaj klorofila i visok udio aminokiselina (asparaginska kiselina, glutaminska kiselina, arginin, alanin i serin). Zahvaljujući navedenim biokomponentama, utvrđeno je da pšenična trava ima protuupalna svojstva, da pozitivno utječe na oboljele od obične prehlade, kašlja, bronhitisa te ostalih infekcija (Muyoriya i Bodla, 2011.; Padalia i sur., 2010.).

Važnost klorofila očituje se u činjenici da je molekulska struktura klorofila gotovo identična molekulskoj strukturi hemoglobina, s razlikom da je kod hemoglobina centralni atom željezo,

dok je to kod klorofila magnezij. S obzirom na navedeno smatra se da je upravo to razlog zbog kojega pšenična trava pomaže oboljelima od anemije, hipoksije, talasemije i ostalih hematoloških poremećaja poput trombocitopenije. Anemija ili slabokrvnost nastaje uslijed smanjenog volumena eritrocita ili snižene količine hemoglobina. Promatrajući svjetsko stanovništvo, anemija ukupno pogađa 1,62 milijarde ljudi, od čega je najveći postotak oboljelih od anemije utvrđen kod predškolske djece (47,4%) i trudnica (41,8%) (De Benoist i sur., 2008.). Prema istraživanju Mathur i sur., 2017. utvrđeno je da je dnevna doza od 30 ml soka pšenične trave konzumiranog tijekom mjesec dana povećala prosječnu razinu hemoglobina s 8,7 g dl^{-1} na 11,4 g dl^{-1} kod pacijentica oboljelih od anemije u dobi od 35 – 45 godina. Slični zaključci su dobiveni i u nedavno objavljenom istraživanju Lakshmeesha (2022.) u kojem je utvrđeno da je 30 ml svježeg soka pšenične trave utjecalo na simptomatsko poboljšanje, ali i povećanje razine hemoglobina kod anemičnih adolecescentica. Dok se anemija može razviti tijekom života, talasemija označava skupinu nasljednih bolesti kod kojih mutacije gena uzrokuju nedovoljno stvaranje globinskih lanaca hemoglobina. Marwaha i sur., 2004. navode da je konzumacija soka od pšenične trave utjecala na smanjeni broj transfuzija u ispitanika oboljelih od talasemije. Studija provedena na ukupno 40 pacijenata talasemije starosne dobi 2 – 16 godina pokazala je da je pšenična trava u obliku tableta utjecala na povećanje razine hemoglobina te smanjenje broja potrebnih transfuzija (Singh i sur., 2010.). Nedostatak hemoglobina u krvi može biti uzrokovan različitim čimbenicima, ali najčešće se anemija javlja kao posljedica nedostatka željeza. Yuniarti i sur. (2019.) utvrdili su da sok pšenične trave utječe na razinu leukocita kod miševa s anemijom. S druge pak strane, trombocitopenija označava smanjeni broj trombocita, odnosno krvnih pločica koje sudjeluju u procesu koagulacije krvi. Istraživanjem na štakorima kod kojih je inducirana trombocitopenija utvrđeno je da primjenom svježeg soka pšenične trave dolazi do značajnog povećanja razine hemoglobina i eritrocita (Shah, 2011.).

Ulcerozni kolitis je upalna bolest debelog crijeva koja uzrokuje grčeve u trbuhu, povišenu temperaturu i proljev koji može, ali i ne mora sadržavati tragove krvi. Simptomi, bilo blaži ili teži, utječu na kvalitetu života pacijenta i otežavaju normalan život oboljelih. Iako se o dobrobiti pšenične travi za liječenje poremećaja probavnog sustava govori nekoliko desetljeća, sa znanstvenog stajališta postoji vrlo malo dostupnih podataka. Studija na ukupno 24 osobe oboljele od ulceroznog kolitisa pokazala je da je korištenje soka pšenične trave značajno utjecala na smanjenje indeksa aktivnosti bolesti, odnosno ukupnu težinu oboljenja, smanjenje rektalnog krvarenja i boli u abdomenu ispitanika (Ben – Arye, 2002.).

Sok pšenične trave ima djelotvoran učinak i kod liječenja periodontitisa. Konzumacija soka ili primjena soka za ispiranje usne šupljine utječe na smanjenje krvarenja zubi, sprječava nastanak i razvoj karijesa te bolove u zubima (Awulachew, 2020.).

Rak ili maligno oboljenje označava skupinu bolesti koje karakterizira nekontrolirani rast stanica i njihovo širenje u okolna tkiva. Pri tome može zahvatiti svaki organ ili tkivo u tijelu. Prema Svjetskoj zdravstvenoj organizaciji rak je drugi najčešći uzrok smrti u svijetu od kojeg je 2020. godine umrlo gotovo 10 milijuna ljudi. Prema GLOBOCAN-ovim (engl. Global Cancer Observatory) podacima to je svaka šesta osoba, a prognozira se da će se do 2040. godine ove brojke udvostručiti. Muškarci najčešće razvijaju rak pluća, prostate, kolorektalni rak i rak jetre, dok je kod žena najčešći rak dojke, kolorektalni rak, pluća te rak vrata maternice (WHO, 2020.). Prema podacima iz Registra za rak Hrvatskog zavoda za javno zdravstvo u 2017. godini, u Hrvatskoj je slično stanje. Kod muškaraca je najčešći rak prostate, dok je kod žena to rak dojke. U Hrvatskoj su maligne bolesti drugi najčešći uzrok smrti, a kod osoba mlađih od 65 godina su najčešći uzrok smrti. Zbog visoke antioksidativne aktivnosti utvrđeno je da pšenična trava pomaže oboljelima od raznih vrsta raka. Visok sadržaj antioksidativnih enzima poput superoksid dismutaze i citokrom oksidaze imaju sposobnost pretvaranja slobodnih radikala poput reaktivnih vrsta kisika u vodikov peroksid i molekule kisika (Kulkarni i sur., 2006. (b)). Nizom istraživanja utvrđeno je da pšenična trava može pomoći u liječenju pacijenata oboljelih od raka ili može pomoći u podnošenju teških terapija kroz koje oboljeli od zloćudnih bolesti prolaze. Prema istraživanju Gore i sur. (2017.) utvrđeno je da vodeni ekstrakt pšenične trave utječe na inhibiciju razvoja stanica karcinoma usne šupljine (engl. oral squamous cell carcinoma – OSCC) koji je jedan od najčešćih uzroka bolesti u Indiji. Primjena vodenog ekstrakta od 25 $\mu g\ ml^{-1}$ je povećala inhibiciju rasta stanica karcinoma usne šupljine za 15,6 %, dok je primjena vodenog ekstrakta koncentracije od 1000 $\mu g\ ml^{-1}$ povećala inhibiciju rasta stanica karcinoma usne šupljine za 41,4 %. Hattari i sur. (2020.) su u svome istraživanju dobili rezultate slične rezultatima Gora i sur. (2017.) o inhibitornoj aktivnosti soka pšenične trave. Utvrdili su protutumorsku aktivnost i pozitivan utjecaj na razvoj karcinoma usne šupljine čime su dodatno potvrdili učinkovitosti pšenične trave u inhibiciji razvoja karcinoma usne šupljine. Kemoterapija predstavlja sustavnu metodu u liječenju zloćudnih bolesti primjenom citostatika koji ne djeluju selektivno. Odnosno, njihovom primjenom dolazi do uništavanja zloćudnih stanica, ali i zdravih stanica, posebno onih koje se brzo dijele. Nuspojave kemoterapije najčešće se uočavaju u krvnoj slici (leukopenija, neutropenija, trombocitopenija, anemija) ili u smetnjama probavnog sustava (mučnina, povraćanje, proljev, mukozitis). Ispitivanje na

pacijenticama oboljelih od karcinoma dojke utvrđeno je da dnevna primjena soka od pšenične trave utječe na bolje podnošenje kemoterapija, odnosno smanjenje mijelotoksičnosti. Naime, najčešća nuspojava kemoterapije je mijelotoksičnost koja rezultira smanjenom otpornošću na infekcije, anemijom, umorom te pojavom krvarenja odnosno produljenim vremenom zgrušavanje krvi (Bar – Sela i sur., 2007.). Kolorektalni karcinom je treći najčešći karcinom koji se javlja kod ljudi. Prema istraživanju Avisar i sur. (2020.) su utvrdili da dnevna konzumacija soka pšenične trave tijekom kemoterapije može smanjiti vaskularna oštećenja i trombogenost povezanu s kemoterapijom, čimbenika rasta i citokine. Tandon i sur. (2011.). su utvrdili protutumorsko djelovanje ekstrakta pšenične trave na humanoj staničnoj liniji karcinoma dojke. Save i sur. (2019.) su iz soka i praha pšenične trave izolirali ljekovite spojeve koji se mogu dalje upotrebljavati u istraživanjima liječenja tumora. Naime, autori navode da se radi o ketonu i polifenolu, dva nova spoja koja su pokazala značajnu *in vivo* imunomodulatornu proliferaciju limfocita te snažnu *in vitro* citotoksičnu aktivnost na staničnim linijama tumora dojke, gušterače, debelog crijeva, pluća i prostate.

Nezdrav način života koji karakteriziraju brza i neuravnotežena prehrana, korištenje sve više lijekova, a posebno pretjerano i često konzumiranje alkohola najčešći su razlozi nastanka bolesti jetre. Utvrđeno je da ekstrakt pšenične trave ima hepatoprotektivno djelovanje (Durairaj i sur., 2015.). Pretjerana konzumacija alkohola ima niz štetnih učinaka na kompletan organizam čovjeka, ne samo na jetru. Provedenim istraživanjem na štakorima Hebbani i sur. (2020.) utvrdili su da sok pšenične trave može terapijski djelovati protiv oksidativnog / nitrozativnog stresa izazvanog alkoholom koji dovodi do nefrotoksičnosti.

Bioraspoloživost

Probavni sustav je izuzetno kompleksan sustav čija je uloga prerada hrane mehaničkim i kemijskim putem i apsorpcija nutrijenata u krv. Probavni sustav započinje u usnoj šupljini u kojoj simultano dolazi do nekoliko radnji: hrana se usitnjava žvakanjem, žlijezde slinovnice luče slinu kako bi gutanje hrane bilo jednostavnije, te se izlučuje enzim alfa amilaza kojim započinje razgradnja ugljikohidrata (škrob) na jednostavnije šećere. Gutanjem se hrana potiskuje u ždrijelo te zatim u jednjak čiji mišići uzastopnim stezanjem potiskuju hranu do želuca. U probavi hrane sluznica želuca ima vrlo važnu ulogu. Naime, žlijezde koje se nalaze u sluznici želuca izlučuju želučanu kiselinu i protelitički enzim pepsin koji razgrađuje bjelančevine. Osim aktivacije pepsina i razgradnje hrane, želučana kiselina ima i zaštitnu ulogu

jer zahvaljujući visokoj kiselosti uništava i mikroorganizme. Hrana se u želucu dugo (30 min do 4 sata) zadržava te uslijed miješanja sa želučanom kiselinom nastaje gusta kaša koja zatim dolazi u tanko crijevo, točnije u dvanaesnik (duodenum), u kojem dolazi do miješanja hrane sa žuči iz jetre, sokom gušterače te crijevnim sokovima. Sok gušterače je lužnat stoga dolazi do neutralizacije kiselosti prerađene hrane iz želuca što je izuzetno važno zbog aktivacije potrebnih enzima za daljnju preradu hrane. Stezanjem i opuštanjem mišićne stijenke tankog crijeva dolazi do dodatnog miješanja sada već rijetkog kašastog sadržaja, tzv. himusa te polaganog potiskivanja do debelog crijeva. Glavni dio probave događa se upravo u tankom crijevu čija je stijenka obložena sitnim crijevnim resicama, a svaka crijevna resica ima niz dodatnih mikroresica (mikrovili) čime se dodatno povećava apsorpcijska površina crijeva. Crijevne resice apsorbiraju hranjive tvari iz lumena crijeva te se molekule monosaharida i aminokiselina transportiraju u krv, a masne kiseline u limfni optok iz kojeg dalje ulaze u krvotok što osigurava opskrbu tjelesnih stanica hranjivim tvarima.

Poznata je činjenica da svi nutrijenti koji se unesu u organizam putem hrane nisu u potpunosti dostupni, odnosno nisu na raspolaganju za apsorpciju u organizam i sudjelovanje u fiziološkim funkcijama. Prema tome, postavlja se pitanje koliko je od unesene ukupne količine dostupno za usvajanje u ljudskom organizmu. S obzirom na to, važno je razlikovati termine bioraspoloživost, biodostupnost i bioaktivnost i njihovo značenje. Bioraspoloživost (engl. bioavailability) označava količinu hrane koja je dostupna za apsorpciju u organizam. Biodostupnost (engl. bioaccessibility) označava količinu hrane koja je prošla probavu te je dostupna za asimilaciju i apsorpciju u stanicama crijevnog epitela. Bioaktivnost (engl. bioactivity) označava sve fiziološke reakcije koje su potrebne za odvijanje kako bi nutrijenti došli do ciljane stanice (Thakur i sur., 2020.; Alegría i sur., 2015.). Biodostupnost ovisi o probavi i oslobađanju iz matrice hrane, dok bioraspoloživost osim ova dva navedena uvjeta ovisi i o apsorpciji u crijevnim stanicama te transportu do tjelesnih stanica (Etcheverry i sur., 2012.). Određivanjem bioraspoloživosti, biodostupnosti te bioaktivnosti nutrijenta može se izraziti kvantitativna bioefikasnost hrane, odnosno sposobnost hrane da zadovolji metaboličke potrebe organizma (Dima i sur., 2020.).

Za utvrđivanje bioraspoloživosti razvijeni su *in vivo* i *in vitro* modeli simulacije probave. Simulacija probave pomoću *in vitro* modela podrazumijeva oponašanje fizioloških uvjeta i faza probave koje se događaju u probavnom sustavu (Fernández-García i sur., 2009.). Tijekom probave u organizmu čovjeka istodobno se odvijaju dva glavna procesa. U ustima i želucu

dolazi do mehaničke transformacije kojom se smanjuje veličina čestica hrane, a u tankom i debelom crijevu odvija se enzimska transformacija u kojima se makromolekule hidroliziraju u manje tvari koje se potom apsorbiraju u krvotok (Guerra i sur., 2012.). Iako ima različitih *in vitro* modela te metoda koje su prilagođene raznim vrstama uzoraka, treba biti svjestan da je probavni sustav čovjeka izuzetno kompleksan i da je vrlo teško, pa gotovo nemoguće, oponašati sve uvjete probavnog sustava u laboratorijskim uvjetima. Vrsta hrane, starosna dob, trenutne infekcije i kronične bolesti, lučenje želučane kiseline, te fiziološki stadij osobe (pretilost, trudnoća, dojenje) samo su neki od niza faktora koji utječu na probavu u organizmu, a koji se ne mogu simulirati u laboratorijskom uvjetima. *In vitro* modeli su korisni i uvelike mogu pripomoći u razumijevanju interakcija između hranjivih tvari, utjecaju načina pripreme i čuvanja hrane, međutim ne mogu zamijeniti *in vivo* modele (Etcheverry i sur., 2012.; Sandberg, 2005.). S druge strane pak, *in vivo* modeli, iako su precizniji imaju određene nedostatke kao što su ograničenje u eksperimentalnom dizajnu, poteškoće u tumačenju podataka, problemi s etičkog stajališta, velika varijacija između ispitivanih individua te provođenje takvih studija zahtijeva veće troškove (Fernández-García i sur., 2009.).

S obzirom na način provedbe *in vitro* modela, razlikuju se statički i dinamički modeli simulacije, no u većini slučajeva koriste se statički modeli. Statički modeli ili, kako se još nazivaju, biokemijski modeli, su najjednostavniji modeli u kojima se simulacija oralne, želučane i crijevne faze probave odvija u jednom nepokretnom statičkom bioreaktoru, što za posljedicu ima izostanak simuliranja fizičkih procesa tijekom probave kao što su žvakanje, miješanje, hidratacija te peristaltika crijeva (Alegría i sur., 2015.; Fernández-García i sur., 2009.). Tijekom simulacije probave, u obzir se uzimaju koncentracija soli u puferima za svaku fazu probave, optimalna pH vrijednost za svaki stadij probave, koncentracije enzima koji su specifični za svaki dio probave, vrijeme simulacije te temperatura na kojoj se provodi simulacija probave. Karakteristike uzorka, aktivnost enzima, ionski sastav, mehanička razgradnja hrane te vrijeme probave imaju vrlo veliki utjecaj na rezultate *in vitro* probave (Hur i sur., 2011.). Za potrebe istraživanja, statičkim modelima može se simulirati više faza probavnog sustava ili se može simulirati samo pojedina faza. Ipak, smatra se da su u studijama u kojima se simulira više faza probavnog sustava zbog faktora (razdoblje inkubacije, mijenjanje pH vrijednosti shodno fazi probavnog sustava, aktivacija i djelovanje specifičnih enzima), koji se moraju zadovoljiti tijekom protokola metode, utječu na čestice hrane koje dolaze do tankog crijeva kao zadnje faze *in vitro* probave, pa su rezultati takvih studija različiti u odnosu na one gdje se simulira samo faza tankog crijeva (Dima i sur., 2020.). Također, metode simulacije

probave putem statičkog modela razlikuju se ovisno i o nutrijentima koje se želi ispitati (npr. proteini, lipidi, ugljikohidrati, minerali) (Mackie i sur., 2015.). No, upravo zbog širokog broja metoda po kojima se radi simulacija probave *in vitro* prisutan je problem usporedivosti rezultata (Li i sur., 2020.). Slijedom navedenog postignut je internacionalni konsenzus u okviru COST (European Cooperation in Science and Technology) programa Infogest iz kojega je proizašao prijedlog standardiziranog protokola za simulaciju probave *in vitro* prema Minekus i sur., 2014. Prijedlog je to standardizirane metode prema kojoj je poželjno provoditi simulaciju probave *in vitro* kako bi se povećala mogućnost uspoređivanja rezultata (Li i sur., 2020.; Bohn i sur., 2018.).

Dinamički modeli mogu biti jednokomponentni ili višekomponentni. U prvom slučaju simulira se samo određena faza probavnog sustava, dok je pomoću višekomponentnih dinamičkih modela moguća simulacija više faza probave. Dok su pH vrijednost, koncentracija enzima te koncentracija pufera za simulaciju pojedine faze probave konstantne u metodama statičkih modela *in vitro* simulacije probave, u dinamičkim modelima se navedeni čimbenici mijenjaju s vremenom i što je najvažnije u njima je omogućena dinamika protoka hrane kako bi se što bolje simulirala *in vivo* probava (Dupont i sur., 2019.; Thuenemann, 2015.). Dinamika peristaltike, pražnjenja želuca i vrijeme prolaska himusa kroz tanko crijevo te pH vrijednosti probavne faze u želucu i crijevima simultano su kontrolirane računalnim programom (Bryszewska i sur., 2019.). Prema smjeru postavljanja odjeljaka koji simuliraju faze u probavnom sustavu čovjeka, dinamički modeli se mogu podijeliti na vodoravne (engl. Dynamic Gastric Model, DGM model) i horizontalne (engl. TNO Intestinal Model) modele. Osim navedenog, u nekim modelima koristi se tzv. čaša sa miješanjem (engl. dinamic digestion system - DIDGI system) koja podsjeća na dizajn statičkih modela (Thuenemann, 2015.).

Mnoga istraživanja koja se bave ispitivanjem *in vitro* bioraspoloživosti upotpunjuju svoja istraživanja ispitivanjem biodostupnosti i transporta hranjivih tvari na staničnim linijama, a najčešće se u te svrhe koristi Caco-2 stanična linija (Fu i Cui, 2013.; Etcheverry i sur., 2012.; Fernández-García i sur., 2009.). Iako prvobitno dobivena iz humanog adenokarcinoma debelog crijeva, pokazalo se da tijekom kultivacije stanična linija Caco-2 prolazi kroz spontanu diferencijaciju koja rezultira nastajanjem monosloja stanica, koje imaju određene morfološke i funkcionalne karakteristike enterocitnih stanica (Sambuy i sur., 2005.). Prilikom kultivacije Caco-2 stanične linije, stanice rastu na insertima s polupropusnim membranama pomoću kojih se omogućuje formiranje apikalnog i bazolateralnog odjeljka. Preko apikalnog odjeljka se

prelijeva uzorak, a u bazolateralnom odjeljku dolazi do prikupljanja uzorka koji je stanica apsorbirala (Etcheverry i sur., 2012.).

Značaj kalija (K) za biljke i ljude

Kalij u tlu potječe iz primarnih minerala liskuna, feldspata i dr., a sadržaj u tlima značajno varira od 0,5 do 2,5 %. U tlu i u biljci nalazi se u obliku jednovalentnog kationa (K^+) (Vukadinović i Vukadinović, 2011.). Kao esencijalni element u biljkama ima izrazito važnu fiziološku ulogu u sintezi proteina, osmoregulaciji i održavanju turgora stanice, aktivnosti enzima, fotosintezi, transportu kroz floem i dr. (Vukadinović i sur., 2014.; Amtmann i Rubio, 2012.). Prema Vukadinović i Vukadinović, 2011. uloga K u biljci se može podijeliti na dvije osnovne funkcije, a to su aktivacija enzima i regulacija permeabilnosti živih membrana. K aktivira najmanje 60 različitih enzima koji su važni za rast biljaka (Prajapati i sur., 2012.), uključujući regulaciju mehanizma otvaranja puči (Cochrane i Cochrane, 2009.). Salinitet predstavlja prilično veliki problem u poljoprivrednoj proizvodnji. Naime, biljkama stres uslijed soli rezultira proizvodnjom slobodnih kisikovih vrsta (engl. reactive oxigen species –ROS) koji se može ublažiti primjenom K (Abbasi i sur., 2016.). Prema Zheng i sur., 2008. primjena kalijeva nitrata (KNO_3) utjecala je na ublažavanje učinka saliniteta kod ozime pšenice, a isto je utvrđeno i prema Abbasi i sur., 2014. na hibridima kukuruza. Također, K u biljkama igra važnu ulogu u transportu vode i hranjivih tvari (Prajapati i sur., 2012.).

Za ljude, osim što je esencijalni mineral, K je ujedno i glavni elektrolit koji se nalazi u tijelu čovjeka. K zauzima ključnu ulogu u regulaciji elektrolita, funkciji živaca, kontroli mišića i krvnom tlaku (Bellows i sur., 2013.; Young, 2012.). U tijelu čovjeka 98 % ukupnog K nalazi se unutar stanica, od čega se 80 % nalazi u mišićima, a preostalih 20 % u kostima, jetri i eritrocitima (Cheng i sur., 2013.). Preporučen unos K kod muškarca i žene je 4 700 mg/dan, dok za žene tijekom dojenja iznosi 5 100 mg/dan (Bellows i sur., 2013.). Nedovoljan unos K povezuje se sa lošijom kvalitetom prehrane koja je posljedica suvremenog i ubrzanog načina života. Naime, obrada hrane smanjuje sadržaj K, a prehrana bazirana na prerađenoj hrani te izostanak svježeg voća i povrća koji su bogati K imaju za posljedica smanjenje unosa K u organizam (Bellows i sur., 2013.; Cordain i sur., 2005.). Nizak unos K povezan je s povišenim krvnim tlakom (Abburto i sur., 2013.) i rizikom moždanog udara (D'Elia i sur., 2011.). Prema Correa – Rodriguez i sur., 2022. unos K može igrati ključnu ulogu u markerima vezanim za aktivnosti bolesti u bolesnika sa sistemskim eritemskim lupusom.

Što se tiče apsorpcije K u ljudskom organizmu, najveća količina K, otprilike 90 % apsorbira se u tankom crijevu (Iorio i sur., 2021.; Yamada i Inaba, 2021.). Točnije, apsorpcija se odvija u dvanaesniku, a radi se o pasivnom transportu (Hinderling, 2016.) koji ovisi o razlici elektrokemijskog potencijala za K+ između plazme i lumena te je povezan s osmolarnosti hrane, apsorpcijom Na+, vode i drugih hranjivih tvari (Lindinger i Cairns, 2021.).

Značaj kalcija (Ca) za biljke i ljude

Kalcij u tlu potječe iz primarnih minerala silicija i sekundarnih minerala kalcija čijom se razgradnjom oslobađa (Petek i sur., 2018.). U tlu se nalazi u obliku dvovalentnog kationa (Ca^{2+}), a zastupljenost mu varira između 0,2 i 2 % (Vukadinovć i Vukadinović, 2011.). Biljke ga apsorbiraju u obliku Ca^{2+} iz otopine tla i otprilike mu sadržaj iznosi oko 0,5 % u suhoj tvari (Vukadinovć i Lončarić, 1998.). Transport unutar biljaka može se odviti kroz citoplazmu stanica simplastom ili između stanica odnosno apoplastu (White i Broadley, 2003.). S obzirom da je sastavni dio kalcij – pektinata koji se nalazi u staničnoj stijenci Ca ima značajnu ulogu u održavanju strukture stanice (Vukadinović i Vukadinović, 2011.). Prema Vukadinović i Lončarić, 1998. Ca zbog svoje funkcije u metabolizmu kontrole propusnosti različitih tvari kroz membrane stanica i propuštanja protona i elektrona, ima važnu ulogu u disanju i fotosintezi. Osim kalcijevog pektinata, Ca sudjeluje u građi fitinske soli, kristalnih tijela, oksalata i kalcita te kalcijevog fosfatnog pufera (Petek i sur., 2018.). Nadalje, pokazalo se da Ca ima važnu zaštitnu ulogu u povećanju otpornosti biljaka uzgojenih na tlima s povećanom koncentracijom soli (Hadi i Karimi, 2012.). Još jedna od značajnih funkcija Ca očituje se u činjenici da djeluje i kao drugi glasnik u prijenosu signala u biljci (Tuteja i Mahajan, 2007.).

Ukupan sadržaj Ca u tijelu čovjeka iznosi 2 %, od čega se 98 % nalazi u kostima (Pravina i sur., 2013.). Ca je neophodan za rad živčanog i mišićnog sustava te djelovanje hormona (Beto, 2015.), mitozu i koagulaciju (Miller i Anderson, 1999.). Preporučen dnevni unos za odrasle osobe (muškarci i žene) te trudnice i dojilje poslije 19 godine iznosi 1000 mg/dan, dok za trudnice i dojilje u dobi od 14 do 18 godina je 1300 mg/dan (Ross i sur., 2011.). Najčešće pogođene skupine nedostatka Ca su žene, osobe s intolerancijom na laktozu te osobe koje imaju poremećaje u prehrani (smanjeni unos hrane) (Pravina i sur., 2013.). Smanjenje gustoće koštane mase, odnosno, osteoporoza je bolest koja uslijed smanjene mineralne gustoće kosti utječe na veći rizik od prijeloma. Palacios, 2006. navodi kako dnevni unos Ca veći od 1000 mg dovodi

do veće mineralne gustoće kosti (engl. Bone mineral density, BMD) što rezultira manjim gubitkom koštane mase, a samim time i pojavom osteoporoze. Kada se govori o osteoporozi upravo je Ca uz vitamin D najvažniji nutrijent (Ratajczak i sur., 2021.). Nizak unos Ca povezuje se i sa pojavom hipertenzije i oboljenjem od raka debelog crijeva (Miller i sur., 2001.; Power i sur., 1999.).

Apsorpcija Ca u organizmu ovisi o pH vrijednosti u probavnom sustavu. Naime, apsorpcija Ca ovisi o topljivosti Ca, a ona ovisi o pH vrijednosti (Van der Velde i sur., 2014.). Otprilike 65 % Ca je apsorbirano u tankom crijevu, odnosno u vito crijevu (ileum) gdje je pH vrijednost između 6,5 i 7,5, a u debelom crijevu apsorbira se 10 % (Beto, 2015.; Laktašić – Žerjavić i sur., 2011.). Intestinalna apsorpcija Ca odvija se aktivnim i pasivnim transcelularnim transportom (Laktašić – Žerjavić i sur., 2011.).

Značaj magnezija (Mg) za biljke i ljude

Magnezij je zemnoalkalijski metal, u litosferi zastupljen sa 2,7 %, odnosno po zastupljenosti zauzima osmo mjesto (Prasad i sur., 2021.). U tlu je podrijetlom iz primarnih minerala, primjerice silikata, i sekundarnih minerala, odnosno magnezita i dolomita čijim se raspadanjem Mg^{2+} oslobađa te, ili gradi sekundarne minerale, ili se veže na adsorpcijski kompleks tla (Vukadinović i Vukadinović, 2011.). Biljke magnezij usvajaju u obliku Mg^{2+} pri čemu mu koncentracija u suhoj tvari iznosi 0,1 do 1 % (Vukadinović i sur., 2014.). Mg ima značajnu ulogu u biljnom svijetu budući da se povezuje s brojim fiziološkim i biokemijskim procesa koji utječu na rast i razvoj (Verbruggen i Hermans, 2013.). Posebno je značajan u fotosintezi jer je centralni atom u strukturi klorofila. Naime, Tian i sur., 2021. navode kako se u biljnim stanicama 35 % Mg nalazi u kloroplastima. Nadalje, značajnu ulogu ima u očuvanju molekularne strukture ribosoma biljne stanice (Farhangi-Abriz i Ghassemi-Golezani, 2021.). Važan je i kod punjenja floema (Zhang i sur., 2020.), što je osnova floemskog transporta, senescenije i otvaranja puči (Kleczkowski i Igamberdiev, 2021.). Također, aktivator je velikog broja različitih enzima kao što su peptidaza, dehidrogenaza, karboksilaza, dekarboksilaza, a kofaktor je gotovo svih enzima koji kataliziraju reakcije fosforiliranih supstrata te je neposredno uključen u metaboličke putove dobivanja energije (Vukadinović i Vukadinović, 2011.) Sudjeluje u reakcijama prijenosa energije, disanju, stvaranju nukleinskih kiselina (Huber i Jones, 2013.). Nedostatak Mg na poljoprivrednim tlima utječe na smanjenje prinosa i kvalitete, ali i pojavu bolesti (Verbruggen i Hermans, 2013.). S obzirom da je Mg sastavni dio

strukture srednje lamele, uslijed nedostatka dolazi do smanjenja njenog strukturnog integriteta uz smanjenje proizvodnje energije potrebne za obrambene funkcije i inaktivaciju metabolita patogena što za posljedicu ima bržu infekciju i razvoj bolesti (Huber i Jones, 2013.). Utvrđeno je da Mg povećava otpornost biljaka uzgojenih na zaslanjenim tlima te da folijarna aplikacija i dodatak Mg u tlo može igrati važnu ulogu u ublažavanju štetnih učinaka kiselosti tla (Farhangi-Abriz i Ghassemi-Golezani, 2021.; Kibria i sur., 2021.).

Dnevni preporučen unos Mg za muškarce je 300 mg, dok je za žene 250 mg/dan (Long i Romani, 2014.). Cjelovite žitarice, špinat, orašasti plodovi i mahunarke su bogati izvori Mg (Volpe, 2013.). Važnost Mg za ljude očituje se u činjenici da je četvrti najzastupljeniji kation u tijelu čovjeka (Kolte i sur., 2014.). Kofaktor je za više od 300 enzima, regulira niz temeljnih funkcija kao što je kontrakcija mišića i kontrola glikemije (Al Alawi i sur., 2018.), uz to je uključen u niz fizioloških, biokemijskih i staničnih procesa koji reguliraju kardiovaskularnu funkciju (Kolte i sur., 2014.). Također, neophodan je za sintezu nukleinskih kiselina i proteina, aerobni i anaerobni put sinteze adenozin-3-fosfata (ATP), aktivnost mitohondrija, ATP ovisnu sintetazu glutationa kao i za aktivan membranski transport kalijevih i kalcijevih iona (Gröber i sur., 2015.). Mg ima esencijalnu važnost za strukturu kostiju i zubi te je značajan za neuromuskularni prijenos (Long i Romani, 2014.). U kostima je sadržano 65 % ukupnog Mg, 34 % u mišićima te 1 % u plazmi i intersticijskoj tekućini (Kolte i sur., 2014.).

Najvećim dijelom se intestinalna apsorpcija Mg događa u tankom crijevu, a manjim dijelom u debelom crijevu, a može se odviti paracelularnim i transcelularnim putem (Kerstan i sur., 2002.). Apsorpcija Mg paracelularnim putem označava jednostavnu difuziju transporta Mg^{2+} iona kroz male prostore između epitelnih stanica te je najaktivniji u području taštog crijeva (jejunum) i vito crijevu (ileum) (Ricov i sur., 2021.; Philipp Schuchardt i Hahn, 2017.). Transcelularna apsorpcija Mg posredovana je transportom proteina TRPM6 i TRPM7 (Quamme, 2008.). Paracelularnim putem apsorbirati će se većina Mg koji je unesen u prosječnim količinama, dok će se apsorpcija Mg pri značajno višim količinama odviti putem transcelularne apsorpcije (Ricov i sur., 2021.).

Značaj mangana (Mn) za biljke i ljude

Prema značaju za biljnu ishranu, mangan (Mn) pripada u esencijalne elemente, dok prema kemijskim svojstvima pripada skupini teških metala. Lončarić i sur. (2012.) navode da je

prisutnost teških metala posljedica prirodnih i antropogenih procesa. Dok se pedogenetski procesi kojima tlo nasljeđuje teške metale iz matičnog supstrata smatraju prirodnim procesima, antropogeni procesi uključuju urbanizaciju, industrijalizaciju, promet, ali i poljoprivrednu proizvodnju. Osim toga, autori navode da u udaljenim područjima bez antropogenog utjecaja teški metali u tlima su potpuno porijeklom iz matičnog supstrata, dok je u urbanim i poljoprivrednim područjima koncentracija teških metala u tlima veća od koncentracije u matičnim supstratima zbog kontinuiranog unosa u ekosustav. Mn se u tlu nalazi kao kation Mn^{2+}, Mn^{3+}, Mn^{4+} (Schmidt i Husted, 2019.), a potječe iz mangan (IV) oksida (Vukadinović i Vukadinović, 2011.). Ukupan sadržaj Mn u tlu je između 200 i 3000 mg kg^{-1} (Vukadinović i sur., 2014.). Na vapnenačkim tlima javlja se nedostatak Mn (George i sur., 2014.; Schmidt i sur., 2013.).

U biljnom svijetu Mn je prisutan kao Mn^{2+} i Mn^{3+} ion, pri čemu mu se koncentracija u suhoj tvari kreće od 50 do 250 mg kg^{-1} (Vukadinović sur., 2014.). Ima brojne značajne uloge poput sudjelovanja u oksidoredukcijskim procesima, neophodan je za fotosintezu i metabolizam dušika (Vukadinović i sur., 2014.; Vukadinović i Vukadinović, 2011.), djeluje kao aktivator i kofaktor stotina metaloenzima, od kojih su najčešće proučavani superoksid dismutaza 2 ovisna o manganu poznata (engl. manganese super oxide dismutase - (MnSOD ili SOD2), oksalat oksidaza (OxOx) i Mn klaster u fotosustavu II (PSII) (Schmidt i Husted, 2019.). Nedostatak Mn može utjecati na značajno smanjenje prinosa, a posebno osjetljivi su ozimi ječam i pšenica (Schmidt i sur., 2013.).

Dnevni preporučen unos Mn za muškarce je 2,3 mg, a za žene 1,8 mg (Kopru i sur., 2022.). Hrana bogata Mn su cjelovite žitarice, grah, kuhani špinat, ananas te namaz od kikirikija (Du i sur., 2018.; Freeland-Graves i sur., 2016.). Kako za biljke i životinje, Mn je nužan i za normalno funkcioniranje organizma čovjeka. Naime, Mn igra važnu ulogu u živčanom sustavu jer djeluje kao kofaktor za razne enzime, uključujući i one za sintezu neurotransmitera (Al-Muzafar i sur., 2021.). Zatim, važan je za regulaciju imunološkog sustava, pravilnu funkciju reproduktivnih hormona, koagulaciji krvi te razvoj skeletnog sustava (Al-Muzafar i sur., 2021.; Michalke i sur., 2007.). Prekomjerno izlaganje Mn može dovesti do otrovanja, odnosno do tzv. manganizma, neurološkog poremećaja čiji simptomi nalikuju simptomima Parkinsonove bolesti, a javlja se i tremor, ukočenost i napetost mišića (Kopru i sur., 2022.).Pojava manganizma češća je kod zanimanja kao što su rudarstvo, zavarivanje i proizvodnja suhih baterija (Gurol i sur., 2022.; McCabe i sur., 2021.). Osim inhalacijom, prekomjerno izlaganje moguće je i probavnim putem preko kontaminirane vode (Đokić i sur., 2017.).

Apsorpcija Mn odvija se u dvanaesniku (Fujishiro i Kambe, 2022.) gdje se apsorbira otprilike samo 3 – 5 % od ukupno unesene količine Mn (Kulshreshtha i sur., 2021.). Za sada mehanizmi apsorpcije Mn još nisu razjašnjeni, ali se smatra da se odvija putem transportera dvovaletnog metala 1 (engl. divalent metal transporter 1 - DMT1) (Kulshreshtha i sur., 2021.) koji ima važnu ulogu i u apsorpciji Fe.

Značaj željeza (Fe) za biljke i ljude

Željezo se u tlu i u biljkama nalazi kao dvovalentan i trovalentan kation, te u odgovarajućim spojevima. U tlu potječe iz mnogobrojnih primarnih i sekundarnih minerala čijim raspadanjem dolazi do oslobađanja Fe koje u kiselim tlima brzo gradi sekundarne minerale. Ukupni sadržaj Fe u tlu je između 0,5 i 4 % odnosno, prosječno 3,2 % (Vukadinović i sur., 2014.; Vukadinović i Lončarić, 1998.;). Biljke ga usvajaju kao Fe^{2+}, Fe^{3+} ili u obliku kelata (Vukadinović i sur., 2014.). U biljkama Fe ima važnu ulogu u odvijanju ključnih procesa kao što je fotosinteza i biosinteza klorofila (Jeong i Connolly, 2009.), redukcija nitrata i sulfata, asimilacija dušika kao i transport elektrona (Guerinot i Yi, 1994.). Nedostatak Fe u biljkama najčešće se javlja na karbonatnim tlima gdje je vrlo mala količina Fe dostupna biljkama za apsorpciju što rezultira velikim problemom u poljoprivrednoj proizvodnji na takvim tlima (Broadley i sur., 2012.). S druge pak strane, višak Fe u biljkama može dovesti do toksičnosti i oksidativnog stresa (Walker i Connolly, 2008.). Prema Broadley i sur., 2012. upravo toksičnost Fe predstavlja ozbiljan problem u uzgoju usjeva na tlima preplavljenim vodom kao što je primjerice uzgoj riže.

U ljudskom tijelu Fe je uglavnom vezano za proteine (hemoproteine) kao hemski spojevi (hemoglobin ili mioglobin), hemski enzimi ili nehemski spojevi (enzimi flavin-željezo, transferin i feritin). Fe je potrebno za niz složenih procesa koji se kontinuirano odvijaju na molekularnoj razini i koji su neophodni za ljudski život, primjerice za sintezu proteina koji prenose kisik, posebno hemoglobina i mioglobina te za sintezu hem enzima koji su uključeni u prijenos elektrona i reakcije oksido redukcije (Abbaspour i sur., 2014.). Preporučen dnevni unos Fe za odrasle muškarce i žene nakon menopauze je 8 mg/dan, a 18 mg/dan za žene prije menopauze. Za trudnice preporučen dnevni unos je 27 mg/dan (Russell i sur., 2001.). Gotovo dvije trećine ukupnog Fe u ljudskom tijelu nalazi se u obliku hemoglobina u eritrocitima, 25 % zauzima lako pokretljiva zaliha Fe, a preostalih 15 % je vezano u obliku mioglobina u mišićnom tkivu i u raznim enzimima koji sudjeluju u oksidativnom metabolizmu i mnogim drugim staničnim funkcijama (Abbaspour i sur., 2014.). Nedostatak Fe kod ljudi utječe na smanjenje imuniteta te samim time utječe na povećanje rizika od infekcija (Kumar i Choudhry, 2010.), a

najčešća posljedica nedostatka je anemija (Abbaspour i sur., 2014.). Fe je neophodno za odvijanje hematopoeze – procesa proizvodnje crvenih krvnih stanica. Prilikom odumiranja crvenih krvnih stanica, Fe se oslobađa i prenosi transferinom u koštanu srž i druge organe (npr. jetra i slezena) gdje se pohranjuje i ponovno koristi prilikom stvaranja novih crvenih krvnih stanica (Gupta, 2014.). Nedostatak Fe tijekom trudnoće može biti povezano sa razvijanjem različitih komplikacija za majku i dijete, kao što je primjerice povećanje rizika od sepse, perinatalni mortalitet, i niska težina novorođenčeta (Abbaspour i sur., 2014.).

Glavnina apsorpcije Fe događa se u tankom crijevu, točnije u dvanaesniku (duodenum) i taštom crijevu (jejunumu) (Fuqua i sur., 2012.). Sama apsorpcija Fe odvija se preko enterocita, stanica tankog crijeva na kojima se razlikuje apikalna strana koja je u dodiru s lumenom crijeva, njegovim sadržajem, a zadatak joj je apsorpcija hranjivih tvari i bazolateralna strana koja se nalazi prema unutarnjim tkivima i pomoću koje se hranjive tvari transportiraju u krvotok (Fuqua i sur., 2012.) i posredovana je preko transportera iona dvovalentnog metala (Mackenzie i Garrick, 2005.). Apsorbirano Fe se preko sluznice dvanaesnika prenosi u krv, gdje se veže za glikoprotein transferin koji prenosi do stanica ili do koštane srži za eritropoezu (Abbaspour i sur., 2014.).

Značaj selena (Se) za biljke i ljude

Sadržaj selena u tlima značajno ovisi o matičnoj stijeni, vremenskim uvjetima i teksturi (Gupta i Gupta, 2000.). Koncentracija u tlima je uglavnom ispod 1 mg kg^{-1}, ali može se kretati i od 4 do 100 mg kg^{-1} (Pilon – Smiths i sur., 2009.). Dok je Se esencijalan za životinje i ljude, za više biljke se označava kao beneficijalni element. Ipak u previsokim koncentracijama može biti i toksičan (White, 2016.; El – Ramady i sur.). Koncentracija u biljkama ovisi o nekoliko čimbenika, s tim da najviše ovisi o vrsti biljke, a može se kretati od 0,005 mg kg^{-1} (usjevi s nedostatkom Se) i 5500 mg kg^{-1} u usjevima koji su akumulatori Se i koji se uzgajaju na tlima bogatim Se (Gupta i Gupta, 2000.). Vrste iz porodice kupusnjača i mahunarki, a posebice soja, su biljke koje sadrže više Se u odnosu na druge biljke (Gupta i Gupta, 2000.). Biljke usvajaju Se kao selenat (SeO_4^{2-}) anion ili selenit (SeO_3^{2-}) anion. Osim što se razlikuju po pokretljivosti unutar biljke, selenat označava oblik Se u alkalnim tlima, dok selenit označava oblik Se u kiselim tlima (Gupta i Gupta, 2017.; Li i sur., 2008.). S obzirom na sposobnost akumulacije Se razlikuju se biljke koje su akumulatori Se, biljke neakumulatori Se i biljke koje su sekunadarni akumulatori Se (Terry i sur., 2000.).

Ukupan sadržaj Se u tijelu čovjeka kreće se od 10 do 20 mg, od čega se 50 % nalazi u mišićima (skeletnim) (Navarro-Alarcon i Cabrera-Vique, 2008.), a od organa najveća koncentracija Se nalazi se u štitnjači (Schomburg i Köhrle, 2008.). Se se u hrani može pojaviti u tri oblika, a to su selenometionin (SeMet), selonocistein (SeCys) i Se-metilselenocistein (SeMSC) (Zeng i sur., 2013.). Preporučen dnevni unos Se za odrasle muškarce i žene je 55 µg dnevno (Whanger, 2004.). Unatoč niskom sadržaju, Se ima vrlo važnu ulogu u rastu i razvoju. Naime, Se se implementiranjem u proteine tvori tzv. selenoproteine koji imaju niz funkcija u organizmu čovjeka (Avery i Hoffmann, 2018.). Za sada je identificirano ukupno 25 selenoproteina, od kojih su samo neki cjelovito okarakterizirani (Papp i sur., 2007.). Biološka svojstva ispitana su za selenoproteinske enzime koji su važni za imunološki sustav, kao što su primjerice glutation peroksidaza, tioredoksin reduktaza, jodotironin dejodinaza, metionin – R – sulfoksid reduktaza B1, i selenofosfat sintetaza 2 (Avery i Hoffmann, 2018.). Osim za imunološki sustav, Se je izrazito važan za normalno funkcioniranja štitnjače (Schomburg i Köhrle, 2008.; Dodig i Čepelak, 2004.). Također, Se utječe na proliferaciju i diferencijaciju koštanih stanica (Ratajczak i sur., 2021.). Unos Se u ljudski organizam može biti prenizak što se povezuje s bolestima uslijed nedostatka Se, no unos Se može biti i previsok što onda uzrokuje gubitak kose i noktiju, probleme s kožom, poremećaje živčanog sustava, probleme s zubima, paralizu (Rayman, 2012.). Nedostatak Se povezan je sa Keshanovom bolesti, kardiomiopatijom, koja je dobila ime po regiji Kine u kojoj su tla izrazito siromašna Se, a uslijed čega se spomenuta bolest češće pojavljivala među tadašnjim stanovništvom. Najčešće pogođene skupine su bila djeca i žene, a ishod je često bio smrtonosan (Rayman, 2008.). Nedostatak Se povezan je i sa osteoporozom, naime, utvrđeno je da su starije osobe s niskim sadržaj unosa Se (< 29 µg dnevno) češće pogođene razvojem osteoporoze (Wang i sur., 2019.).

Intestinalna apsorpcija Se odvija se u duodenumu, slijepom crijevu (caecum) i debelom crijevu (colon) (Ferreira i sur., 2021.; Mehdi i sur., 2013.). U enterocitima se selenometionin i selenocistein apsorbiraju aktivnim transportom, a selenat se apsorbira pasivnim transportom (Ferreira i sur., 2021.). Nakon apsorpcije, u enterocitima se svi oblici Se pretvaraju u vodikov selenid (H_2Se) koji se onda transportiraja u krv do jetre gdje se metabolizira i koristi za proizvodnju selenoproteina nakon čega slijedi njegova distribucija u druga tkiva u tijelu (Ferreira i sur., 2021.; Ha i sur., 2019.).

Značaj cinka (Zn) za biljke i ljude

Cink je esencijalni mikroelement neophodan za biljke, životinje i ljude. Prema nekim definicijama, Zn se, prema svojoj gustoći, ubraja u skupinu teških metala, kao i Mn (Lončarić i sur., 2012.). Zn u tlu potječe iz primarnih i sekundarnih minerala. Prosječan sadržaj Zn u tlu kreće se od 5 – 20 mg kg^{-1} (Vukadinović i sur., 2014.).

Biljke usvajaju Zn u obliku dvovalentnog iona (Zn^{2+}) kojeg preuzimaju iz Zn (II) klorida, $ZnCl^{+}$, i u obliku kelatnih spojeva (Zn – kelate). Sadržaj Zn u biljkama je nizak te se kreće od 0,6 mg kg^{-1} (jabuka) do 83 mg kg^{-1} (konoplja). Najveće koncentracije Zn u pšenici su zabilježene u stanicama apikalnih meristema kao i u vršnom staničju korijena (220 μg g^{-1} suhe tvari) (Ozturk i sur., 2006.). Iako se svrstava u mikroelemente, u svim živim organizmima Zn ima vrlo velik značaj u fiziološkim funkcijama poput održavanja strukturnog i funkcionalnog integriteta bioloških membrana (Mousavi i sur., 2013.). Zn u enzimima ima strukturnu i katalitičku ulogu te je prisutan u strukturi svih sedam enzimskih skupina (EFSA, 2014.). Zn je konstituent u enzima poput laktat dehidrogenaze, alkohol dehidrogenaze, alkalne fosfataze, a također djeluje i kao kofaktor RNA polimeraze (Sturikova i sur., 2018.; Soetan i sur., 2010.; Broadley i sur., 2007.). Također, uključen je u ekspresiju gena i sintezu proteina, te povećava otpornost biljaka na različite patogene (Alloway, 2008.). Nedostatak Zn kod biljaka može rezultirati nizom posljedica, kao što je primjerice usporavanjem fotosinteze i metabolizma dušika, skraćenim trajanjem cvatnje i u konačnici smanjenjem prinosa (Das i Green, 2013.).

Iako je nedostatak Zn u ljudi kao takav prvi put evidentiran 1961. godine u Iranu, na globalnoj razini, i dalje predstavlja veliki zdravstveni problem (Roohani i sur., 2013.). Nije pravilo, ali najčešće se nedostatak Zn javlja u zemljama u razvoju gdje se prehrana bazira na žitaricama u kojima zbog prisustva fitinske kiseline znatno opada njegova bioraspoloživost (Affonfere i sur., 2021.; Das i Green, 2013.). Dobri izvori Zn su govedina, perad i morski plodovi, a zbog izostanka fitinske kiseline bioraspoloživost Zn je veća u odnosu na bioraspoloživost iz žitarica i mahunarki (Bilandžić i sur., 2014.; Brown i sur., 2001.). Najčešće se nedostatak Zn povezuje sa siromaštvom uslijed kojega dolazi do jednolične prehrane, no mogu ga uzrokovati i različiti poremećaji u prehrani poput anoreksije i bulimije ili pravci prehrane kao što je primjerice veganstvo. Gastrointestinalni poremećaji, bubrežna bolest, dijabetes, Chronova bolest i ulcerozni kolitis također mogu utjecati na smanjenu apsorpciju Zn u organizam te shodno tome i njegov nedostatak u organizmu (Ratajczak i sur., 2021.; Glutsch i sur., 2019.). Iako su njegovom nedostatku izložene sve dobne skupine, najranjivija skupina koju pogađa su dojenčad i djeca do 5 godina (Das i Green, 2013.). Potrebna dnevna doza Zn između ljudi

razlikuje se po spolu, godinama, fiziološkom stanju (npr. trudnoća, dojenje, bolesna stanja organizma, itd.), no generalno gledajući preporučena dnevna doza (RDA) za žene je 8 mg, odrasle muškarce 11 mg i trudnice 12 mg (Nasiadek i sur., 2020.; EFSA, 2014.). Iako se sadržaj Zn u ljudskom tijelu kreće od 2 – 3 g, važnost Zn za normalno funkcioniranje organizma je vrlo velika. Uključen je u metaboličku aktivnosti približno 300 enzima (Bhowmik i sur., 2010.), a kofaktor je za više od 1000 enzimskih reakcija i više od 2000 faktora transkripcije (Chasapis i sur., 2012.) u ljudskom organizmu. Zn ima ključnu ulogu u nizu funkcija stanice uključujući diferenciranju stanice, rastu i diobi stanice te staničnom transportu (Chasapis i sur., 2020.). Također, zauzima važno mjesto za normalno funkcioniranje endokrinog i imunološkog sustava, transkripcije, sinteze proteina, sinteze RNA i replikacije DNA (Chasapis i sur., 2020.; Ackland i Michalczyk, 2016.). Upravo zbog svih navedenih funkcija, nedostatak Zn kod ljudi može uzrokovati vrlo ozbiljne zdravstvene probleme, posebno ako se ne uoči na vrijeme. Jedna od težih posljedica nedostatka Zn u najranijoj dobi dovodi do usporavanja rasta (Das i Green, 2013.). Također, njegov nedostatak povezan je i sa hipogonadizmom kod muškaraca i neurosenzornim poremećajima (Prasad, 1996.).

Apsorpcija Zn u organizam odvija se u cijelom tankom crijevu, no još nije poznato u kojem dijelu tankog crijeva se odvija glavnina apsorpcije (Maares i Haase, 2020.). Intestinalna apsorpcija Zn uglavnom je kontrolirana sa transporterima Zn koji se mogu podijeliti u dvije glavne obitelji, a to su Zrt- Irt-vezani proteini (ZIP) i Zn – transporterima (ZnT) (Hennigar i sur., 2022.). ZIP transporteri su zaduženi za uvoz Zn u citplazmu, a ZnT trasnporteri za izvoz Zn iz citoplazme (Hennigar i McClung, 2011.). Do sada je poznato četrnaest ZIP transportera i deset ZnT transportera (Hennigar i sur., 2022.).

Biofortifikacija žitarica mikroelementima

Svjetska zdravstvena organizacija (engl. World Health Organization - WHO) procjenjuje da si tri milijarde ljudi, zbog siromaštva, ne može priuštiti zdravu prehranu (WHO, 2020., b). Najčešće je to stanovništvo zemalja u razvoju, no nedostatak mikronutrijenata, posebice Fe, I i Se pogađa i stanovništvo razvijenih zemalja. Iako je paradoksalno, zbog vrste i načina pripreme hrane, stanovništvo razvijenih zemalja također može patiti od pothranjenosti mikronutrijenata. Prema podacima WHO iz 2019. godine 144 milijuna djece u svijetu, mlađe od 5 godina, su zakržljala u rastu i razvoju, a 47 milijuna djece je premršavo ili prenisko. S druge strane, 38,3 milijuna djece u svijetu ima prekomjernu težinu. Dok polovica svjetskog stanovništva nema pravilnu i uravnoteženu prehranu uslijed siromaštva, pretilost u odraslog stanovništva je u

porastu (WHO, 2020., b). Glad i pothranjenost, pretilost ili prekomjerno unošenje kalorija u organizam, te nedostatak mikronutrijenata su mogući oblici malnutricije odnosno poremećaja u prehrani (Ritchie i Roser, 2017).

No, nedostatak mikronutrijenata može biti posljedica i razvoja bolesti kod ljudi. Naime, sve više ljudi pati od upalnih bolesti crijeva u koje se ubrajaju Crohnova bolest i ulcerozni kolitis. U 2017. godini ukupno je pogođeno 6,8 milijuna ljudi u svijetu. U Europi je 2010. godine incidencija ulceroznog kolitisa i Crohnove bolesti iznosila 9,8 i 6,3 na 100.000 stanovnika. Upravo zbog toga, pacijenti oboljeli od upalnih bolesti crijeva su ugroženi razvojem pohranjenosti, a samim time i nedostatku mikronutrijenata (Ratajczak i sur., 2021.).

U dijelovima svijeta gdje se svakodnevna prehrana čovjeka temelji na pšenici i drugim žitaricama učestala je pojava brojnih oboljenja kod odraslih i kod djece uzrokovana nedostatkom raznih hranjivih tvari. Jednolična i neuravnotežena prehrana, kao i nedostatak mesa, morskih i orašastih plodova u prehrani dovode do pothranjenosti mikronutrijentima. Oblik pothranjenosti koji nastaje kada su unos i apsorpcija vitamina i minerala kao što su Zn, I i Fe, preniski za održavanje normalnog funkcioniranja organizma čovjeka naziva se skrivena glad (engl. hidden hunger). Nedostatak mikronutrijenata pogađa više od 2 milijarde ljudi u svijetu, odnosno svakog trećeg čovjeka (Amoroso, 2016.). Takvo stanje organizma može imati niz negativnih posljedica na zdravlje čovjeka, a u konačnici može rezultirati i smrću. Iako pogađa sve skupine ljudi, žena i djeca su najizloženiji. Prema Black i sur. (2013.), procjenjuje se da od 1,1 do 3,1 milijuna djece godišnje umire zbog posljedica pothranjenosti mikronutrijentima. Prehrana trudnica je izrazito važna jer ima važan učinak na rast i razvoj djeteta. Svake godine rodi se gotovo 18 milijuna djece sa oštećenjem mozga kao posljedicom nedostatka I u trudnica (UNSCN, 2005.). Procjenjuje se da 2 milijarde ljudi ne unosi dovoljne količine I, a najviše pogođena mjesta su Južna Azija i subsaharska Afrika. Također, procjenjuje se da 50 % stanovništva Europe pati od blagog nedostatka I (Zimmerman, 2009.). Anemija uzrokovana nedostatkom Fe pogađa preko 1,2 milijarde ljudi (Camaschella, 2019.). Nedostatak Fe tijekom rasta i razvoja djece može uzrokovati niz posljedica u kasnijim godinama. Nedostatka Fe u dojenačkoj dobi može imati za posljedicu slabiji fizički i intelektualni razvoj (Subramaniam i Girish, 2015.). Potrebna količina Fe za razvoj djeteta je visoka u prve dvije godine života, stoga je vrlo važna kvalitetna prehrana trudnica i mladih majki zbog što bolje nutritivne kvalitete majčinog mlijeka (Coutinho i sur., 2005.). Vitamin A je esencijalan za normalno funkcioniranje organizma čovjeka. Normalan vid, rast i razvoj stanica te reproduktivna funkcija su samo neke od mnogih za koje je vitamin A vrlo važan (WHO, 2001.). Imunološka funkcija, zdravlje i normalno funkcioniranje reproduktivnog sustava te zdravlje

kože, kose i noktiju samo su neke od uloga Zn u funkcioniranju organizma čovjeka. Nedostatak Zn može utjecati na razvoj raznih komplikacija tijekom poroda, dok kod djece može dovesti do usporenog razvoja te slabijeg imunološkog sustava (Berhe i sur, 2019.).

U razvijem zemljama svijeta nedostatak mikronutrijenata nadomješta se korekcijom prehrane, međutim takvo rješenje u zemljama u razvoju nije moguće. U tim područjima, biofortifikacija žitarica može utjecati na povećanje dnevnog unosa Zn, Fe i Se. Biofortifikacija je mjera kojom se može povećati sadržaj određenog mikronutrijenta u jestivim dijelovima biljaka te se smatra jednim od alata u smanjivanju pojave skrivene gladi. Osim što se povećava sadržaj željenog mikronutrijenta, biofortifikacijom se utječe i na bioraspoloživost te apsorpciju željenog nutrijenta u organizam čovjeka (Ramzani i sur., 2017.). S obzirom na način provedbe, razlikuju se agronomska i genetska biofortifikacija. Genetska biofortifikacija podrazumijeva kreiranje novih genotipova koji imaju sposobnost povećane akumulacije poželjnog mikronutrijenta. S druge strane, agronomska biofortifikacija je mjera kojom se pomoću primjene hraniva pokušava povećati koncentracija željenog nutrijenta u jestivim dijelovima biljke. Primjena tih hraniva ovisi o vrsti usjeva, vremenu primjene, samom hranivu, ali i o tlu na kojem se primjenjuje ukoliko se radi o primjeni u tlo. Agronomska biofortifikacija najčešće podrazumijeva folijarnu aplikaciju hraniva dok bolje rezultate daje kombinacija folijarne primjene i primjene hraniva u tlo.

Prilikom odabira načina primjene agronomske biofortifikacije važno je uzeti u obzir analizu tla koja će dati uvid u kemijska, fizikalna i kemijsko-fizikalno-biološka svojstva samog analiziranog tla kako se ne bi dogodio pogrešan odabir primjene agronomske biofortifikacije. Naime, Zhao i sur. (2014.) navode da je folijarna aplikacija imala veći učinak na povećanje Zn u zrnu pšenicu u odnosu na aplikaciju Zn u tlo. Upravo se agronomska biofortifikacija najčešće provodi, iako se smatra da bi takva vrsta biofortifikacije trebala biti dopunska mjera genetskoj biofortifikaciji (De Valença i sur., 2017.) jer je provedba isključivo agronomske biofortifikacije kratkoročno rješenje. Glavni razlog češće primjene agronomske u odnosu na genetsku biofortifikaciju je to što je za kreiranje novih, poboljšanih genotipova potrebno određeno vrijeme i znatno veći resursi.

Prosječna koncentracija Zn u zrnu pšenice kreće se od 20 – 35 mg kg^{-1} (Habib, 2009.), dok se, ovisno o vrsti mesa, koncentracija Zn kreće u rasponu od 4 do 67 mg kg^{-1} (Kaur i sur., 2014.). Smatra se da bi biofortifikacija pšenice imala učinak na zdravlje ljudi, koncentracija Zn u zrnu pšenice bi se trebala povećati na 40 do 45 mg kg^{-1} (Ortiz – Monasterio i sur., 2007.). Prema istraživanju Zhang i sur., 2012., željene koncentracije Zn u zrnu pšenice postignute su

folijarnom aplikacijom 0,4 % i 0,5 % cink sulfat heptahidrata ($ZnSO_4$ x 7 H_2O). Spomenute količine su utjecale na povećanje koncentracije Zn za 58 % i 72 %, odnosno na 42 mg kg^{-1} i 46 mg kg^{-1}. Zhao i sur. (2009.) su na 150 genotipova krušne pšenice utvrdili da se koncentracija Zn kreće u rasponu od 13 – 34 mg kg^{-1}, koncentracija Fe 29 – 51 mg kg^{-1}, a koncentracija Se 33 µg kg^{-1} do 238 µg kg^{-1}. U odnosu na endosperm, klica i aleuronski sloj zrna pšenice bogatiji su Zn i Fe, ali i fitinskom kiselinom, polifenolima te vlaknima koji su i inhibitori bioraspoloživosti istih elemenata (De Brier i sur., 2016.; Ozturk i sur., 2006.). Stoga se odvajanjem ovojnice zrna od endosperma i klice utječe na smanjenje sadržaja inhibitora bioraspoloživosti, ali i smanjenje količine minerala, odnosno Fe i Zn (Horston i sur., 2017.).

Kina je najveći proizvođač i potrošač pšenice u svijetu. Procijenjeno je da od nedostatka Zn u Kini pati oko 100 milijuna ljudi, te da se uglavnom radi o stanovništvu ruralnog područja (Ma i sur., 2008.). Uzimajući u obzir troškove liječenja isplativije je provoditi agronomsku biofortifikaciju (Wang i sur., 2016.) nego plaćati troškove liječenja. Zou i sur. (2019.) navode da je osim u Kini, problem nedostatka mikronutrijenata prisutan u Indiji, Meksiku, Pakistanu, Južnoj Africi te Turskoj. Navedene države godišnje zajedno proizvedu 278 milijuna tona pšenice, a ukoliko se u obzir uzme udio njihovog stanovništva od 43 % od ukupnog svjetskog stanovništva, povećanje nutritivne kvalitete zrna pšenice bio bi od velikog značaja. Provedenim istraživanjem u navedenim državama u trajanju od dvije godine, utvrđeno je da biofortifikacija folijarnom aplikacija otopine koja sadržava Zn, I i Se značajno utječe na povećanje njihovih koncentracija u svim ispitivanim sortama pšenice. Koncentracija Zn se kretala od 17 – 37 mg kg^{-1}, a folijarnom aplikacijom se povećala na 28 – 47 mg kg^{-1}, koncentracija I se kretala u rasponu od 2 – 80 µg kg^{-1} te se povećala od 24 do 249 µg kg^{-1}, dok se koncentracija Se povećala od 90 – 338 µg kg^{-1} ovisno o sorti i lokaciji uzgoja.

Osim agronomske i genetske biofortifikacije, moguća je i konzumacija suplemenata u obliku dodataka minerala i vitamina, ali i fortifikacija hrane – proces koji se događa tijekom prerade namirnica u prehramebnoj industriji (Vigneshwaran i sur., 2020.). Obzirom da nedostatak mikronutrijenata može uzrokovati niz zdravstvenih poremećaja i bolesti što za posljedicu ima dodatno veliko opterećenje na zdravstveni sustav, važno je odrediti financijsku isplativost fortifikacije hrane. Prema Zafar i sur., 2018. procijenjeno je da će u Pakistanu u 2022. godini ekonomski gubitak uslijed liječenja ljudi zbog nedostatka mikronutrijenata iznositi 1,26 milijarde dolara, što je gotovo 25 puta više u odnosu na procijenjene troškove fortifikacije pšeničnog brašna.

Prethodnih godina oplemenjivanje žitarica bilo je usmjereno na kreiranje sorata s povećanim prinosom, povećanom otpornosti na bolesti i otpornosti na polijeganje. Porast svijesti ljudi o važnosti hranjive vrijednosti namirnica, utjecali su na promjenu smjerova oplemenjivanja, pa su se oplemenjivački ciljevi okrenuli prema kreiranju sorata s povećanom nutritivnom vrijednošću. Divlji srodnici pšenice predstavljaju izvor velike genetske varijabilnosti i izvor za poboljšavanje svojstava kao što je primjerice sadržaj proteina i mikroelemenata. Naime, *Triticum turgidum* spp. *dicoccoides* je predak kultivirane durum pšenice (*Triticum turgidum* ssp. *durum*) koja se koristi za izradu tjestenine i vrlo je dobar izvor genetske varijabilnosti u sadržaju proteina, Zn i Fe (Çakmak i sur., 2004.). Rezultati dvogodišnje studije iz 2009. godine koju su objavili Rawari i sur. na 6 sorata *Triticum aestivum*, 2 sorte *Triticum durum* te 7 divljih srodnika (*Triticum boeticum, Triticum dicoccoides, Triticum araraticum*) u suglasju su s rezultatima Cakmaka iz 2004. godine. Pokazalo se da su modernije sorte imale manju varijabilnost koncentracija Fe i Zn u zrnu u odnosu na divlje srodnike, ali i znatno niže koncentracije. Naime, koncentracija Fe u zrnu modernih sorata kretala se u rasponu od 21 do 30 mg kg^{-1}, a Zn od 13 do 19 mg kg^{-1}, dok u se u skupini navedenih divljih srodnika kretala u rasponu od 24 do 59 mg kg^{-1} za Fe i 22 do 66 mg kg^{-1} za Zn (Rawati sur., 2009.).

Osim sadržaja mikroelemenata, provedena su istraživanja sadržaja vitamina u zrnu pšenice i pšeničnoj travi uzgojene iz zrna modernih sorata pšenice i divljih srodnika. Prema istraživanju Karakas i sur., 2021. na sadržaj vitamina B (B1, B2, B5 i B9) i E (α – TP, β – TP, α – TT i β – TT) ispitano je 2 divlja srodnika (*Triticum monococcum, Triticum dicoccum*) te tvrda (*Triticum durum*) i krušna pšenica (*Triticum aestvium*). Sadržaj navedenih vitamina ispitan je u zrnu, ali i na prahu listova pšenične trave starosti 14 dana. Autori su zaključili da prah pšenične trave uzgojene iz zrna divljeg srodnika *Triticum monococcum* ima viši sadržaj vitamina B1, B2 i B5 u odnosu na moderne sorte pšenice i sadrži višu ukupnu količinu vitamina E u odnosu na ostale ispitivane pšenice.

1.2. Cilj istraživanja

Glavni ciljevi ovog istraživanja su:

1. Ispitati varijabilnost genotipova pšenice na temelju ukupnih i *in vitro* bioraspoloživih koncentracija K, Ca, Mg, Mn, Fe, Zn i Se u soku pšenične trave
2. Ispitati utjecaj biofortifikacije cinkom i selenom na ukupne i *in vitro* bioraspoložive koncentracije K, Ca, Mg, Mn, Fe, Zn i Se u soku i prahu pšenične trave izabranih genotipova pšenice
3. Ispitati utjecaj različitih termina žetve na ukupne i *in vitro* bioraspoložive koncentracije K, Ca, Mg, Mn, Fe, Zn i Se u soku i prahu pšenične trave izabranih genotipova pšenice
4. Izdvojiti genotipove pšenice za uzgoj pšenične trave koji će se s obzirom na mineralni sastav moći preporučiti za direktnu uporabu kao dodatak prehrani
5. Ispitati apsorpciju Mg, Fe, Zn i Se na Caco-2 staničnom modelu.

Istraživanje je temeljeno na sljedećoj hipotezi:

Genotip, biofortifikacija i termin žetve imaju značajan utjecaj na ukupne i *in vitro* bioraspoložive koncentracije elemenata u soku i prahu pšenične trave, što će omogućiti izbor određenih genotipova za uzgoj pšenične trave kao prirodnog dodatka prehrani.

2. MATERIJAL I METODE RADA

Istraživanje je provedeno u okviru uspostavno – istraživačkog projekta UIP 2017 - 05 - 4292 pod nazivom „Genotipska specifičnost pšenične trave (*Triticum aestivum* L.) visokonutritivnog prirodnog dodatka prehrani“ financiranog od strane Hrvatske zaklade za znanost.

U prvoj fazi istraživanja ispitane su ukupne i *in vitro* bioraspoložive koncentracije K, Ca, Mg, Mn, Fe, Zn i Se u soku pšenične trave ukupno 98 sorti pšenice. Na temelju dobivenih rezultata izabrano je 10 genotipova pšenice (9 sorata pšenice i jedan divlji srodnik) koje su posijane u poljski pokus. Tijekom rasta i razvoja pšenice provedena je folijarna aplikacija cinka i selena u tri različita tretmana. Prikupljanje sjemena iz navedenog poljskog pokusa označilo je prelazak u drugu fazu istraživanja u kojoj se ispitivao utjecaj biofortifikacije Zn i Se te termina rezanja listova pšenične trave na ukupne i bioraspoložive koncentracije ispitivanih elemenata (K, Ca, Mg, Mn, Fe, Zn i Se) u soku i prahu pšenične trave. Navedena istraživanja provedena su u okviru Centralne analitičke agrobiotehničke jedinice Fakulteta agrobiotehničkih znanosti Osijek, a poljski pokus je proveden na pokušalištu Klisa.

Na temelju prikupljenih podataka, izabrane su dvije sorte pšenice na kojima je provedeno ispitivanje apsorpcije Mg, Fe, Zn i Se na Caco-2 staničnom modelu, kako bi se preciznije utvrdila bioraspoloživost. Ispitivanje apsorpcije na Caco-2 staničnom modelu provedeno je u Laboratoriju za kulturu tkiva i funkcionalnu genomiku pri Katedri za medicinsku kemiju, biokemiju i kliničku kemiju Medicinskoga fakulteta u Osijeku.

2.1. Biljni materijal

Istraživanje je provedeno na 98 sorata ozime pšenice te 5 divljih srodnika iz gen kolekcije Fakulteta agrobiotehničkih znanosti Osijek čije je zrno prikupljeno u okviru uspostavno istraživačkog projekta PHENOWHEAT (Tablica 1.).

Izbor genotipova koji su uključeni u istraživanje napravljen je na temelju podataka iz prethodno provedenog istraživanja u kojemu su utvrđene koncentracije elemenata (K, Ca, Mg, Mn, Fe, Zn i Se) u zrnu. Prilikom izbora genotipova vodilo se računa o tome da se izaberu sorte koje obuhvaćaju široku genetsku varijabilnosti koncentracija ispitivanih elemenata, da su uključene sorte porijeklom iz različitih država te da se uključe sorte različitih starosti. Prema tome u istraživanje su uključene sorte porijeklom iz osam država (Hrvatska, Srbija, Mađarska, Italija, Njemačka, Austrija, Francuska i Rusija), s tim da je udio hrvatskih sorata (30 sorata) veći od

Tablica 1. Naziv, podrijetlo i godina priznavanja ispitivanih sorata pšenice

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

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

udjela sorata iz ostalih država (10 sorata) čiji je udio ujednačen. Što se tiče starosti sorata, obuhvaćen je široki raspon, te je tako najstarija sorta priznata 1936. godine, a najnovija sorta 2009. godine. Uz to u istraživanje je uključeno i 5 divljih srodnika (Tablica 2).

Tablica 2. Popis divljih srodnika

Redni broj	*Divlji srodnik*
1.	*Triticum compactum*
2.	*Triticum dicoccoides*
3.	*Triticum monococcum*
4.	*Triticum spelta*
5.	*Triticum sphaeroccum*

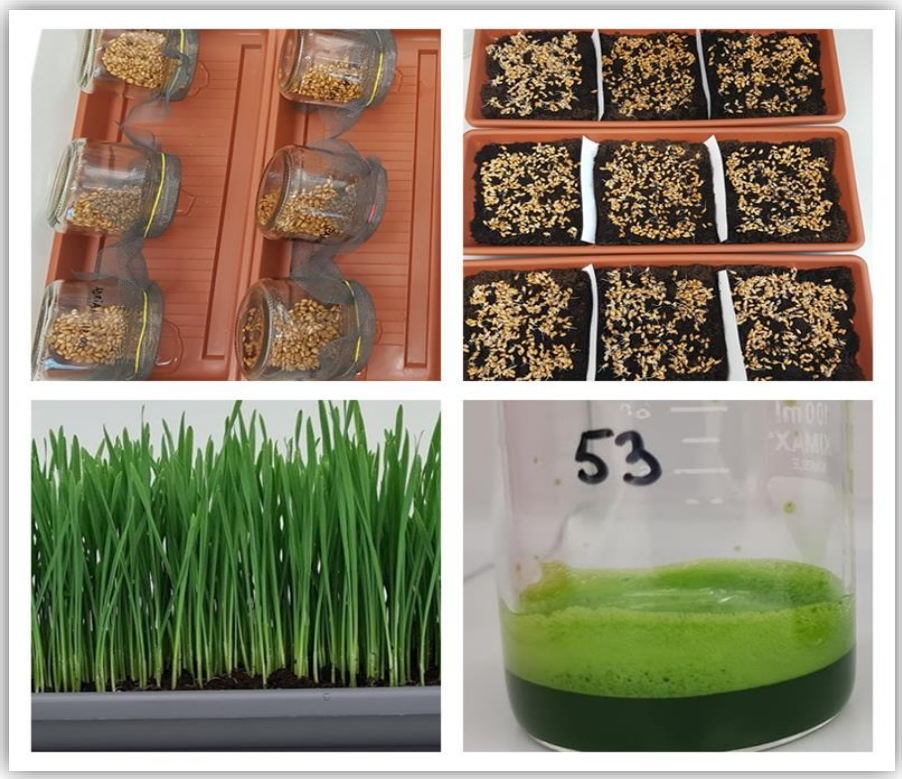
2.2. Uzgoj pšenične trave

Pšenična trava je uzgajana u kontroliranim uvjetima u Laboratoriju za biljnu genetiku i biotehnologiju Fakulteta agrobiotehničkih znanosti Osijek. Priprema sjemena za uzgoj i uzgoj pšenične trave provedeni su kroz nekoliko koraka: površinska dezinfekcija sjemena, naklijavanje sjemena, sjetva i uzgoj u komori za rast biljaka (Grubišić i sur., 2019.).

Površinska dezinfekcija podrazumijeva ispiranje sjemena od svih površinskih nečistoća i patogenih mikroorganizama koje se nalaze na sjemenskom omotaču. Potrebna masa sjemena (15 g), prethodno se ručno očisti od zaostalih pljevica i ostalih nečistoća, te se stavi u laboratorijsku staklenu bocu, prelije destiliranom vodom i miješa na magnetnoj miješalici 5 minuta. Navedeni postupak se ponavlja dva puta pri čemu se prilikom trećeg ponavljanja umjesto destilirane koristi sterilna voda. Po završetku površinske dezinfekcije, sjeme se iz staklene laboratorijske boce prebacuje u sterilne staklenke i prekriva mrežicom (Slika 1). Staklenke se stavljaju u tamnu prostoriju kako bi sjeme naklijalo. Kako bi se osigurala dostatna vlažnost potrebna za klijanje, sjeme se tijekom perioda naklijavanja vlaži dodavanjem destilirane vode. Staklenke se postavljaju naopako, kako bi se eventualni višak vode mogao iscijediti. Nakon 48 sati naklijavanja, provodi se sjetva.

Pripremljeno sjeme je sijano u plitke PVC posude (dimenzije 50 × 16 × 4,5 cm). Na dno posude je stavljeno 350 g supstrata (organski Brill supstrat) koji je raspoređen po cijeloj posudi za sjetvu i zaliven sa 150 ml destilirane vode. U jednu posudu su sijane tri sorte pšenice, koje su međusobno odvajane pregradama. Nakon pažljivog raspoređivanja sjemena pomoću staklenog štapića, svaka sorta je pokrivena s još 50 g organskog supstrata. Svaka sorta je označena i

zalivena s još 50 ml destilirane vode. Posijana pšenica, stavljena je u komoru za uzgoj biljaka. Temperatura u komori namještena je na 20 °C, a svjetlosni režim je podrazumijevao kontroliranu izmjenu svjetla (10 sati) i tame (14 sati). Pšenica je zalijevana svaki dan, s 50 ml destilirane vode za svaku sortu, odnosno 150 ml destilirane vode po PVC posudi. Pšenična trava se uzgajala u komori 12 dana (Slika 1.).



Slika 1. Naklijavanje sjemena, sjetva, uzgoj pšenične trave i sok pšenične trave
Foto: S. Grubišić

2.3. Poljski pokus

Poljski pokus je proveden tijekom 2019./2020. godine na pokušalištu Tenja Fakulteta agrobiotehničkih znanosti Osijek. Izbor sorata koje su posijane u sklopu poljskog pokusa napravljen je na temelju rezultata o ukupnim i *in vitro* bioraspoloživim koncentracijama K, Ca, Mg, Mn, Fe, Zn i Se te podataka o sadržaju kloroplastnih pigmenata, fenola, flavonoida i antioksidativnoj aktivnsti u svježem soku pšenične trave (Tablica 3). U poljskom pokusu posijano je ukupno devet sorata pšenice i jedan divlji srodnik u tri ponavljanja po potpuno slučajnom blok rasporedu. Od ukupno devet izabranih sorata, šest je hrvatskih sorata, te po jedna francuska, njemačka i austrijska sorta. Tijekom pokusa provedene su agrotehničke mjere

prema pravilima struke za uzgoj pšenice. Svaka sorta je bila posijana u posebnu parcelu dimenzija 1,25 m x 5 m.

Tablica 3. Sorte posijane u poljski pokus

Redni broj	Ime sorte	Zemlja podrijetla	Godina priznavanja
1.	U1	Hrvatska	1936.
2.	Sosissons	Francuska	1987.
3.	Srpanjka	Hrvatska	1989.
4.	Divana	Hrvatska	1995
5.	Dekan	Njemačka	1999.
6.	Katarina	Hrvatska	2006.
7.	Ilirija	Hrvatska	2006.
8.	Antonius	Austrija	2006.
9.	Felix	Hrvatska	2008.
10.	*T. monococcum*	-	-

Biofortifikacija pšenice cinkom i selenom

Za biofortifikaciju cinkom korišten je cinkov sulfat ($ZnSO_4$), a kao izvor selena prilikom biofortifikacije korišten je natrijev selenat (Na_2SeO_4). Kao ovlaživač korišten je Tween 20, sukladno uputama proizvođača. Biofortifikacija se provodila u ranim jutarnjim satima, pomoću ručnih prskalica tijekom faze cvatnje i mliječne zriobe pšenice. Biofortifikacija je provedena u tri razine, kako je prikazano u tablici 4.

Tablica 4. Tretmani Zn i Se u poljskom pokusu

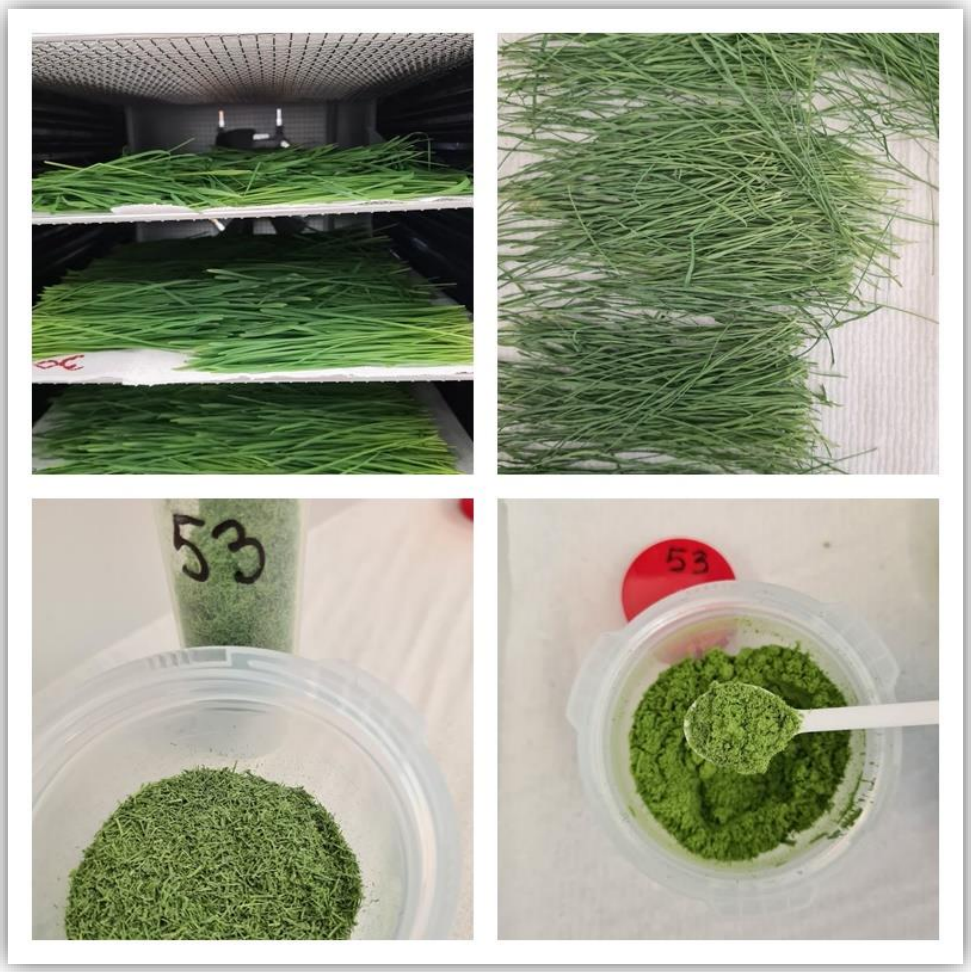
	$ZnSO_4$	Na_2SeO_4	Vrijeme primjene
Tretman 1	0	0	-
Tretman 2	1,5 kg Zn ha^{-1}	10 g Se ha^{-1}	Cvatnja (Zadoks 65)
Tretman 3	0,75 kg Zn ha^{-1}	5 g Se ha^{-1}	Cvatnja (Zadoks 65)
	0,75 kg Zn ha^{-1}	5 g Se ha^{-1}	Mliječna zrioba (Zadoks 75)

2.4. Priprema uzoraka soka i praha pšenične trave

Sok od pšenične trave priprema se od svježih mladih listova pšenice. U prvoj fazi istraživanja, pšenična trava se uzgajala u kontroliranim uvjetima 12 dana, a u drugoj fazi istraživanja 6, 8 i 10 dana te je sukladno tome sok pšenične trave pripreman na dan žetve od svježih listova. Rezanje listova obavljalo se pomoću običnih škara, koje su se prethodno sterilizirale 70 %

alkoholom. Listovi su se rezali oko 2 cm iznad površine supstrata. Kako bi se utvrdila ukupna masa svježih listova, odrezana lisna masa se vagala, te se potom odvajalo 2 g lisne mase za sušenje do konstantne suhe mase. Ostatak lisne mase koristio se za pravljenje soka. Sok je pravljen pomoću ručnog sokovnika za pšeničnu travu *Wheatgrass Juicer BL – 30.*

Prah od pšenične trave je pripreman u drugoj fazi istraživanja i to samo od listova pšenice koja se uzgajala 10 dana. Rezanje listova također se obavljalo pomoću običnih škara, koje su se prethodno sterilizirale (70 % alkohol). Listovi su se rezali oko 2 cm iznad površine supstrata. Odrezani svježi listovi su izvagani i stavljeni u sušionik (Klarstein, fruit jerky 14) na 40 °C u trajanju od 60 sati. Budući da se pšenična trava koristi kao prirodan dodatak prehrani potrebno ju je osušiti na nižim temperaturama kako bi se sačuvali svi nutrijenti.



Slika 2. Svježi listovi pšenične trave u sušioniku, osušeni listovi pšenične trave, samljeveni listovi na laboratorijskom mlinu s noževima te samljeveni uzorci praha na serijskom mlinu
Foto: S. Grubišić

Tako osušeni listovi pšenične trave su samljeveni na laboratorijskom mlinu sa noževima (Retsch Gmbh Germany, Grindomix GM 200) u trajanju od 3 minute (po potrebi se vrijeme

mljevenja i produžilo). Kako bi dobili što sitnije čestica uzorka, uzorci su se dodatno mljeli na serijskom mlinu (Tube mill control IKA) u trajanju od 2 minute na 22 000 o/min (Slika 2.).

2.5. Simulacija probave *in vitro*

Simulacija probave *in vitro* provodila se na uzorcima svježeg soka i praha pšenične trave. Istraživanje je obuhvatilo simulaciju probave na uzorcima svježeg soka i praha pšenične trave. Simulacija probave *in vitro* određivala se pomoću dvije metode. U prvoj fazi istraživanja, simulacija probave *in vitro* provodila se prema metodi po Kiersu i sur. (2000.), dok se u drugoj fazi istraživanja provodila sukaldno metodi po Minekusu i sur. (2014.).

Simulacija probave *in vitro* prema Kiers i sur. (2000.)

Prema Kiers i sur. (2000.), simulacija probave *in vitro* provodi se u tri faze: faza probave u ustima, faza probave u želucu i faza probave u tankom crijevu. Za svaku fazu probave, pripremaju se otopine u koje se neposredno prije samog dodavanja u uzorke dodaju i enzimi karakteristični za pojedinu fazu probave. Za pufer koji simulira slinu, a koristi se za simulaciju probave u ustima, miješaju se natrijev klorid (NaCl), dikalijev fosfat (K_2HPO_4), natrijev karbonat ($NaCO_3$) i kalcijevog klorida ($CaCl_2$) te se dodaje enzim α amilaza (Sigma – aldrich, 1 000 – 3 000 units mg^{-1}, CAS 9000 – 90 – 2). Otopina koja simulira žučani sok pravi se pomoću natrijevog klorida (NaCl), kalijevog klorida (KCl), natrijevog karbonata (Na_2CO3) i kalcijevog klorida (Ca_2Cl) te enzima lipaze (Sigma – aldrich, CAS 9001 – 62 – 1) i pepsina (Sigma – aldrich, 3 200 – 4 500 units mg^{-1}). U otopinu koja simulira probavni sok crijeva dodaju se monokalijev fosfat (KH_2PO_4), dinatrijev fosfat (Na_2HPO_4) i natrijev hidrogenkarbonat ($NaHCO_3$) te enzimi pankreatin (Sigma – aldrich, 4 × USP, CAS 8094 – 47 – 6) i žučne soli (Sigma – aldrich, CAS: 8008 – 63 – 7) (Tablica 5.).

Simulacija probave *in vitro* prema Kiersu i sur. (2000.) provedena je na slijedeći način (Slika 3.). Volumen uzorka od 5 ml svježeg soka pipetiran je u Falkon epruvete od 50 ml te je preliven s 20 ml miliQ vode. Nakon 20 minuta, u uzorke je pipetom dodano 2 ml pufera koji simulira slinu. Uzorci su potom inkubirani u vodenoj kupelji sa tresilicom u trajanju od 30 minuta pri temperaturi od 37 °C i 200 okretaja min^{-1}.

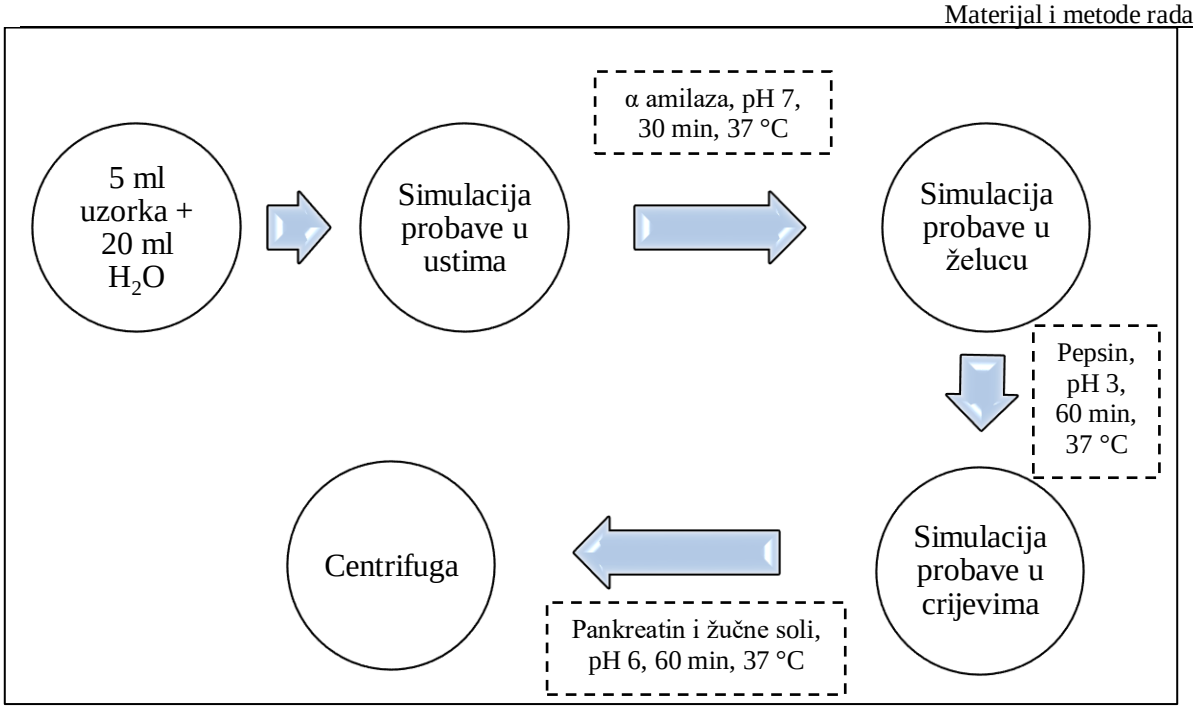
U ovoj fazi simulacije probave pH u uzorku je 7. S obzirom da je za aktivaciju enzima u želucu potrebna niska pH vrijednost, po isteku 30 minuta inkubacije, u uzorcima se mjeri pH vrijednost koja se potom pomoću 5 M HCl spušta na pH vrijednost 3. Nakon toga u svaki uzorak se dodaje 8 ml otopine koja simulira želučani sok, te se ponovno uzorci stavljaju na

inkubaciju u vodenu kupelj u trajanju od 60 minuta pri temperaturi od 37 °C i 200 okretaja min^{-1}.

Tablica 5. Popis kemikalija potrebnih za pripremu pufera za simulaciju probave *in vitro* po Kiersu i sur. (2000.)

Pufer	Naziv	Kemijska formula	Enzimi
Za simulaciju sline	Natrijev klorid	NaCl	α amilaza
	Dikalijev fosfat	K_2HPO_4	
	Natrijev karbonat	$NaCO_3$	
Za simulaciju želučanih sokova	Natrijev klorid	NaCl	Lipaza i pepsin
	Kalijev klorid	KCl	
	Natrijev karbonat	Na_2CO_3	
	Kalcijev klorid	$CaCl_2$	
Za simulaciju probavnog soka tankog crijeva	Monokalijev fosfat	KH_2PO_4	Pankreatin, žučne soli
	Dinatrijev fosfat	Na_2HPO_4	
	Natrijev hidrogenkarbonat	$NaHCO_3$	
	Monokalijev fosfat	KH_2PO_4	
	Natrijev hidrogenkarbonat	$NaHCO_3$	
	Natrijev klorid	NaCl	
	Magnezijev klorid heksahidrat	$MgCl_2(H_2O)_6$	
	Klorovodična kiselina	6 M HCl	

Po isteku inkubacije, uzorci se vade iz kupelji te se mjeri pH vrijednost u uzorcima. U svim uzorcima se pomoću 1 M $NaHCO_3$ regulira pH vrijednost i podiže na 6, što je optimalna vrijednost za aktivaciju enzima koji se koriste u simulaciji probave u tankom crijevu. Nakon podizanja pH vrijednosti, u svaki uzorak se dodaje 10 ml pufera koji simulira probavni sok tankog crijeva. Potom se uzorci stavljaju na inkubiranje u vodenoj kupelji u trajanju od 30 minuta pri temperaturi od 37 °C i 200 okretaja min^{-1}. Po isteku 30 minuta, uzorci se vade iz vodene kupelji te se stavljaju na led u trajanju od 5 minuta kako bi se zaustavile sve enzimske reakcije. Potom se uzorci centrifugiraju 15 minuta na 4°C i 4 000 okretaja min^{-1} kako bi se talog odvojio od supernatanta. Nakon centrifugiranja, supernatant se pažljivo odlijeva u čiste Falkon epruvete od 15 ml, koje se potom spremaju na -80 °C. U tako pripremljenim uzorcima mjerene su bioraspoložive koncentracije K, Ca, Mg, Mn, Fe, Zn i Se na ICP – OES uređaju (Perkin Elmer, Optima 2100 DV) u Centralnom laboratoriju za agroekologiju i zaštitu okoliša.



Slika 3. Shematski prikaz metode simulacija probave po Kiersu i sur. (2000.)

Simulacija probave *in vitro* po Minekusu i sur. (2014.)

Simulacija probave *in vitro* po Minekusu i sur. (2014.) je prijedlog standardizirane metode, koju je moguće prilagoditi prema vrsti uzorka. Simulacija probave u pravilu uključuje tri faze simulacije probave, a to su: simulacija probave u ustima, simulacije probave u želucu i simulacija probave u tankom crijevu.

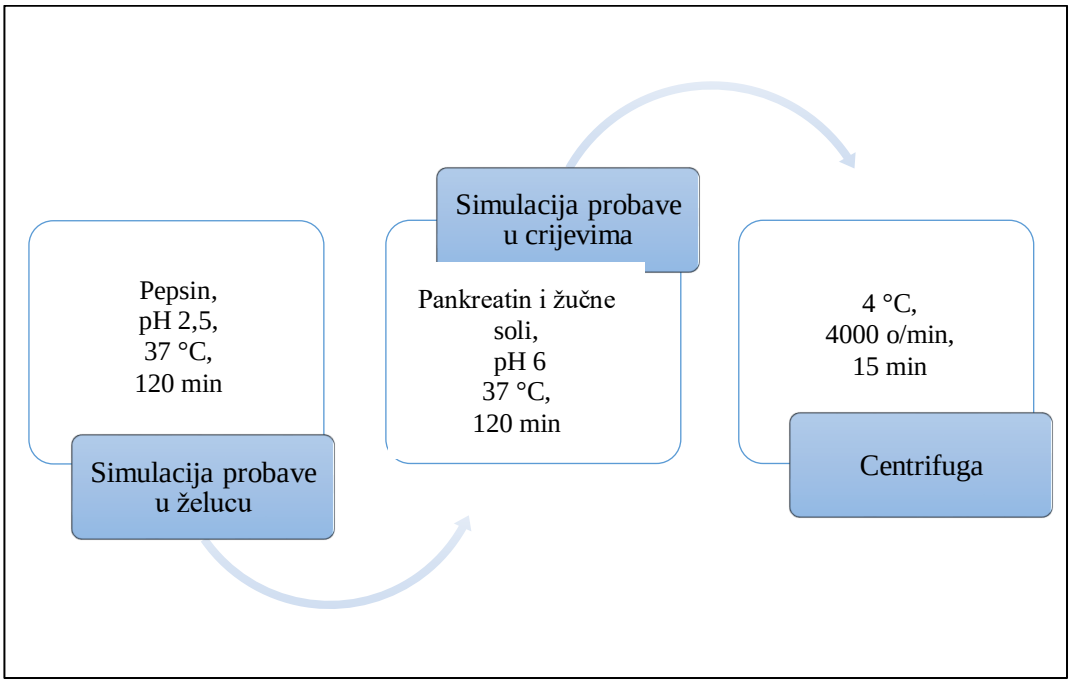
Simulacija probave po Minekusu rađena je na uzorcima svježeg soka i praha pšenične trave. Na uzorcima praha pšenične trave provedena je simualcija probave koja uključuje sve tri faze probave, dok je sukladno preporuci iz navedene metode, na uzorcima svježeg soka provedena simulacija probave koja uključuje simulaciju probave u želucu i simulaciju probave u tankom crijevu. Naime, prilikom konzumacije tekućina dolazi do vrlo kratkog ili gotovo nikakvog zadržavanja tekućine u ustima, stoga je preporuka da se kod tekućih uzoraka simulacija probave u ustima preskoči. (Slika 4.). Simulacija probave na uzorcima svježeg soka pšenične trave napravljena je na sljedeći način. Za pripremu pufera za simulaciju probavnog soka želuca i crijeva korištene se sljedeće kemikalije, ali u različitim količinama: kalijev klorid (KCl), monokalijev fosfat (K_2HPO_4), natrijev hidrogenkarbonat ($NaHCO_3$), natrijev klorid (NaCl), magnezij klorid heksahidrat ($MgCl_2(H_2O)_6$), klorovodična kiselina (6 M HCl) te amonijev karbonat ($(NH_4)_2CO_3$) koji se dodaje samo u crijevnu otopinu (Tablica 6.). U odnosu na metodu

po Kiersu i sur. (2000.) u kojoj se enzimi dodaju direktno u pufere te se skupa dodaju u uzorke, u ovoj metodi, puferi i enzimi se dodaju zasebno.

Tablica 6. Popis kemikalija potrebnih za simulaciju probave po Minekus i sur. (2014.)

Pufer	Naziv	Formula	Enzim
Za simulaciju želučanih sokova	Kalijev klorid	KCl	Pepsin
	Monokalijev fosfat	KH_2PO_4	
	Natrijev hidrogenkarbonat	$NaHCO_3$	
	Natrijev klorid	NaCl	
	Magnezijev klorid heksahidrat	$MgCl_2(H_2O)_6$	
	Amonijev karbonat	$(NH_4)_2CO_3$	
	Klorovodična kiselina	6 M HCl	
Za simulaciju probavnog soka crijeva	Kalijev klorid	KCl	Pankreatin, žučne soli
	Monokalijev fosfat	KH_2PO_4	
	Natrijev hidrogenkarbonat	$NaHCO_3$	
	Natrijev klorid	NaCl	
	Magnezijev klorid heksahidrat	$MgCl_2(H_2O)_6$	
	Klorovodična kiselina	6 M HCl	

U Falkon epruvete od 50 ml odpipetira se 7 ml svježeg soka pšenične trave. Uzorak se potom prelijeva s 5,25 ml želučane otopine, 3,5 µL $CaCl_2$ te se dodaje 1,12 ml pepsina (Sigma – aldrich, 3 200 – 4 500 units mg^{-1}) otopljenog u otopini koja simulira želučani sok. Za ovu fazu simulacije probave, pH vrijednost u uzorcima treba biti 2,5 pri čemu omjer enzima i pufera treba biti 1:1. Ovako pripremljeni uzorak stavlja se u vodenu kupelj na 37°C uz trešnju od 200 o min^{-1}. Tijekom inkubacije, nakon isteka jednog sata, provjeravala se pH vrijednost u uzorcima te se prema potrebi prilagođavala na pH vrijednost 2,5. Po završetku prve faze probave, uzorci se vade iz kupelji te im se dodaje 7,7 ml otopine koja simulira probavni sok crijeva, 28 µL $CaCl_2$, te pankreatin (Sigma – aldrich, 4 × USP, CAS 8049 – 47 – 6) i žučne soli (Sigma – aldrich, CAS 8008 – 63 – 7) u volumenu od 3,5 ml i 1,75 ml (otopljeni u puferu koja simulira probavni sok crijeva). Prije simulacije probave u crijevima, prilagođava se pH uzoraka koji se dodatkom 1 M NaOH podiže na 6. Uzorci se vraćaju u vodenu kupelj na inkubaciju na 37°C pri 200 o min^{-1} u trajanju od 2 sata.



Slika 4. Shematski prikaz protokola simulacije za probavu prema Minekus i sur. (2014.) (prikaz prilagođene metode za simulaciju probave *in vitro* na uzorcima soka pšenične trave)

Po završetku inkubacije uzorci se stavljaju na led tijekom 5 minuta s ciljem zaustavljanja enzimskih reakcija, a potom se centrifugiraju 15 minuta pri 4000 o min^{-1} na temperaturi od 4°C. Nakon centrifugiranja, supernatant se prelijeva u nove epruvete i skladišti (-80°C) do trenutka analize. Koncentracije makro i mikroelemenata sadržane u uzorcima soka i praha pšenične trave očitavaju se pomoću ICP – OES (Perkin Elmer, Optima 2100 DV) i ICP – MS tehnike.

Simulacija probave praha pšenične trave provedena j prema istom protokolu uz modifikaciju simulacije probave u ustima. U Falkon epruvete od 50 ml izvagano je 1,5 g praha koji je preliven s 20 ml miliQ vode. Za simulacije probave u želucu, uzorci su prelijevani sa 15 ml želučane otopine, 3,2 ml pepsina, 0,01 ml $CaCl_2$ te po potrebi u okviru od ukupno 1,79 ml 1 M HCl za snižavanje pH vrijednosti na oko 2,5 te dodavanjem vode za dostizanje volumena od 40 ml. Uzorci su potom inkubirani u vodenoj kupelji na 37 °C pri 200 okretaja min^{-1} na dva sata. Nakon isteka sat vremena provjeravala se pH vrijednost u uzorcima. Po završetku probave u želucu, u nove Falkon epruvete od 50 ml odpipetirano je 14 ml od svakog uzorka, te je u tim uzorcima nastavljeno provođenje simulacije probave u tankom crijevu sukladno protokolu koji se koristio za sok pšenične trave.

2.6. Određivanje *in vitro* biodostupnosti primjenom Caco-2 staničnog modela

Pomoću simulacije probave *in vitro* prema Kiersu i sur. (2000.) i Minekusu i sur. (2014.) određivane su bioraspoložive koncentracije K, Ca, Mg, Mn, Fe, Zn i Se u svježem soku i prahu pšenične trave uzgojene iz konvencionalnog biofortificiranog sjemena. Na temelju dobivenih rezultata, izabrana su dva genotipa (Divana i Ilirija) koja su korištena za određivanje biodostupnosti Mg, Fe, Zn i Se primjenom Caco-2 staničnog modela (Tablica 7.).

Tablica 7. Uzorci za ispitivanje biodostupnosti Mg, Fe, Zn i Se

Redni broj uzorka	Genotip	Tretman	Vrsta uzorka
1.	Divana	Kontrola	Svježi sok
2.	Divana	Biofortifikacije	Svježi sok
3.	Ilirija	Kontrola	Svježi sok
4.	Ilirija	Biofortifikacije	Svježi sok
5.	Divana	Kontrola	Probavljeni sok
6.	Divana	Biofortifikacije	Probavljeni sok
7.	Ilirija	Kontrola	Probavljeni sok
8.	Ilirija	Biofortifikacije	Probavljeni sok
9.	Divana	Kontrola	Prah
10.	Divana	Biofortifikacije	Prah
11.	Ilirija	Kontrola	Prah
12.	Ilirija	Biofortifikacije	Prah
13.	Komercijalni prah	-	Prah

Caco-2 stanična linija je izolirana 1974. godine iz humanog adenokarcinoma debelog crijeva prvenstveno s namjerom ispitivanja karcinoma, te provedbe istraživanja u svrhu liječenja oboljelih (Angelis i Turco, 2011.; Sambuy i sur., 2005.). Međutim, pokazalo se da, u kulturi stanice prolaze kroz spontanu diferencijaciju te nakon otprilike 3 tjedna (21 dan) su sposobne polarizirati te se jasno razlikuju apikalna i bazolateralna strana. Apikalna strana se nalazi prema lumenu crijeva te se na njoj razvija monosloj četkaste prevlake (tzv. mikrovili) koji u probavnom sustavu imaju važnu fiziološku ulogu te značajno povećavaju dodirnu površinu između crijeva i hrane. Na bazolateralnoj strani razvija se stanična površina slična površini koja je *in vivo* u kontaktu sa subepitelnim tkivom (Angelis i Turco, 2011.). Osim navedenog, Caco-2 stanice nakon 21 dan razvijaju tijesne spojeve (engl. *tight junctions* - TJ) između susjednih stanica i eksprimiraju enzime hidrolaze koji su prisutni u tankom crijevu (sukraza-izomaltaza, laktaza, aminopeptidaza N, dipeptilpeptidaza IV) na apikalnoj membrani (Lea, 2015.; Sambuy

i sur., 2005.). S obzirom na razvijanje morfoloških i funkcionalnih karakteristika enterocita, Caco-2 stanična linija se koristi kao *in vitro* model za ispitivanje bioraspoloživosti minerala i nutrijenta (Seim i sur., 2013.; Camara i sur., 2007.). Osim za ispitivanje bioraspoloživosti nutrijenata, Caco-2 stanična linija se koristi i u farmaceutskoj industriji prilikom ispitivanja permeabilnosti lijekova (Sun i sur., 2008.; Li i sur., 2006.; Markowska i sur., 2001.).

Za uzgoj i održavanje Caco-2 stanične linije korištene su sljedeće kemikalije i reagensi:

1. Duelbecco modificirani Eaglov medij (engl. Dulbecco's Modified Eagle Medium, DMEM) s visokom koncentracijom glukoze (4,5 g L^{-1}) (GIBCO, Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, SAD)
2. Fetalni goveđi serum (engl. Fetal Bovine Serum, FBS) (Capricorn scientific, Ebsdorfergrund, Germany)
3. HEPES, 4-(2-hidroksietil)-1-piperzinetansulfonska kiselina, (Sigma-Aldrich, St. Loius, SAD)
4. MES, 2-N-morfolino-etansulfonska kiselina, (Sigma-Aldrich, St.Louis, SAD)
5. Fosfatom puferirana otopina soli (eng. Phosphate Buffered Saline, PBS), (Capricorn scientific, Ebsdorfergrund, Germany)
6. Pufer balansiran Hankovim solima, HBSS (eng. Hanks Balanced Salt Solution)
7. 0,25 % Tripsin/EDTA, Etilendiamintetraoctena kiselina (PAN-Biotech, Njemačka)
8. Eritrozin 0,2 % (Sigma-Aldrich, St, Loius, SAD)
9. Destilirana voda
10. Etanol (70 %)

Uzgoj stanica, uspostava staničnog modela, stanica i apsorpcija *in vitro* pomoću Caco-2 staničnog modela provedeni su u Laboratoriju za kulturu tkiva i funkcionalnu genomiku pri Katedri za medicinsku kemiju, biokemiju i kliničku kemiju Medicinskoga fakulteta u Osijeku. Za potrebe uzgoja stanična linija Caco-2 (ATCC® HTB-37™) održavana je u DMEM mediju obogaćenom s 10 % FBS-om, 2 mM L^{-1} glutamaxa i 100 U/100 µg penicilinom/streptomicinom. Stanična linija je kultivirana u CO_2 inkubatoru (IGO 150 CELLife™, JOUAN, Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA) pri uvjetima od 37°C uz visoku vlažnost zraka te 5 % CO_2. Održavanje stanične linije postiže se presađivanjem uz primjenu tripsina koji odvaja stanice od podloge, resuspendiranjem i nastavkom uzgoja u svježem mediju pri navedenim uvjetima. Za potrebe istraživanja stanice se prebrojavaju u automatskom brojaču stanica (Countess II Automated Cell Counter, Thermo Fisher Scientific,

Waltham, MA, USA) koji određuje broj živih stanica po principu razlikovanja ružičasto obojenih (mrtve) i neobojenih stanica (žive stanice). Za potrebe brojanja stanica miješa se stanična suspenzija (50 µL) i eritrozin (50 µL) u omjeru 1:1.

Za određivanje biodostupnosti nasađeno je 1 x 10^5 stanica ml^{-1}, odnosno 3,57 x 10^3 stanica cm^{-2} u DMEMu uz dodatak glutamaxa, 1 % neesencijalnih aminokiselina, 10 mM HEPES-a, 100 U ml^{-1} penicilina i 100 µg ml^{-1} streptomicina te 10 % FBS-a. Stanice se nasađuju u sterilne ploče s šest jažica (Falcon® 6-well Multiwell Cell Culture Plate, Durham, NC, USA) i pripadajućim insertima s propusnom politetrafluoretilen (PTFE) membranom obloženom kolagenom veličine pora 0,4 µm (Corning® Transwell®-COL, Darmstadt, Germany). Stanice su nasađene na membranu, odnosno, u apikalni odjeljak u ukupnom volumenu od 2 ml, a u donji, odnosno u odnosno bazolaterni odjeljak dodano je 2 ml medija za uzgoj. Stanice su kultivirane 18 dana u CO_2 inkubatoru pri uvjetima od 37°C uz visoku vlažnost zraka te 5 % CO_2 praćeno izmjenom medija svakih 72 sata. Izmjena medija se odvijala po točno utvrđenom redoslijedu kako ne bi došlo do narušavanja staničnog integriteta (Angelis i Turco, 2011.). Medij se prvo odstranjuje u bazolateralnom odjeljku (jažica ispod inserta) te potom u apikalnom odjeljku. Dodavanje medija zatim ide obrnuto, što znači da se medij prvo dodaje u apikalni odjeljak, pa zatim u bazolateralni.

Na temelju mjerenja transepitelnog električnog otpora (eng. *Transepithelial ectrical resistance* - TEER) određuje se integritet Caco-2 stanične linije koji se temelji na kvaliteti uspostavljenih međustaničnih veza proteinskim kompleksima tj. tijesnih spojeva. TEER predstavlja otpor fiziološke barijere TJ za prolaz iona, a ovisi o čvrstoći tijesnih spojeva (Medač, 2020.). Radi se o široko prihvaćenoj kvantitativnoj ne invazivnoj metodi na osnovi koje se donosi zaključak o postizanju optimalnog integriteta stanične linije odnosno jesu li se stanice diferencirale u enterocite te jesu li spremne za ispitivanje apsorpcije *in vitro* (Elbrecht i sur., 2016.; Srinivasan i sur., 2015.). Za mjerenje TEER-a korišten je epitelni volt-metar (engl. Epithelial Voltohmmeter, EVOM) (Milicell r ERS-2, Milipore Corp., Bedford, MA, USA) sa dvije srebro/srebrov klorid (Ag/AgCl) elektorde. Prije mjerenja TEER-a napravljena je sterilizacija elektroda sa 70% etanolom te ekvilibracija u PBS-u u sterilnim uvjetima tijekom 24 sata na sobnoj temperaturi. Za mjerenje je primijenjena izmjenična struja frekvencije 12,5 Hz. Tijekom mjerenja iznimno je važno pažljivo uranjati elektrode u medij kako uslijed kontakta stanica s elektrodama ne bi došlo do narušavanja staničnog integriteta. Jedna elektroda se postavlja u apikalni odjeljak, a druga u bazolateralni odjeljak. TEER-ovi su izmjereni na svih 13 uzoraka

te slijepoj probi koju čini čisti medij za uzgoj stanica i polupropusna membrana. Sva mjerenja izvedena su u duplikatu, a vrijednosti koje su tablično prikazane (Tablica 8.) su prikaz srednjih vrijednosti dva ponavljanja za svaku jažicu, te su vrijednosti izražene u Ω cm^{-2}.

Tablica 8. Izmjerene vrijednosti transepitelnog električnog otpora (TEER) uspostavljenih staničnih modela i transepitelnog električnog potencijala (TEP)

Redni broj	**Sorta**	**Tretman**	**Vrsta uzorka**	**Δ TEER (Ω cm^{-2})**		**Δ TEP (mV)**	
				Jažica 1.	Jažica 2.	Jažica 1.	Jažica 2.
1.	Divana	Kontrola	Svježi sok	124,5	124,5	1,25	1,25
2.	Divana	1,5 kg Zn ha^{-1} 10 g Se ha^{-1}		125	124,5	1,15	1,55
3.	Ilirija	Kontrola		135,5	124	1,35	1,35
4.	Ilirija	1,5 kg Zn ha^{-1} 10 g Se ha^{-1}		126	129,5	1,45	1,45
5.	Divana	Kontrola	Probavljeni sok	120	127,5	1,05	1,25
6.	Divana	1,5 kg Zn ha^{-1} 10 g Se ha^{-1}		118,5	123,5	1,15	1,15
7.	Ilirija	Kontrola		122,5	121,5	1,15	1,25
8.	Ilirija	1,5 kg Zn ha^{-1} 10 g Se ha^{-1}		117,5	125,5	1,15	1,35
9.	Divana	Kontrola	Prah	145	139,5	1,25	1,35
10.	Divana	1,5 kg Zn ha^{-1} 10 g Se ha^{-1}		121,5	125,5	1,35	1,35
11.	Ilirija	Kontrola		116,5	130,5	1,35	1,05
12.	Ilirija	1,5 kg Zn ha^{-1} 10 g Se ha^{-1}		113,5	114,5	1,35	1,45
13.	Kupovni prah	-	Prah	129,5	131,5	1,45	1,55

Dok integritet staničnog modela označava TEER, transepitelnim električnim potencijalom (engl. *Transepithelial electrical potential*, TEP) utvrđuje se polaritet staničnog modela. Za mjerenje TEP-a korišten je isti uređaj kao i za mjerenje TEER-a uz promjenu postavki sa otpora na napon. Razlika između ove dvije metode je i u tome što se TEP mjeri samo u bazolateralnom odjeljku. Naime, pozitivna vrijednost TEP na bazolateralnoj strani označava negativan na apikalnoj što podrazumijeva postizanje polariteta staničnog modela koji je ekvivalentan *in vivo* uvjetima (Medač, 2020.). TEP je izmjeren na svih 13 uzoraka, te su sva mjerenja izvedena u duplikatu, a vrijednosti u tablici 8. su izražene kao srednje vrijednosti dva ponavljanja za svaku jažicu. Vrijednosti za TEP izražene su u mV.

Od ukupno 13 uzoraka koji su odabrani za ispitivanje biodostupnosti, četiri uzorka su svježi sokovi pšenične trave, četiri uzorka su sokovi nakon simulacije probave *in vitro,* i od preostalih

pet uzoraka, četiri uzorka su prahovi pšenične trave odabranih sorti, a zadnji uzorak (br.13) je komercijalno dostupan prah pšenične trave (Tablica 6.). Tekući uzorci su centrifugirani na 3000 o min^{-1} tijekom 10 minuta na sobnoj temperaturi, a uzorci praha su prvo rastopljeni u vodi te su potom centrifugirani pod istim uvjetima. Nakon centrifugiranja, svi uzorci su profiltrirani preko filtera (0,45 μm) kako bi se osigurao sterilitet i čistoća uzorka. Neposredno prije aplikacije na stanice, uzorci su razrijeđeni s HBSS/MES puferom u omjeru 1:10. Stanice se prije dodavanja uzoraka temperiraju na sobnu temperaturu stajanjem u kabinetu za sterilni rad. Nakon prilagodbe stanica na temperaturne uvjete radne okoline, uklanja se medij za kultivaciju te se započinje s postupkom ispiranja i pripreme stanica. Stanice u apikalnom dijelu se ispiru dva puta s 2 ml HBSS/MES puferom, a donji dio jažice dva puta s 2 ml HBSS/HEPES puferom. Nakon ispiranja, u insert se dodaje 2 ml HBSS/MES pufera, a u donji dio jažice 2 ml HBSS/HEPES pufera. Slijedi inkubacija na 37°C u CO_2 inkubatoru u trajanju od 1 sata kako bi se stanice ekvilibrirale i pripremile za apsorpciju. Po isteku vremena prilagodbe, sa stanica se uklanjaju puferi i dodaju uzorci. Na stanice je dodano 2 ml (1:10) uzorka, a u jažice 2 ml HBSS/HEPES pufera. Slijedi inkubacija na 37°C uz visoku vlažnost zraka te 5 % CO_2 i obveznu trešnju pri 100 o min^{-1}. Uzorci su se prikupljali u pet vremenskih točaka u intervalu od 15 minuta (0; 15; 30; 45; 60 minuta). Nakon svakog ciklusa apsorpcije u trajanju od 15 minuta, prikupljeno je 500 μl sadržaja iz apikalnog odjeljka te je dodano 500 μl HBSS/MES pufera. Nakon svakog uzorkovanja, apsorpcija se nastavlja u inkubator (37°C / 5 % CO_2 / 100 rpm). Po isteku 60 minuta, prikupljen je sadržaj i iz apikalnog i iz bazolateralnog odjeljka. Prikupljeni uzorci su uskladišteni na -80°C do trenutka analize koja je provedena na ICP – MS uređaju (Agilent 7500a).

2.7. Mjerenje koncentracija K, Ca, Mg, Mn, Fe, Zn i Se

Neovisno o vrsti uzoraka, ukupne koncentracije elemenata se određuju u uzorcima nakon što se uzorci razore. Na uzrocima svježeg soka i praha pšenične trave te zrna pšenice provedeno je razaranje prema standardiziranoj metodi. Ovisno o vrsti uzorka, u kivete se odpipetira 2 ml svježeg soka pšenične trave, ili odvaže 0,5 g praha ili samljevenog zrna pšenice te se prelijeva s 6 ml 65 % HNO_3 i 2 ml 30 % H_2O_2. Kivete se pažljivo zatvaraju te se stavljaju u mikrovalnu pećnicu u trajanju od 90 minuta. Nakon završetka procesa kivete se vade van te se razoreni

uzorak pažljivo prelijeva u epruvetu od 50 ml nakon čega se nadopunjava destiliranom vodom do 30 ml volumena za sok ili do 50 ml volumena za prah ili zrno pšenice. Uzorak se homogenizira laganim mućkanjem.

Ukupne koncentracije K, Ca, Mg, Mn, Fe, Zn kao i koncentracije ispitivanih elemenata nakon simulacije probave *in vitro* izmjerene su na ICP – OES uređaju (Perkin Elmer, Optima 2100 DV) u Centralnom laboratoriju za agroekologiju i zaštitu okoliša na Fakultetu agrobiotehničkih znanosti Osijek. Zbog niske koncentracije u uzorcima Se je mjeren na ICP – MS uređaju (Agilent 7500a). Koncentracije elemenata u uzorcima nakon ispitivanja apsorpcije na Caco-2 staničnoj liniji također su očitane na ICP – MS uređaju. Koncentracije svih ispitivanih elemenata izražene su u mg L^{-1} , osim koncentracije Se koja je izražena u µg L^{-1}.

Induktivno spregnuta plazma ICP (eng. *Inductively Coupled Plasma*) je analitička metoda kojom se u ispitivanom uzorku može detektirati te, na kraju odrediti koncentracija elementa. Radi se o metodi široke primjene te se razlikuje nekoliko izvedbi. U ovom istraživanju, svi uzorci bili su mjereni na ICP – OES i ICP – MS uređaju te će shodno tome isti biti ukratko opisani. Principi rada induktivno spregnute plazme optičke spektrometrije ICP – OES (engl. *Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry i* induktivno spregnute plazme masene spektrometrije ICP – MS (engl. *Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry*) su vrlo slični, ali imaju svoje razlike. Obje metode kao ionizacijski izvor koriste induktivno spregnutu plazmu. Iako se mogu koristiti i drugi, argon je najčešće korišten plin za plazmu koja zagrijevanjem postiže temperature od 6000 do 10000 K. Kod ICP – OES uređaja tekući uzorak se pomoću peristaltičke pumpe unosi u raspršivač (engl. *nebulizer*) u kojem se uslijed miješanja uzorka i plina dolazi do stvaranja aerosola. Aerosol ulazi u komoru za raspršivanje (engl. *spray chamber*) unutar koje dolazi do razdvajanja kapljica aerosola po veličini kapljica, te vrlo mali dio unesenog uzorka ulazi dalje u plazmu. Čestice aerosola unutar plazme prolaze kroz faze desolvacije, isparavanja, atomizacije i ionizacije. Unutar plazme dolazi do ekscitacije elektrona u atomima i ionima na više razine energije. Prilikom vraćanja elektrona u svoje osnovno stanje, odnosno niže energetsko stanje, oni emitiraju fotone karakteristične valne duljine za svaki element. Vrsta elementa određuje se na temelju položaja fotonskih zraka, a sadržaj svakog elementa određuje se na temelju intenziteta zraka. Dok se sustav uvođenja uzorka u ICP – MS ne razlikuje značajno u odnosu na ICP – OES, princip detekcije je prilično drugačiji. Naime, u ICP – MS uređaju detekcija se odvija masenom spektrometrijom, za razliku od ICP – OES kod kojeg se detekcija zasniva na temelju optičke spektrometrije. Naime, ioni nastali djelovanjem energije plazme prolaze kroz deflektor i maseni analizator koji odvaja ione na temelju njihovog

omjera mase i naboja. Iako ima četiri različite vrste masenih analizatora, najčešće se koristi kvadrupolni maseni analizator (Cherevko i Mayrhofer, 2018.). U tablici 9. prikazan je popis valnih duljina i masa na kojem su mjereni ispitivani elementi.

Tablica 9. Popis valnih duljina na kojima su mjereni ispitivani elementi

Element	Valna duljina na kojoj je mjeren
Kalcij	317,933 nm
Kalij	766,49 nm
Magnezij	285,213 nm
Mangan	257,613 nm
Željezo	238,205 nm
Cink	206,201 nm
Selen* mjeren na ICP – MS	82

Postotak bioraspoloživosti (% B) ispitivanih elemenata izračunan je kao omjer koncentracije izmjerene u uzorcima nakon simulacije probave *in vitro* (B) i ukupne koncentracije (U), prema sljedećoj formuli:

$$\% B = \frac{B}{U} \times 100$$

2.8. Statistička obrada podataka

Statistička obrada prikupljenih podataka napravljena je pomoću SAS 9.4 for Windows, SAS Enterprise Guide 7.1. i SAS JMP 13.00. Za sva ispitivana svojstva izračunata su mjere opisne statistike (aritmetička sredina, standardna devijacija, standardna pogreška aritmetičke sredine, koeficijent varijacije (CV %), te minimum i maksimum. Normalnost raspodjele ispitivanih varijabli ispitala se pomoću Kolmogorov Smirnovljevog testa pri razini značajnosti od 99%. Za varijable koje nisu slijedile normalnu distribuciju napravljena je logaritamska transformacija podataka. Jednofaktorijalnom analizom varijance ($P < 0,01$) ispitao se utjecaj tretmana (kultivara) na ispitivana svojstva (ukupne i bioraspoložive koncentracije ispitivanih elemenata te postotak bioraspoloživosti). Na temelju Tukeyevog HSD testa ($P < 0,01$) utvrdile su se razlike između ispitivanih kultivara s obzirom na ispitivana svojstva. Veza između ukupnih i bioraspoloživih koncentracija elemenata za svaki element pojedinačno te veza između ukupnih odnosno bioraspoloživih koncentracije različitih elemenata ispitala se korelacijskom analizom.

Utjecaj biofortifikacije Zn i Se (tretman 1, tretman 2 i tretman 3), termina žetve (6., 8., 10. dan) te oblika primjene pšenične trave (sok ili prah) na ukupne i bioraspoložive koncentracije ispitivanih elemenata te na postotak bioraspoloživosti ispitala se pomoću faktorijalne analize varijance ($P < 0,01$). Razlike između pojedinih razina tretmana utvrdila se pomoću Tukeyevog HSD testa ($P < 0,01$).

3. REZULTATI ISTRAŽIVANJA

3.1. Varijabilnost genotipova pšenice obzirom na ukupne i *in vitro* bioraspoložive koncentracije K, Ca, Mg, Fe, Mn i Zn u soku pšenične trave

Ukupne koncentracije K, Ca, Mg, Fe, Mn i Zn u soku pšenične (mg L^{-1}) trave modernih sorata pšenice

Rezultati ukupnih koncentracija makroelemenata (Ca, Mg, K) i mikroelemenata (Fe, Mn, Zn) u soku pšenične trave na ukupno ispitivanih 98 sorata prikazani su u Tablici 10. Rezultati su prikazani kao aritmetička sredina ± standardna devijacija (n = 3). Najniža koncentracija Ca iznosila je 257,8 ± 0,5 mg L^{-1} i izmjerena je u sorte Aida, dok je najviša koncentracija izmjerena u sorte Viktoria odesskaya (524,7 ± 64,9 mg L^{-1}). Najniža koncentracija Mg od 155,5 ± 9,5 mg L^{-1}, izmjerena je u sorte Katarina. Sa koncentracijom od 308,5 ± 35,5 mg L^{-1}, sorta Soissons ima najvišu koncentraciju Mg što je gotovo dva puta više u odnosu na sortu Katarinu. Koncentracija K kretala se u rasponu od 2021 ± 103 mg L^{-1} kao najniža vrijednost izmjerena u sorti Eurofit, do najviše koncentracije od 5217 ± 73 mg L^{-1} izmjerene u sorti Iliriji. Na ispitivanom uzorku prosječna ukupna koncentracija Fe iznosila je 3,56 ± 0,27 mg L^{-1}. Najniža koncentracija izmjerena je kod sorte Lutescens 8 (2,39 ± 0,03), dok je kod Žitarke, kao sorte s najvišom koncentracijom željeza, izmjerena za gotovo 100 % viša koncentracija u odnosu na Lutescens 8. Sorta Bezostaja je imala najnižu koncentraciju Mn od 2,65 ± 0,12 mg L^{-1}, dok je dva puta viša koncentracija izmjerena kod sorte Dekan (5,67 ± 0,09 mg L^{-1}). U odnosu na sortu MV Menuett u kojoj je izmjerena najviša koncentracija Zn od 2,69 ± 0,24 mg L^{-1}, za 78 % manje je izmjerena najniža koncentracija kod sorte Eurofit (1,50 ± 0,10).

Tablica 10. Prosječne ukupne koncentracije (prosjek ± standardna devijacija) kalcija, magnezija, kalija, željeza, mangana i cinka u soku pšenične trave ispitivanih sorti pšenice (n = 98)

R.br.	Sorta	Ca (mg L^{-1})	Mg (mg L^{-1})	K (mg L^{-1})	Fe (mg L^{-1})	Mn (mg L^{-1})	Zn (mg L^{-1})
1.	A. ODESKAYA	418,9 ± 29	218,6 ± 12,8	3876 ± 38	3,45 ± 0,27	4,95 ± 0,02	2,23 ± 0,09
2.	ADRIANA	385,5 ± 7,9	225,5 ± 11,1	4196 ± 183	3,65 ± 0,09	3,57 ± 0,08	2,41 ± 0,12
3.	AIDA	257,8 ± 0,5	234,9 ± 14	3538 ± 763	3,32 ± 0,31	3,75 ± 1,13	2,56 ± 0,3
4.	ALIDOS	430,2 ± 32,1	213 ± 43,5	3803 ± 654	2,96 ± 0,08	3,46 ± 0,1	1,76 ± 0,21
5.	ALKA	339,6 ± 22,4	235,5 ± 7,4	4514 ± 91	4,28 ± 0,3	3,34 ± 0,27	2,07 ± 0,17
6.	ALTOS	294,5 ± 0,6	242,3 ± 22,4	2339 ± 187	3,06 ± 0,09	3,87 ± 0,05	1,97 ± 0,01
7.	ANA	313 ± 16,4	197,5 ± 22,5	4482 ± 78	3,87 ± 0,38	3,35 ± 0,12	2,39 ± 0,18
8.	ANDROS	296 ± 1,0	225,1 ± 25,5	3350 ± 291	3,35 ± 0,3	4,51 ± 0,24	2,08 ± 0,05
9.	ANĐELKA	336,1 ± 38,7	215,6 ± 6,7	4754 ± 89	3,75 ± 0,2	3,24 ± 0,26	2,31 ± 0,14
10.	ANTONIUS	369,3 ± 49,4	247,1 ± 14,2	2253 ± 339	2,94 ± 0,14	3,55 ± 0,84	1,81 ± 0,14
11.	APACHE	385,4 ± 24,5	246,3 ± 22,9	2364 ± 245	2,72 ± 0,36	3,06 ± 0,05	1,51 ± 0,09
12.	APOLLO	412,7 ± 35,4	271,9 ± 17,3	2398 ± 481	2,82 ± 0,22	3,21 ± 0,34	1,97 ± 0,34
13.	AREZZO	314,1 ± 10,2	199,3 ± 14,7	4684 ± 242	3,74 ± 0,46	4,55 ± 0,21	1,84 ± 0,12
14.	ASTRON	333,1 ± 8,8	228,1 ± 5,1	2912 ± 212	3,49 ± 0,25	4,33 ± 0,2	2,45 ± 0,15
15.	AVRORA	378,7 ± 11,3	225,6 ± 3,7	2075 ± 239	3,41 ± 0,15	2,68 ± 0,18	2,28 ± 0,1
16.	AVRORIO	328,5 ± 36,7	183,1 ± 1,8	4616 ± 756	4,59 ± 0,54	4,64 ± 0,19	2,27 ± 0,12
17.	BAMBI	312,4 ± 14,8	201,7 ± 16,7	3878 ± 129	2,56 ± 0,26	2,94 ± 0,08	2,11 ± 0,05
18.	BARBARA	402,2 ± 12,3	231,8 ± 9,3	4438 ± 28	4,32 ± 0,04	3,42 ± 0,2	2,26 ± 0,01
19.	BASTIDE	375,1 ± 22,3	269,1 ± 22,5	2414 ± 176	3,13 ± 0,21	3,13 ± 0,21	1,67 ± 0,01
20.	BC ELVIRA	352,1 ± 20,3	238,8 ± 6,2	4801 ± 106	3,99 ± 0,29	3,6 ± 0,03	2,3 ± 0,16
21.	BEZOSTAJA	362,8 ± 35,2	221,6 ± 4,3	2120 ± 137	2,85 ± 0,26	2,65 ± 0,12	1,88 ± 0,13

Tablica 10. (nastavak)

R.br.	Sorta	Ca (mg L^{-1})	Mg (mg L^{-1})	K (mg L^{-1})	Fe (mg L^{-1})	Mn (mg L^{-1})	Zn (mg L^{-1})
22.	BLASCO	371,1 ± 39,4	297,2 ± 25,7	2603 ± 214	3,63 ± 0,34	4,68 ± 0,99	2,02 ± 0,15
23.	CAPPELLE DESPREZ	385,3 ± 12,4	272,8 ± 18,2	2135 ± 214	3,39 ± 0,14	3,08 ± 0,05	1,83 ± 0,08
24.	CAPO	341 ± 25,1	245,7 ± 13,3	2053 ± 158	2,49 ± 0,03	4,26 ± 0,94	1,55 ± 0,17
25.	CONTRA	280,8 ± 43,3	208,3 ± 15	2426 ± 173	3,06 ± 0,3	3,75 ± 0,04	1,91 ± 0,12
26.	DARWIN	339,1 ± 23	219 ± 12,7	2549 ± 198	3,61 ± 0,28	4,08 ± 0,29	2,27 ± 0,12
27.	DEKAN	420,9 ± 14,8	300,1 ± 6,7	2865 ± 263	4,13 ± 0,29	5,67 ± 0,09	2,65 ± 0,11
28.	DEMETRA	324,6 ± 22,6	192,3 ± 4,4	4356 ± 82	3,63 ± 0,12	3,55 ± 0,24	2,09 ± 0,13
29.	DIVANA	326,3 ± 8,5	223,2 ± 3,4	2215 ± 320	3,69 ± 0,19	3,36 ± 0,13	1,82 ± 0,16
30.	EDISON	324,7 ± 28,8	221,7 ± 14	2294 ± 115	2,78 ± 0,15	3,7 ± 0,88	1,78 ± 0,04
31.	ERYTHROSPERMUM	456,2 ± 42,7	217,4 ± 18,5	3796 ± 252	3,47 ± 0,31	5,45 ± 0,11	2,04 ± 0,14
32.	ESEVAN	385,6 ± 39,1	249,5 ± 12,8	2030 ± 287	2,67 ± 0,06	4,1 ± 0,78	1,72 ± 0,24
33.	ETOILE DE CHOISY	309,5 ± 19,5	240 ± 20,9	2108 ± 396	3,24 ± 0,18	2,96 ± 0,28	1,63 ± 0,13
34.	EUROFIT	357,8 ± 22,2	271,5 ± 7,1	2022 ± 103	3,42 ± 0,09	2,67 ± 0,13	1,5 ± 0,1
35.	EUROJET	327,3 ± 10,6	234,9 ± 17,4	2147 ± 172	3,15 ± 0,48	3,97 ± 0,97	1,77 ± 0,21
36.	FELIX	302,6 ± 6,7	266,8 ± 6,2	2146 ± 197	3,5 ± 0,34	3,58 ± 0,74	1,87 ± 0,1
37.	FESTIVAL	435,1 ± 8,6	302,3 ± 25,1	2992 ± 560	3,07 ± 0,63	3,41 ± 0,12	1,83 ± 0,08
38.	FIORELLO	317,7 ± 16,9	223,2 ± 29,7	4366 ± 246	3,01 ± 0,2	4,48 ± 1,09	1,98 ± 0,18
39.	GEMINI	433,9 ± 13,8	274,1 ± 19,3	2658 ± 550	3,22 ± 0,18	3,57 ± 0,52	1,58 ± 0,12
40.	GOLUBICA	302,9 ± 19,4	227,3 ± 9,9	3814 ± 54	3,85 ± 0,49	3,58 ± 0,01	2,21 ± 0,25
41.	GORBI	336,7 ± 1,7	272,8 ± 8,5	2863 ± 283	3,33 ± 0,25	3,67 ± 0,04	1,88 ± 0,18
42.	HERZOG	409,4 ± 8,9	243,9 ± 16	2391 ± 577	3,32 ± 0,13	3,24 ± 0,27	2,11 ± 0,33
43.	IKARUS	352,1 ± 21,8	275,2 ± 12,5	2275 ± 130	3,58 ± 0,2	4,14 ± 0,86	2,17 ± 0,17

Tablica 10. (nastavak)

R.br.	Sorta	Ca (mg L^{-1})	Mg (mg L^{-1})	K (mg L^{-1})	Fe (mg L^{-1})	Mn (mg L^{-1})	Zn (mg L^{-1})
44.	ILIRIJA	371,1 ± 16,7	240,7 ± 8,1	5218 ± 74	4,35 ± 0,28	3,66 ± 0,38	2,47 ± 0,08
45.	ISNEGRAIN	432,5 ± 11,6	274,3 ± 21,9	2667 ± 626	3,32 ± 0,58	3,56 ± 0,26	1,55 ± 0,15
46.	JANICA	396,7 ± 73,9	296,3 ± 35,1	2057 ± 175	3,77 ± 0,64	3,58 ± 0,54	2,23 ± 0,09
47.	KATARINA	296,3 ± 5,8	155,5 ± 9,5	3027 ± 19	3,6 ± 0,23	2,92 ± 0,06	2,4 ± 0,01
48.	KAVKAZ	426,8 ± 21,2	251,9 ± 3,3	2330 ± 121	2,94 ± 0,19	3,01 ± 0,12	1,67 ± 0,07
49.	KOMAROM	378 ± 41,7	275,9 ± 17,3	2303 ± 203	3,63 ± 0,22	5,08 ± 0,76	1,97 ± 0,23
50.	LAMBRIEGOINIA	466,5 ± 2,1	231,8 ± 43,6	4373 ± 87	3,5 ± 0,53	4,14 ± 0,42	2,1 ± 0,23
51.	LELA	419,4 ± 24,2	259,6 ± 12,1	4224 ± 363	4,2 ± 0,15	3,19 ± 0,05	2,27 ± 0,25
52.	LIBELLULA	273,3 ± 8,5	239,1 ± 38,1	3598 ± 669	3,64 ± 0,11	3,5 ± 0,16	2,55 ± 0,18
53.	LUCIJA	402,2 ± 12	249,5 ± 17,1	4337 ± 151	4,06 ± 0,19	3,98 ± 0,41	2,43 ± 0,08
54.	LUDWIG	341,1 ± 22,3	238,1 ± 10,7	2177 ± 135	3,53 ± 0,34	3,18 ± 0,21	1,92 ± 0,17
55.	LUTESCENS 8	342,1 ± 36,2	262,9 ± 7,7	2296 ± 437	2,39 ± 0,03	3,09 ± 0,22	1,6 ± 0,42
56.	MIRONOVSKAYA 65	386,8 ± 36,4	214,3 ± 7,4	2775 ± 507	2,59 ± 0,12	3,13 ± 0,1	1,89 ± 0,06
57.	MISTRALIS	305,6 ± 27,8	241,5 ± 14,8	2509 ± 192	2,98 ± 0,01	3,88 ± 0,77	1,79 ± 0,11
58.	MV CSARDAS	510,5 ± 21,8	233,5 ± 14,7	4729 ± 169	4,03 ± 0,34	3,65 ± 0,12	2,53 ± 0,13
59.	MV EMESE	368,5 ± 22,8	168,1 ± 10,1	4806 ± 279	3,63 ± 0,2	3,41 ± 0,2	2,03 ± 0,06
60.	MV MAGDALENA	380,9 ± 20,2	249,4 ± 5,5	3965 ± 220	3,89 ± 0,18	4,34 ± 0,11	2,07 ± 0,1
61.	MV MAGVAS	420,8 ± 16,4	200,8 ± 10,4	4291 ± 264	3,41 ± 0,23	3,07 ± 0,22	1,96 ± 0,02
62.	MV MAMBO	384,5 ± 4,8	177,8 ± 6,1	4718 ± 44	3,75 ± 0,67	3,47 ± 0,23	1,71 ± 0,05
63.	MV MAZURKA	399,9 ± 12,6	255,2 ± 17,1	4442 ± 282	4,24 ± 0,23	3,81 ± 0,15	2,16 ± 0,21
64.	MV MENUETT	413,5 ± 15,3	238,8 ± 29,1	4067 ± 773	4,24 ± 0,1	4,27 ± 1,22	2,69 ± 0,24
65.	MV PALMA	315,9 ± 36,2	193,8 ± 4,7	4548 ± 372	3,6 ± 0,33	3,37 ± 0,3	2,38 ± 0,05

Tablica 10. (nastavak)

R.br.	Sorta	Ca (mg L^{-1})	Mg (mg L^{-1})	K (mg L^{-1})	Fe (mg L^{-1})	Mn (mg L^{-1})	Zn (mg L^{-1})
66.	MV TOLDI	379,6 ± 26,1	242,1 ± 33,5	3693 ± 951	4,34 ± 0,32	4,2 ± 0,23	2,37 ± 0,08
67.	MV VERBUNKOS	456,2 ± 48,7	221,4 ± 25,8	4263 ± 85	3,61 ± 0,39	3,69 ± 0,37	2,23 ± 0,16
68.	NIRVANA	378,2 ± 16,2	224,6 ± 72,8	2932 ± 7	4,22 ± 0,56	3,14 ± 0,03	2,29 ± 0,47
69.	NIZIJA	294,9 ± 18,6	214,7 ± 2,7	3532 ± 166	3,14 ± 0,4	3,12 ± 0,14	1,82 ± 0,06
70.	NS PANONIA	320,3 ± 24	202,5 ± 7,4	3481 ± 212	3,04 ± 0,08	3,13 ± 0,15	1,97 ± 0,07
71.	NS RANA 5	298 ± 22,9	197 ± 2	4691 ± 302	3,47 ± 0,73	3,33 ± 0,17	2,65 ± 0,99
72.	OSJEČKA 20	314,6 ± 20	216,1 ± 6,9	4781 ± 250	4,34 ± 0,27	3,62 ± 0,08	2,22 ± 0,14
73	PANONIJA	339,7 ± 27,6	251,3 ± 12,3	3606 ± 738	3,85 ± 0,28	4,04 ± 0,43	2,35 ± 0,23
74.	PESMA	310,6 ± 9,7	200,5 ± 10,7	4173 ± 173	3,96 ± 0,55	2,89 ± 0,05	1,74 ± 0,16
75.	PIPI	367,6 ± 20,9	267,1 ± 11	2468 ± 92	4,34 ± 0,24	5,43 ± 1,17	2,17 ± 0,04
76	PRIMA ODESKAYA	441,1 ± 35,5	243,6 ± 5	3289 ± 505	3,43 ± 0,35	3,6 ± 0,2	1,79 ± 0,12
77.	RAVENNA	372,8 ± 44,9	229,6 ± 20,3	2686 ± 353	3,55 ± 0,26	4,11 ± 0,14	2,09 ± 0,09
78.	REDIMER	335,7 ± 11,9	222,4 ± 19,7	3474 ± 163	3,67 ± 0,57	3,45 ± 0,26	2,09 ± 0,07
79.	RENAN	393,5 ± 12,8	243,3 ± 34,8	2642 ± 627	4,3 ± 0,1	4,07 ± 0,38	2,36 ± 0,2
80.	RENATA	369,9 ± 7,9	235,8 ± 11,7	4262 ± 181	4,04 ± 0,31	3,33 ± 0,22	2,42 ± 0,14
81.	RENESANSA	344,3 ± 8,1	207,4 ± 5,2	3642 ± 84	3,15 ± 0,26	3,29 ± 0,1	1,97 ± 0,07
82.	RUŽICA	387,1 ± 2,7	279,4 ± 9,2	3027 ± 278	3,48 ± 0,18	3,94 ± 0,33	2,04 ± 0,15
83.	SAN PASTORE	329,6 ± 13,7	185,2 ± 24,4	3505 ± 787	3,36 ± 0,13	3,79 ± 1,01	2,31 ± 0,19
84.	SANA	320,9 ± 2,6	257,3 ± 17,2	4109 ± 1092	4,15 ± 0,34	4,12 ± 0,58	2,38 ± 0,18
85.	SIDERAL	426,2 ± 18,2	255,4 ± 19	2697 ± 671	3,82 ± 0,48	3,33 ± 0,28	1,66 ± 0,13
86.	SIMONIDA	290,6 ± 34,1	211,9 ± 1	4244 ± 403	3,16 ± 0,36	4,16 ± 0,02	1,91 ± 0,32
87.	SLAVONIJA	328,3 ± 13,8	206 ± 3,4	4684 ± 549	4,16 ± 0,52	3,53 ± 0,62	2,1 ± 0,35

Tablica 10. (nastavak)

R.br.	Sorta	Ca (mg L^{-1})	Mg (mg L^{-1})	K (mg L^{-1})	Fe (mg L^{-1})	Mn (mg L^{-1})	Zn (mg L^{-1})
88.	SOISSONS	482,6 ± 40,6	308,5 ± 35,5	2614 ± 735	3,79 ± 0,23	3,92 ± 0,2	1,95 ± 0,23
89.	SREMICA	335,9 ± 5,4	215,2 ± 12,9	3471 ± 225	3,42 ± 0,04	3,23 ± 0,04	2,53 ± 0,33
90.	SRPANJKA	340,1 ± 26,8	218,9 ± 2,8	4934 ± 264	4,07 ± 0,21	3,49 ± 0,19	2,31 ± 0,13
91.	SUPER ŽITARKA	413,5 ± 18,8	223,7 ± 8,7	4135 ± 243	4 ± 0,16	3,68 ± 0,36	1,94 ± 0,06
92.	SW MAXI	345,2 ± 21,5	271,1 ± 0,4	2126 ± 209	3,54 ± 0,23	2,85 ± 0,05	1,95 ± 0,18
93.	U1	410,8 ± 32,1	271,1 ± 27	3287 ± 624	3,96 ± 0,18	3,43 ± 0,15	2,66 ± 0,31
94.	UKRAJINKA	496,3 ± 48,1	248,4 ± 9,8	3391 ± 161	3,22 ± 0,12	3,79 ± 0,25	1,68 ± 0,07
95.	V. ODESSKAYA	524,7 ± 65	283,8 ± 5,5	2834 ± 452	3,29 ± 0,16	3,69 ± 0,12	1,83 ± 0,09
96.	ZLATA	376,4 ± 7,7	220 ± 15,8	4528 ± 266	4,08 ± 0,54	3,16 ± 0,12	2,21 ± 0,16
97.	ZLATNA DOLINA	341,6 ± 4,9	211,1 ± 6,2	4230 ± 157	3,78 ± 0,18	3,23 ± 0,25	2,28 ± 0,13
98.	ŽITARKA	433,1 ± 28,2	250,8 ± 5,8	4289 ± 222	4,76 ± 0,35	3,8 ± 0,13	2,3 ± 0,09
Prosjek ± standardna devijacija		**367,1 ± 21,5**	**236,0 ± 14,8**	**3388 ± 299**	**3,56 ± 0,27**	**3,67 ± 0,31**	**2,07 ± 0,15**

Vrijednosti u tablici predstavljaju prosjek ± standardna devijacija

In vitro bioraspoložive koncentracije izmjerenih makroelemanata (Ca, Mg, K) i mikroelemenata (Fe, Mn, Zn) u supernatantu nakon provedene simulacije probave *in vitro* prikazane su u Tablici 11. *In vitro* bioraspoložive koncentracije Ca prate sličan raspon kao i kod ukupnih koncentracija Ca. Naime, najniža koncentracija Ca utvrđena je kod sorte Aide (191,9 ± 5,4), a najviša je utvrđena kod sorte Viktorie odeske u iznosu od 444,7 ± 48,4 mg L^{-1}. Najniža *in vitro* bioraspoloživa koncentracija Mg izmjerena je kod sorte MV Emese (140,3 ± 6,9), dok je najviša izmjerena kod sorte Dekan 275,8 ± 0,2 mg L^{-1}, što je 96% više u odnosu na sortu Emese. *In vitro* bioraspoložive koncentracije K kreće se u intervalu od 1731,2 ± 224,9 mgL^{-1} kao najniže koncentracija izmjerene kod sorte Eurojet do najviše koncentracije od 4733 ± 183 kod sorte Srpanjke. Sorta Redimer imala je najnižu izmjerenu *in vitro* bioraspoloživu koncentraciju Fe (0,78 ± 0,06) i to za 180% nižu u odnosu na najvišu koncentraciju izmjerenu kod sorte Ilirije (2,18 ± 0,28). Najniža *in vitro* bioraspoloživa koncentracija Mn utvrđena je kod sorte Eurofit 2,30 ± 0,06 mg L^{-1}, a najviša je utvrđena kod sorte Dekan 5,34 ± 0,28 mg L^{-1}, što je 132% više u odnosu na sortu Eurofit. *In vitro* bioraspoloživa koncentracija Zn kretala se u intervalu od 0,14 ± 0,01 izmjerene kod sorte Soissons do 1,21 ± 0,02 mg L^{-1} kod sorte Avrora.

Tablica 11. Prosječne *in vitro* bioraspoložive koncentracije (prosjek ± standardna devijacija) kalcija, magnezija, kalija, željeza, mangana i cinka u soku pšenične trave ispitivanih sorti pšenice (n = 98)

R.br.	Sorta	Ca (mg L^{-1})	Mg (mg L^{-1})	K (mg L^{-1})	Fe (mg L^{-1})	Mn (mg L^{-1})	Zn (mg L^{-1})
1.	A. ODESKAYA	310,6 ± 20,4	247,8 ± 5,3	1858 ± 194	1,1 ± 0,17	2,3 ± 0,06	0,5 ± 0,12
2.	ADRIANA	286 ± 14,4	221,6 ± 15,3	1744 ± 321	1,07 ± 0,13	3,82 ± 0,86	0,9 ± 0,1
3.	AIDA	294,2 ± 29,3	219,3 ± 12,5	1736 ± 213	0,88 ± 0,09	3,82 ± 0,97	0,58 ± 0,08
4.	ALIDOS	334,3 ± 61,1	266,6 ± 23,9	1913 ± 160	1,26 ± 0,1	2,9 ± 0,44	0,59 ± 0,08
5.	ALKA	313 ± 12,6	205,3 ± 1,2	1845 ± 287	1,18 ± 0,02	2,39 ± 0,11	1,21 ± 0,02
6.	ALTOS	223,7 ± 22,5	197,6 ± 20,6	1934 ± 396	1,12 ± 0,02	2,51 ± 0,18	0,56 ± 0
7.	ANA	302,2 ± 59,4	188,9 ± 12,6	2012 ± 140	1,11 ± 0,12	2,37 ± 0,09	0,99 ± 0,15
8.	ANDROS	314,8 ± 16,8	233,3 ± 9,8	1934 ± 301	1,3 ± 0,07	2,46 ± 0,04	0,57 ± 0,02
9.	ANĐELKA	291,3 ± 18,2	235,6 ± 20,9	2045 ± 241	1,26 ± 0,09	2,68 ± 0,1	0,56 ± 0,02
10.	ANTONIUS	283,1 ± 1,8	231,4 ± 7,6	2001 ± 155	1,41 ± 0,11	2,69 ± 0,16	0,57 ± 0,03
11.	APACHE	261,2 ± 34,4	197,1 ± 11,9	1731 ± 225	1,31 ± 0,26	3,47 ± 0,8	0,85 ± 0,1
12.	APOLLO	321,7 ± 22,0	216,2 ± 11,9	2007 ± 166	1,13 ± 0,07	2,73 ± 0,17	0,53 ± 0,1
13.	AREZZO	294 ± 7,3	202,4 ± 7,4	2063 ± 379	1,26 ± 0,1	2,92 ± 0,26	0,59 ± 0,07
14.	ASTRON	304,3 ± 39,6	212,4 ± 7,8	2046 ± 378	1,02 ± 0,2	3,16 ± 0,91	0,68 ± 0,26
15.	AVRORA	308,1 ± 6,1	235 ± 7,2	1872 ± 60	1,32 ± 0,06	3,64 ± 0,81	0,7 ± 0,03
16.	AVRORIO	276,1 ± 27,7	192,2 ± 11,9	1958 ± 172	1,3 ± 0,12	3,25 ± 0,9	0,68 ± 0,1
17.	BAMBI	295,9 ± 15,3	230,1 ± 3,9	2203 ± 432	1,06 ± 0,05	2,59 ± 0,26	0,48 ± 0,03
18.	BARBARA	313,1 ± 53,4	244,5 ± 12,4	2005 ± 310	1,65 ± 0,03	4,72 ± 0,88	1,04 ± 0,13
19.	BASTIDE	342,9 ± 62,2	211,9 ± 12,3	1735 ± 198	1,03 ± 0,1	2,51 ± 0,03	0,29 ± 0,04
20.	BC ELVIRA	211,2 ± 8,7	218,5 ± 22,5	2113 ± 42	1,12 ± 0,21	3,47 ± 0,12	0,91 ± 0,13
21.	BEZOSTAJA	301,1 ± 28,4	203,6 ± 25,8	2137 ± 195	1,15 ± 0,13	2,75 ± 0,08	0,39 ± 0,05
22.	BLASCO	348,1 ± 11	221,5 ± 9,8	2215 ± 620	1,27 ± 0,05	2,64 ± 0,16	0,31 ± 0,04

Tablica 11. (nastavak)

R.br.	Sorta	Ca (mg L^{-1})	Mg (mg L^{-1})	K (mg L^{-1})	Fe (mg L^{-1})	Mn (mg L^{-1})	Zn (mg L^{-1})
23.	CAPPELLE DESPREZ	337,5 ± 8,3	234,2 ± 7,1	2123 ± 553	1,07 ± 0,08	2,73 ± 0,21	0,48 ± 0,07
24.	CAPO	315 ± 19,8	225,1 ± 32,1	2161 ± 277	1,42 ± 0,1	2,62 ± 0,17	0,5 ± 0,01
25.	CONTRA	233,5 ± 31,2	183,6 ± 9,9	2258 ± 56	1,23 ± 0,12	3,38 ± 0,02	0,82 ± 0,07
26.	DARWIN	329,3 ± 0,3	253,4 ± 11,5	2370 ± 107	1,97 ± 0	5,02 ± 1	0,84 ± 0
27.	DEKAN	267,1 ± 27,6	211,9 ± 11,4	2197 ± 135	1,42 ± 0,12	3,57 ± 0,86	0,64 ± 0,14
28.	DEMETRA	299,6 ± 1,0	205,9 ± 3,1	2246 ± 37	1,39 ± 0,19	3,81 ± 0,45	0,9 ± 0,07
29.	DIVANA	334,6 ± 54,5	271,3 ± 19,3	2181 ± 125	1,84 ± 0,21	4,21 ± 1,02	0,56 ± 0,14
30.	EDISON	408,3 ± 47,9	267,9 ± 26,4	2393 ± 807	1,5 ± 0,03	3,41 ± 0,28	0,14 ± 0,01
31.	ERYTHROSPERMUM	330,9 ± 10,7	217 ± 28,2	2310 ± 365	2,18 ± 0,04	3,42 ± 0,14	0,83 ± 0,08
32.	ESEVAN	322,8 ± 18,3	240,6 ± 15,1	2282 ± 418	1,68 ± 0,06	2,97 ± 0,68	0,33 ± 0,02
33.	ETOILE DE CHOISY	332,5 ± 22,8	246,2 ± 40	2561 ± 662	1,53 ± 0,02	3,21 ± 0,12	0,51 ± 0,03
34.	EUROFIT	305,9 ± 4,8	203,2 ± 9,8	2054 ± 55	1,67 ± 0,24	3,36 ± 0,02	0,55 ± 0,04
35.	EUROJET	349,4 ± 17,3	229,7 ± 11,6	2451 ± 593	1,34 ± 0,03	2,97 ± 0,32	0,5 ± 0,07
36.	FELIX	330,3 ± 40,1	187,6 ± 7,1	2602 ± 541	1,06 ± 0,01	2,73 ± 0,09	0,72 ± 0,09
37.	FESTIVAL	444,7 ± 48,4	248,6 ± 5,3	2338 ± 416	1,56 ± 0,11	3,15 ± 0,25	0,56 ± 0,03
38.	FIORELLO	294,1 ± 10,4	238,2 ± 14,8	2632 ± 339	1,43 ± 0,24	3,11 ± 0,16	0,38 ± 0,03
39.	GEMINI	372,2 ± 14,4	275,8 ± 0,2	2643 ± 148	1,98 ± 0,09	5,34 ± 0,28	1,03 ± 0,14
40.	GOLUBICA	250,2 ± 10,1	198,6 ± 0,2	2660 ± 165	1,7 ± 0,14	3,67 ± 0,16	0,95 ± 0,12
41.	GORBI	256 ± 26,5	207,6 ± 67,7	2672 ± 195	1,79 ± 0,11	2,68 ± 0,17	0,62 ± 0,19
42.	HERZOG	364,5 ± 36,3	267,9 ± 33,3	2820 ± 692	1,39 ± 0,22	2,77 ± 0,12	0,69 ± 0,04
43.	IKARUS	244,9 ± 21,4	143,8 ± 10,7	2813 ± 191	1,27 ± 0,02	2,4 ± 0,14	0,47 ± 0,02
44.	ILIRIJA	342,2 ± 8,7	217,8 ± 12,6	2732 ± 227	1,75 ± 0,07	3,27 ± 0,66	0,61 ± 0,05

Tablica 11. (nastavak)

R.br.	Sorta	Ca (mg L^{-1})	Mg (mg L^{-1})	K (mg L^{-1})	Fe (mg L^{-1})	Mn (mg L^{-1})	Zn (mg L^{-1})
45.	ISNEGRAIN	329,6 ± 15,1	239,6 ± 2,3	2659 ± 284	0,79 ± 0,02	2,9 ± 0,02	0,85 ± 0,03
46.	JANICA	362,9 ± 37,9	212,1 ± 4,4	3156 ± 590	1,61 ± 0,12	3,07 ± 0,11	0,17 ± 0,02
47.	KATARINA	244,5 ± 20,5	202,1 ± 16,8	3029 ± 195	1,32 ± 0,12	4 ± 0,06	0,7 ± 0,12
48.	KAVKAZ	410,7 ± 26,3	222,8 ± 5,8	3267 ± 141	1,68 ± 0,21	3,37 ± 0,2	0,64 ± 0,06
49.	KOMAROM	263 ± 1,8	184 ± 5,6	2788 ± 460	1,05 ± 0,02	2,73 ± 0	0,89 ± 0,13
50.	LAMBRIEGOINIA	245,2 ± 35,9	181 ± 17,1	2917 ± 115	0,78 ± 0,06	2,87 ± 0,09	0,54 ± 0,06
51.	LELA	247,1 ± 41,2	168,4 ± 18,6	2569 ± 179	0,84 ± 0,04	2,56 ± 0,38	0,85 ± 0,07
52.	LIBELLULA	273,3 ± 3,7	146,8 ± 29,4	3125 ± 560	0,98 ± 0,06	3,24 ± 0,83	0,84 ± 0,03
53.	LUCIJA	212,6 ± 55,5	187,8 ± 0,5	3062 ± 119	0,86 ± 0,07	2,58 ± 0,2	0,59 ± 0,05
54.	LUDWIG	191,9 ± 5,4	197,6 ± 4,6	2876 ± 427	1,19 ± 0,14	3,22 ± 0,96	0,84 ± 0,01
55.	LUTESCENS 8	203,2 ± 29,4	196,6 ± 28,4	3230 ± 591	1,21 ± 0,04	2,68 ± 0,59	0,96 ± 0,08
56.	MIRONOVSKAYA 65	248,8 ± 18,6	204,1 ± 10,7	2870 ± 814	2,13 ± 0,1	3,59 ± 0,62	0,66 ± 0
57.	MISTRALIS	268,1 ± 11,6	169 ± 17,2	3213 ± 83	0,96 ± 0,15	2,79 ± 0,02	0,66 ± 0,01
58.	MV CSARDAS	283,8 ± 50,7	196,1 ± 29,7	3464 ± 789	1,55 ± 0,08	3,09 ± 0,58	0,66 ± 0,06
59.	MV EMESE	374,5 ± 34,3	188 ± 7,5	3107 ± 179	1,56 ± 0,11	4,89 ± 0,23	0,56 ± 0,04
60.	MV MAGDALENA	355,6 ± 17,2	187,6 ± 32,2	3617 ± 508	1,61 ± 0,06	2,75 ± 0,24	0,36 ± 0,04
61.	MV MAGVAS	235,3 ± 26,8	198,6 ± 7,5	3609 ± 51	1,61 ± 0,17	3,21 ± 0,09	0,92 ± 0,08
62.	MV MAMBO	328,7 ± 14,2	182,7 ± 6,9	3629 ± 82	1,67 ± 0,16	4,36 ± 0,12	0,96 ± 0,04
63.	MV MAZURKA	255 ± 9,4	170,2 ± 1,6	3446 ± 202	0,97 ± 0,02	2,49 ± 0,02	0,72 ± 0,07
64.	MV MENUETT	276,9 ± 51,0	199,1 ± 32,1	3599 ± 212	1,1 ± 0,01	3,64 ± 0,02	0,48 ± 0,06
65.	MV PALMA	320,6 ± 33,8	193,6 ± 15,5	3558 ± 518	1,37 ± 0	3,45 ± 1,31	1,18 ± 0,01
66.	MV TOLDI	268,4 ± 17,0	217,2 ± 6,8	3524 ± 1151	1,29 ± 0,09	3,59 ± 0,24	0,85 ± 0,04

Tablica 11. (nastavak)

R.br.	Sorta	Ca (mg L^{-1})	Mg (mg L^{-1})	K (mg L^{-1})	Fe (mg L^{-1})	Mn (mg L^{-1})	Zn (mg L^{-1})
67.	MV VERBUNKOS	334,9 ± 6,4	200 ± 6,4	3866 ± 243	1,22 ± 0	3,1 ± 0,11	0,38 ± 0,05
68.	NIRVANA	235,8 ± 8,8	170,4 ± 8,2	3623 ± 30	1,66 ± 0,15	2,33 ± 0,17	0,28 ± 0,02
69.	NIZIJA	292,3 ± 21,5	195 ± 4,2	3944 ± 25	1,67 ± 0,1	3,03 ± 0,09	0,82 ± 0,03
70.	NS PANONIA	309,9 ± 24,4	226,6 ± 5,7	4168 ± 399	1,72 ± 0,05	2,89 ± 0,31	0,79 ± 0
71.	NS RANA 5	296,8 ± 5,1	187 ± 18,8	3661 ± 642	1,81 ± 0,17	2,64 ± 0,14	0,49 ± 0,09
72.	OSJEČKA 20	200,1 ± 42,1	161,6 ± 23,8	3578 ± 170	0,97 ± 0,16	3,26 ± 0,35	0,95 ± 0,07
73	PANONIJA	336,4 ± 1,7	212,3 ± 11,3	4048 ± 372	1,55 ± 0,31	2,94 ± 0,14	0,82 ± 0,08
74.	PESMA	364,8 ± 38,2	188,6 ± 14,6	3687 ± 195	1,52 ± 0,35	3,04 ± 0,16	1,18 ± 0,06
75.	PIPI	334,4 ± 41,3	219,2 ± 5,9	3985 ± 224	1,75 ± 0,22	3,14 ± 0,11	0,78 ± 0,02
76	PRIMA ODESKAYA	323,2 ± 16,0	168,8 ± 9,2	3802 ± 454	1,55 ± 0,16	2,49 ± 0,34	0,68 ± 0,06
77.	RAVENNA	317 ± 30,0	227,9 ± 5,4	3765 ± 339	1,48 ± 0	3,34 ± 0,12	0,92 ± 0,12
78.	REDIMER	251,7 ± 24,1	173,1 ± 7,5	4271 ± 52	1,62 ± 0,15	3,02 ± 0,1	0,71 ± 0,05
79.	RENAN	261,4 ± 23,7	179,7 ± 22,7	2984 ± 748	1,01 ± 0,11	4,21 ± 1,05	0,49 ± 0,07
80.	RENATA	406,3 ± 27,2	197,1 ± 48,2	3797 ± 298	1,67 ± 0,04	3,25 ± 0,81	0,38 ± 0,07
81.	RENESANSA	319,5 ± 43,9	203 ± 5,3	4362 ± 25	1,74 ± 0,01	3,12 ± 0,25	0,99 ± 0,07
82.	RUŽICA	304,8 ± 34,3	216,8 ± 13,4	3756 ± 295	1,6 ± 0,17	3,24 ± 0,12	0,67 ± 0,13
83.	SAN PASTORE	244 ± 31,3	161,1 ± 4,5	4369 ± 47	2,08 ± 0,13	2,79 ± 0,15	1,12 ± 0,05
84.	SANA	243,6 ± 42	195,9 ± 7,6	4254 ± 170	1,9 ± 0,07	2,72 ± 0,21	0,45 ± 0,05
85.	SIDERAL	334,8 ± 3,5	187,4 ± 30,2	4258 ± 202	1,61 ± 0,32	2,56 ± 0,19	0,4 ± 0,05
86.	SIMONIDA	240,5 ± 28,9	161 ± 9,3	4018 ± 144	1,64 ± 0,07	2,74 ± 0,4	0,91 ± 0,07
87.	SLAVONIJA	260,3 ± 22,4	141,3 ± 19,2	3250 ± 788	1,73 ± 0,17	2,93 ± 0,42	0,45 ± 0,02

Tablica 11. (nastavak)

R.br.	Sorta	Ca (mg L^{-1})	Mg (mg L^{-1})	K (mg L^{-1})	Fe (mg L^{-1})	Mn (mg L^{-1})	Zn (mg L^{-1})
88.	SOISSONS	244,8 ± 16,6	189,4 ± 4,6	4290 ± 584	1,84 ± 0,21	3,04 ± 0,42	0,73 ± 0,2
89.	SREMICA	255,7 ± 2,6	163,6 ± 18,7	3009 ± 134	1,61 ± 0,15	3,55 ± 0,07	0,56 ± 0,08
90.	SRPANJKA	238,7 ± 40,2	168,4 ± 9,8	4221 ± 220	1,57 ± 0,08	2,78 ± 0,14	0,94 ± 0,14
91.	SUPER ŽITARKA	288,1 ± 48	144,8 ± 5,1	4408 ± 49	1,7 ± 0,13	3 ± 0,02	0,37 ± 0,05
92.	SW MAXI	372,8 ± 39,0	188,8 ± 16,4	3940 ± 400	1,67 ± 0,02	3,02 ± 0,06	0,89 ± 0,04
93.	U1	265,8 ± 49,3	190,2 ± 19,2	4515 ± 28	1,56 ± 0,11	2,8 ± 0,41	0,96 ± 0,02
94.	UKRAJINKA	238,3 ± 30,7	191,6 ± 9,9	4454 ± 363	2,16 ± 0,04	2,95 ± 0,29	0,61 ± 0,03
95.	V. ODESSKAYA	282,7 ± 41,6	190,9 ± 7,1	4511 ± 145	2,15 ± 0,09	3,14 ± 0,1	0,8 ± 0,04
96.	ZLATA	290,2 ± 25,9	140,3 ± 6,9	4273 ± 267	1,73 ± 0,25	2,87 ± 0,46	0,83 ± 0,06
97.	ZLATNA DOLINA	255,4 ± 27,9	191 ± 7,4	4734 ± 184	1,54 ± 0,1	2,96 ± 0,16	0,91 ± 0,06
98.	ŽITARKA	301,5 ± 44,8	218,8 ± 16,7	4269 ± 121	2,18 ± 0,28	3,19 ± 0,06	0,92 ± 0,01
Prosjek ± standardna devijacija		296,4 ± 25,4	204,1 ± 13,8	3010 ± 298	1,45 ± 0,11	3,13 ± 0,31	0,69 ± 0,06

Vrijednosti u tablici predstavljaju prosjek ± standardna devijacija

Koncentracije K, Ca, Mg, Fe, Mn i Zn u soku pšenične trave divljih srodnika pšenice

U skupini od 5 divljih srodnika određene su ukupne i *in vitro* bioraspoložive koncentracije makroelemenata (Ca, Mg, K) i mikroelemenata (Fe, Mn, Zn) prikazane u Tablici 12. i Tablici 13. Prosječna ukupna koncentracija Ca kod divljih srodnika iznosila je 381,8 ± 17,8 mg L^{-1}. *Triticum spelta* imala je najnižu ukupnu koncentraciju Ca (298,7 ± 20,2 mg L^{-1}), dok je kod *Triticum sphaerococcuma* izmjerena 57% viša koncentracija, što je i ujedno i najviša ukupna koncentracija Ca (521,8 ± 8,2) u skupini divljih srodnika. Osim Ca, kod T*riticum sphaerococcum* izmjerena je i najviša koncentracija Mg (276,5 ± 4,6). U odnosu na najvišu koncentraciju, u sokovima *Triticum compactum* (184,2 ± 6,3) i *Triticum monococcum* (186,9 ± 12,6) izmjerene su za 50 % i 48 % niže koncentracije Mg što su u skupini divljih srodnika najniže koncentracije Mg. Prosječna ukupna koncentracija K u skupini divljih srodnika pšenice iznosila je 2647 ± 138 mg L^{-1}. Za razliku od Ca i Mg, najniža koncentracija K izmjerena je kod *Triticum sphaerococcum* (2022 ± 67), dok je najviša koncentracija K iznosila 60% više te je izmjerena kod *Triticum monococcuma* (3236 ± 180). Najniža koncentracija Fe (2,44 ± 0,13) izmjerena je kod *Triticum compactum*, dok je najviša izmjerena kod *Triticum monococcum* (4,75 ± 0,22) što je gotovo dva puta više u odnosu na koncentraciju kod *Triticum compactum*. U soku *Triticum dicoccoides* i *Triticum spelta* zabilježene su najniže koncentracije Mn u iznosu od 2,61 ± 0,1 i 2,73 ± 0,8 mg L^{-1}. Kod preostala ispitana tri divlja srodnika zabilježene su koncentracija Mn iznad 3,1 mg L^{-1} pri čemu je najviša koncentracija izmjerena u soku *Triticum compactuma* (3,75 ± 0,23) što je 43% više u odnosu na *Triticum dicoccoides*. Osim Fe, u odnosu na druge divlje srodnike, kod *Triticum compactuma* utvrđena je i najniža koncentracija Zn (2,09 ± 0,25 mg L^{-1}). Najviša koncentracija Zn utvrđena je kod *Triticum monococcuma* u iznosu od 4,75 ± 0,22 mg L^{-1} što je 66% više u odnosu na prosječnu koncentraciju Zn u skupini divljih srodnika.

Tablica 12. Prosječne ukupne koncentracije (prosjek ± standardna devijacija) kalcija, magnezija, kalija, željeza, mangana i cinka u soku pšenične trave divljih srodnika pšenice

Genotip	Ca (mg L^{-1})	Mg (mg L^{-1})	K (mg L^{-1})	Fe (mg L^{-1})	Mn (mg L^{-1})	Zn (mg L^{-1})
T.compactum	306,5 ± 34,7	184,2 ± 6,3	2722 ± 97	2,44 ± 0,13	3,75 ± 0,23	2,09 ± 0,25
T.diccocoides	425,6 ± 13,4	219,8 ± 15,2	2817 ± 112	3,49 ± 0,29	2,61 ± 0,1	3,5 ± 0,16
T.monococcum	356,6 ± 12,9	186,9 ± 12,6	3236 ± 180	4,75 ± 0,22	3,73 ± 0,34	3,79 ± 0,18
T.spelta	298,7 ± 20,2	220,8 ± 18,5	2438 ± 235	3,74 ± 0,34	2,73 ± 0,8	2,73 ± 0,11
T.sphaerococcum	521,8 ± 8,2	276,5± 4,6	2022 ± 67	3,43 ± 0,16	3,15 ± 0,04	2,19 ± 0,02
Prosjek ± standardna devijacija	**381,8 ± 17,8**	**217,6 ± 11,4**	**2647 ±138**	**3,57 ± 0,23**	**3,19 ± 0,30**	**2,86 ± 0,14**

Vrijednosti u tablici predstavljaju prosjek ± standardna devijacija

Kao i kod ukupne koncentracije Ca, najviša *in vitro* bioraspoloživa koncentracija Ca utvrđena je kod *Triticum sphaerococcuma* (387,9 ± 4,6). S druge strane, kod *Triticum compactum* (247,8 ± 17,0) je izmjerena 56 % niža koncentracija Ca što ujedno predstavlja i najnižu *in vitro* bioraspoloživu koncentraciju Ca u ispitivanom uzorku. Najviše *in vitro* bioraspoložive koncentracije Mg izmjerene su kod *Triticum sphaerococcum* (216,7 ± 28,7) i *Triticum spelta* (200,5 ± 13,8) dok su kod preostalih ispitivanih divljih srodnika koncentracije Mg nakon *in vitro* simulacije probave bile znatno niže (149,6 ± 2,9). *In vitro* bioraspoloživa koncentracija K kretala se u rasponu od 1775 ± 154 izmjerene kod *Triticum sphaerococcum,* do 2962 ± 8979 mg L^{-1} kod *Triticum monococcum*. Najniža *in vitro* bioraspoloživa koncentracija Fe izmjerena je kod *Triticum sphaerococcum* 1,06 ± 0,01, dok je najviša izmjerena kod *Triticum monococcum* 2,09±0,09 mg L^{-1}, odnosno 97 % više u odnosu na najnižu koncentraciju Fe. Najniža *in vitro* bioraspoloživa koncentracija Mn izmjerena je kod *Triticum dicoccoides* 2,23 ± 0,001 mg L^{-1}, dok je najviša izmjerena kod *Triticum compactum* 3,33 ± 0,13 mg L^{-1}, što je 21 % više u odnosu na prosječnu koncentraciju Mn. Najniža koncentracija Zn izmjerena je kod divljeg srodnika *Triticum sphaerococcum* 0,27 ± 0,05 mg L^{-1}, a najviša je kod *Triticum dicoccoides* 1,71 ± 0,03 mg L^{-1}.

Tablica 13. Prosječne *in vitro* bioraspoložive koncentracije (prosjek ± standardna devijacija) kalcija, magnezija, kalija, željeza, mangana i cinka u soku pšenične trave divljih srodnika pšenice

Genotip	Ca (mg L^{-1})	Mg (mg L^{-1})	K (mg L^{-1})	Fe (mg L^{-1})	Mn (mg L^{-1})	Zn (mg L^{-1})
T.compactum	247,8 ± 17,0	156 ± 0,8	2604 ± 111	1,19 ± 0,04	3,33 ± 0,13	0,98 ± 0,06
T.diccocoides	306,0 ± 1,0	155,9 ± 2,2	2639 ± 39	1,22 ± 0,04	2,23 ± 0,001	1,71 ± 0,03
T.monococcum	316,7 ± 6,5	149,6 ± 2,9	2962 ± 79	2,09 ± 0,09	3,25 ± 0,39	1,43 ± 0,06
T.spelta	266,4 ± 17,2	200,5 ± 13,8	2237 ± 104	1,51 ± 0,02	2,38 ± 0,82	1,29 ± 0,01
T.sphaerococcum	387,9 ± 4,63	216,7 ± 28,7	1775 ± 154	1,06 ± 0,01	2,52 ± 0,29	0,27 ± 0,05
Prosjek ± standardna devijacija	**304,9 ± 9,3**	**175,7 ± 9,7**	**2443 ± 97**	**1,41 ± 0,04**	**2,74 ± 0,33**	**1,14 ± 0,04**

Vrijednosti u tablici predstavljaju prosjek ± standardna devijacija

3.2. Usporedba koncentracija genotipova izabranih za poljski pokus s prosječnim koncentracijama K, Ca, Mg, Fe, Mn i Zn u uzorku

Ukupne koncentracije K, Ca, Mg, Fe, Mn i Zn (mg L^{-1}) u izabranim genotipovima

Na temelju dobivenih rezultata u uzorku od 98 sorata pšenice (*Triticum aestvium* L.*)* i 5 divljih srodnika izabrano je 9 sorti i jedan divlji srodnik za sjetvu u poljski pokus u kojem je glavni agrofortifikacijski tretman označavao folijarnu aplikaciju cinka i selena u dvije koncentracije. Treba napomenuti da je prilikom odabira bilo važno izabrati sorte koje dobro predstavljaju ispitanu i već utvrđenu varijabilnost ispitivanih elemenata. S obzirom na to, a uzimajući u obzir koncentracije ispitivanih makro (Ca, Mg, K) i mikroelemenata (Fe, Mn, Zn) istaknulo se nekoliko genotipova.

Ukupne i *in vitro* bioraspoložive koncentracije Ca, Mg, K, Fe, Mn i Zn izabranih genotipova prikazane su u Tablicama 14. i 15. Sorta Soissons ima najvišu koncentraciju Ca i to za 63 % više u odnosu na Katarinu (296,3 ± 5,9), sortu sa najnižom koncentracijom Ca. Sličan odnos prati i koncentracija Mg. Naime, sorta Katarina ima najnižu koncentraciju Mg u iznosu od 155,5 ± 9,5 mg L^{-1} dok najviša koncentracija izmjerena u soku sorte Soissons i iznosi gotovo dva puta više u odnosu na najnižu koncentraciju. Felix je imao najnižu koncentraciju K (2146 ± 197), a Ilirija najviše koncentracije u iznosu od 5217 ± 73 mg L^{-1} i Srpanjka sa 4933 ± 264. Najniža koncentracija Fe izmjerena je kod sorte Antonius (2,94 ± 0,14), dok je za 61% više izmjerena najviša koncentracija Fe kod *Triticum monococcum* (2,94 ± 0,14). Osim Ca i Mg, Katarina (2,92 ± 0,06) ima i najnižu koncentraciju Mn. Kao sorta sa najvišom koncentracijom Mn, pokazao se Dekan, i to za 94 % više u odnosu na Katarinu sa koncentracijom od 5,67 ± 0,09 mg L^{-1}. Najniža koncentracija Zn izmjerena je u sorti Antonius 1,81 ± 0,14 mg L^{-1}, dok je najviša izmjerena u divljem srodniku *Triticum monococcum* 3,79 ± 0,18 mg L^{-1}. Statistički značajne razlike u ukupnim i *in vitro* bioraspoloživim koncentracijama makro i mikroelemenata između ispitivanim sortama dokazane su Tukeyevim HSD testom (Tablica 14. i Tablica 15.).

Tablica 14. Ukupne koncentracije (prosjek ± standardna devijacija) kalcija, magnezija, kalija, željeza, mangana i cinka u izabranim sortama za poljski pokus

	Ca (mg L^{-1})	**Mg (mg L^{-1})**	**K (mg L^{-1})**	**Fe (mg L^{-1})**	**Mn (mg L^{-1})**	**Zn (mg L^{-1})**
Antonius	369,3 ± 49,4	247,1 ± 14,2	2252 ± 339	2,94 ± 0,14	3,55 ± 0,84	1,81 ± 0,14
Dekan	420,9 ± 14,8	300,1 ± 6,7	2864 ± 263	4,13 ± 0,29	5,67 ± 0,09	2,65 ± 0,11
Divana	326,3 ± 8,5	223,2 ± 3,4	2215 ± 320	3,69 ± 0,19	3,36 ± 0,13	1,82 ± 0,16
Felix	302,6 ± 6,7	266,8 ± 6,2	2146 ± 197	3,5 ± 0,34	3,58 ± 0,74	1,87±0,1
Ilirija	371,1 ± 16,7	240,7 ± 8,1	5217 ± 73	4,35 ± 0,28	3,66 ± 0,38	2,47±0,08
Katarina	296,3 ± 5,9	155,5 ± 9,5	3026 ±19	3,6 ± 0,23	2,92 ± 0,06	2,4±0,01
Soissons	482,63 ± 40,6	308,5 ± 35,5	2613 ± 735	3,79 ± 0,23	3,92 ± 0,2	1,95±0,23
Srpanjka	340,1 ± 26,8	218,9 ± 2,9	4933 ± 264	4,07 ± 0,21	3,49 ± 0,19	2,31±0,13
Triticum monococcum	356,6 ± 12,9	186,9 ± 12,6	3236 ± 180	4,75 ± 0,22	3,73 ± 0,34	3,79±0,18
U1	410,8 ± 32,1	271,1 ± 27,03	3287 ± 624	3,96 ± 0,18	3,43 ± 0,15	2,66±0,31
Prosjek ± standardna devijacija	367,7 ± 21,4	241,9 ± 10,6	3178 ± 301	3,88 ± 0,23	3,71 ± 0,31	2,37 ± 0,15

Vrijednosti u tablici predstavljaju prosjek ± standardna devijacija

Odnos između Katarine kao sorte sa najnižom koncentracijom Ca nakon *in vitro* bioraspoloživosti i Soissons kao sorte sa najvišom koncentracijom *in vitro* bioraspoloživog Ca sličan je odnosu iste dvije sorte u ukupnim koncentracijama Ca. Naime, kao i kod ukupne koncentracije Ca i kod *in vitro* bioraspoložive koncentracije, sorta Katarina ima 66 % veću koncentraciju Ca u odnosu na Soissons nakon provedene *in vitro* simulacije probave. Najvišu koncentraciju Mg nakon *in vitro* simulacije probave ima Dekan, a 47 % nižu koncentraciju ima Katarina, te je i ujedno sorta s najnižom koncentracijom *in vitro* bioraspoloživog Mg u ispitivanom uzorku. S obzirom da je Felix imao najnižu ukupnu koncentraciju K, potvrdilo se da je i imao najnižu koncentraciju K nakon *in vitro* simulacije probave. Također, najvišu koncentraciju *in vitro* bioraspoloživog K imaju Srpanjka i Ilirija. *In vitro* bioraspoloživost Fe nije pratila raspodjelu ukupnih koncentracija Fe. Stoga, je najviša bioraspoloživa koncentracija Fe i izmjerena je kod Ilirije, a najniža kod sorte U1 (Tablica 15). Raspodjela sorti za *in vitro* bioraspoloživost Mn prati raspodjelu sorti za ukupne koncentracije Mn. Naime, najviša koncentracija *in vitro* bioraspoloživog Mn utvrđena je kod Dekana, i predstavlja gotovo 6 % nižu koncentraciju od ukupne koncentracije Mn kod iste sorte. Najniža koncentracija Mn nakon simulacije probave *in vitro* utvrđena je kod sorte Katarina i 17 % je niža od ukupne koncentracije Mn u istoj sorti. Soissons je sorta sa najnižom koncentracijom Zn nakon simulacije probave *in vitro*. Nakon simulacije probave *in vitro* najviša koncentracija Zn utvrđena je kod *Triticum monococcuma*. U odnosu na ukupnu koncentraciju Zn utvrđenu kod divljeg srodnika *Triticum monococcum*, nakon simulacije probave *in vitro* koncentracija je niža za 62 %.

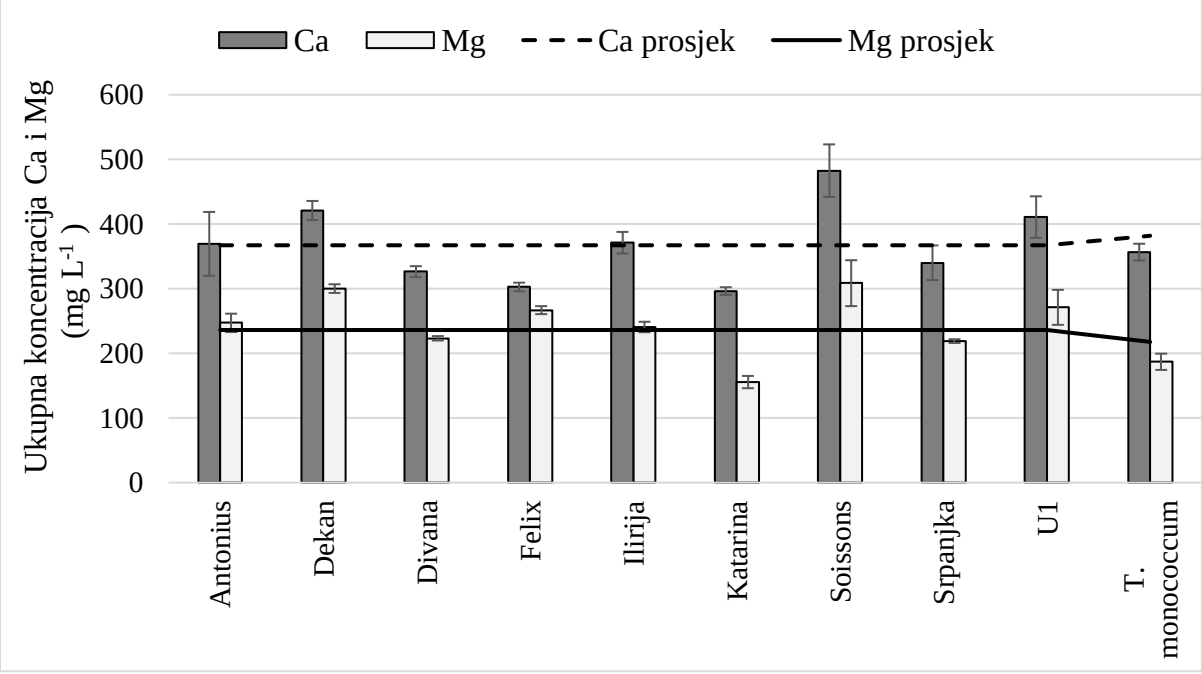
Tablica 15. *In vitro* bioraspoložive koncentracije (prosjek ± standardna devijacija) kalcija, magnezija, kalija, željeza, mangana i cinka u sortama izabranim za poljski pokus

	Ca (mg L^{-1})	**Mg (mg L^{-1})**	**K (mg L^{-1})**	**Fe (mg L^{-1})**	**Mn (mg L^{-1})**	**Zn (mg L^{-1})**
Antonius	304,3 ± 39,6	212,4 ± 7,8	2046 ± 378	1,02 ± 0,2	3,16 ± 0,91	0,68 ± 0,26
Dekan	372,2 ± 14,4	275,8 ± 0,2	2643 ± 148	1,98 ± 0,09	5,34 ± 0,28	1,03 ± 0,14
Divana	294,0 ± 7,3	202,4 ± 7,4	2062 ± 379	1,26 ± 0,1	2,92 ± 0,26	0,59 ± 0,07
Felix	283,1 ± 1,8	231,4 ± 7,6	2000 ± 155	1,41 ± 0,11	2,69 ± 0,16	0,57 ± 0,03
Ilirija	301,5 ± 44,8	218,8 ± 16,7	4269 ± 120	2,18 ± 0,28	3,19 ± 0,06	0,92 ± 0,01
Katarina	244,9 ± 21,4	143,8 ± 10,7	2812 ± 191	1,27 ± 0,02	2,4 ± 0,14	0,47 ± 0,02
Soissons	408,3 ± 48,0	267,9 ± 26,4	2392 ± 807	1,5 ± 0,03	3,41 ± 0,28	0,14 ± 0,01
Srpanjka	255,4 ± 27,9	191,0 ± 7,4	4733 ± 183	1,54 ± 0,1	2,96 ± 0,16	0,91 ± 0,06
Triticum monococcum	316,7 ± 6,5	149,6 ± 2,9	2962 ± 79	2,09 ± 0,09	3,25 ± 0,39	1,43 ± 0,06
U1	329,6 ± 15,1	239,6 ± 2,3	2659 ± 283	0,79 ± 0,02	2,9 ± 0,02	0,85 ± 0,03
Prosjek ± standardna devijacija	311 ± 22,7	213,3 ± 8,9	2857 ± 272	1,50 ± 0,10	3,22 ± 0,27	0,76 ± 0,07

Vrijednosti u tablici predstavljaju prosjek ± standardna devijacija

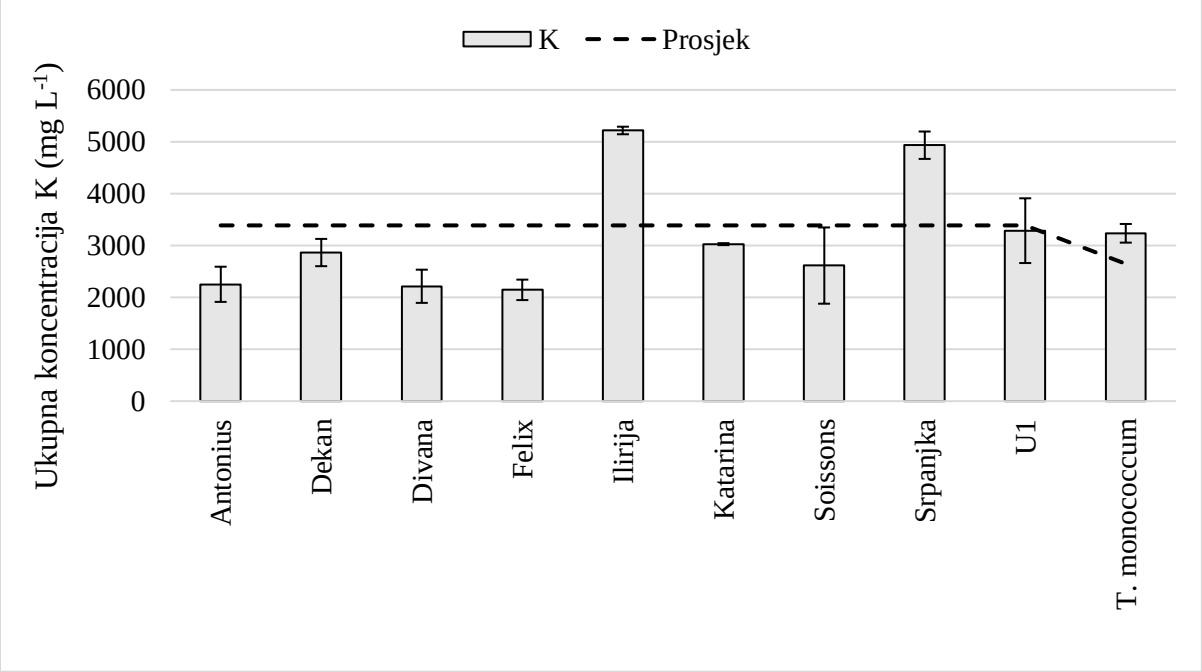
S obzirom da je za daljnji tijek istraživanja izabrano ukupno 9 sorti pšenice i jedan divlji srodnik napravljena je grafička usporedba izabranih genotipova s obzirom na njihove ukupne koncentracije i prosječne vrijednosti ispitivanih makro i mikroelemenata (Grafikon 1., 2. i 3.).

Na Grafikonu 1. vidljivo je da sorta Soissons ima 31% višu koncentraciju Ca od prosječne vrijednosti i 30% višu koncentraciju Mg od prosjeka. Sorta Dekan se također istaknula kao sorta sa 14% višom koncentracijom Ca i 27% višom koncentracijom Mg. Iznad prosječno visoke koncentracije Ca (11% viša koncentracija) i Mg (14% viša koncentracija) utvrđene su i kod sorte U1. Kod sorte Ilirije su utvrđene koncentracije Ca i Mg bile u rasponu prosječne vrijednosti, dok su sve ostale sorte pokazale ispod prosječne koncentracije kako Ca tako i Mg. Jedino kod sorte Felix je utvrđena 17% niža prosječna vrijednost u odnosu na prosječnu koncentraciju Ca, a 13% viša prosječna koncentracija Mg. Sorta Katarina se istaknula kao sorta s najnižom koncentracijom Ca i Mg, odnosno u odnosu na prosječne vrijednosti, kod nje je utvrđena 19% niža koncentracija Ca i 34% niža koncentracija Mg.



Grafikon 1. Ukupne koncentracije Ca i Mg (prosjek ± standardna devijacija) u soku izabranih genotipova i prosječne koncentracije Ca i Mg u ispitivanim sortama (n = 98) i divljim srodnicima (n = 5)

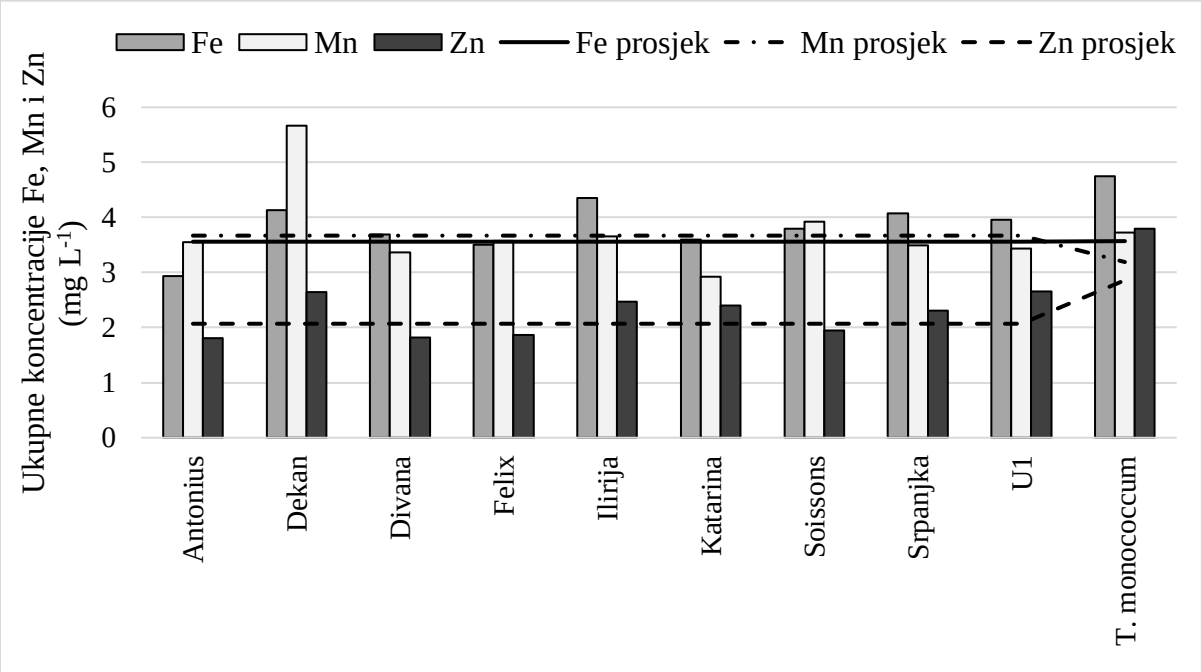
Iznad prosječno visoke ukupne koncentracije K utvrđene su kod sorti Ilirije (54% viša) i Srpanjka (45% viša) te kod divljeg srodnika *Triticum monococcuma* (22 % viša). Kod svih ostalih izabranih sorti utvrđene su ispod prosječne koncentracije K. Najniže koncentracije utvrđene su kod sorte Divane, Felix i Antonisu s 36%, 34% i 33% nižom koncentracijom u odnosu na prosjek (Grafikon 2.).



Grafikon 2. Ukupne koncentracije K (prosjek ± standardna devijacija) u soku izabranih genotipova i prosječne koncentracije K u ispitivanim sortama (n = 98) i divljim srodnicima (n = 5)

Prema Grafikonu 3. vidljivo je da su sve izabrane sorte bile iznad prosječne koncentracije Fe, osim sorte Antonius, kod koje je utvrđena ukupna koncentracija Fe iznosila 17% nižu koncentraciju u odnosu na prosjek. Kod sorti Felix i Katarina ukupna koncentracija Fe bila je u skladu s prosječnom ukupnom koncentracijom Fe, dok je sorta Divana imala malo višu ukupnu koncentraciju. Kod divljeg srodnika *Triticum monococcuma* utvrđena je 33% viša ukupna koncentracija Fe u odnosu na prosjek, a kod sorte Ilirije 22% viša koncentracija. Nasuprot grupiranju sorti prema ukupnim koncentracijama Fe, s obzirom na ukupne koncentracije Mn samo su sorte Dekan i Soissons te *Triticum monococcum* sa 54%, 6% i 16% višom koncentracijom u

odnosu na prosječnu koncentraciju Mn. Za razliku od koncentracije Fe, kod sorte Ilirije je što se tiče Mn utvrđena koncentracija bila u rasponu prosječne vrijednosti, dok je sorta Katarina pokazala najnižu ispod prosječnu vrijednosti Mn u odnosu na ostale sorte i to za 20% nižu koncentraciju. Osim Fe, kod divljeg srodnika *Triticum monococcuma* utvrđena je i najviša koncentracija Zn u odnosu na ispitivane genotipove te je iznosila 32% višu koncentraciju u odnosu na prosjek. U odnosu na prosječnu ukupnu koncentraciju Zn 28% viša koncentracija je utvrđena kod sorti Dekan i U1. Iznad prosjeka utvrđene su još sorte Ilirija sa 19% iznad, Katarina sa 15% iznad te Srpanjka sa 11% iznad ukupne koncentracije Zn.

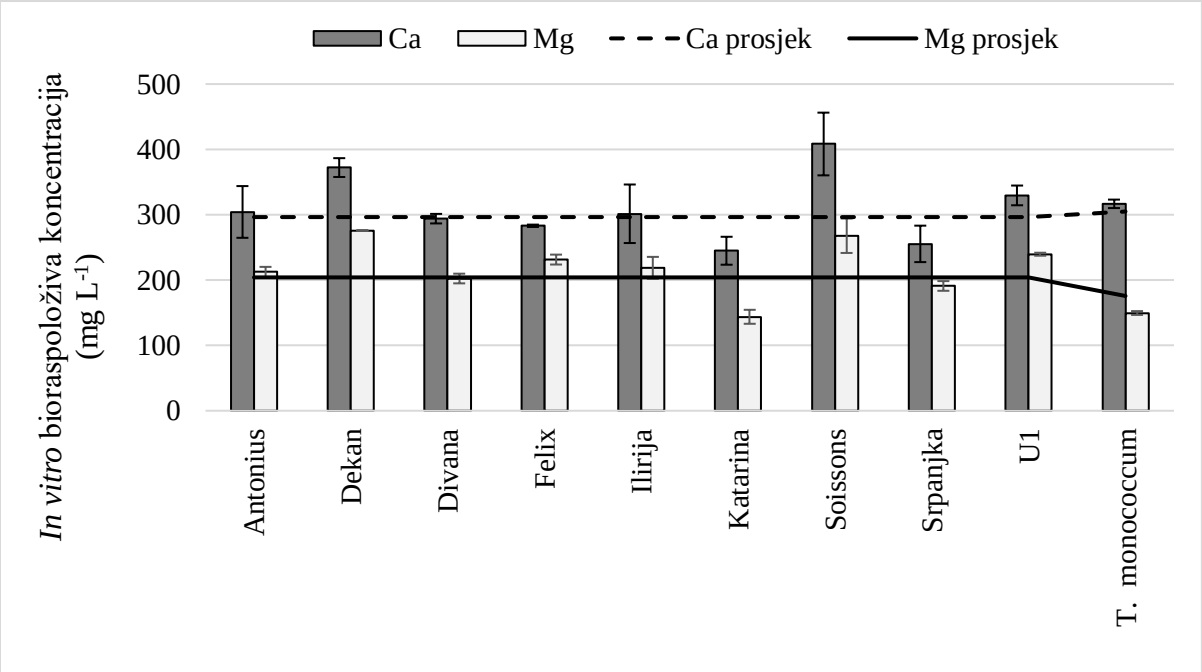


Grafikon 3. Ukupne koncentracije Fe, Mn i Zn (prosjek ± standardna devijacija) u soku izabranih genotipova i prosječne koncentracije Fe, Mn i Zn u ispitivanim sortama (n = 98) i divljim srodnicima (n = 5)

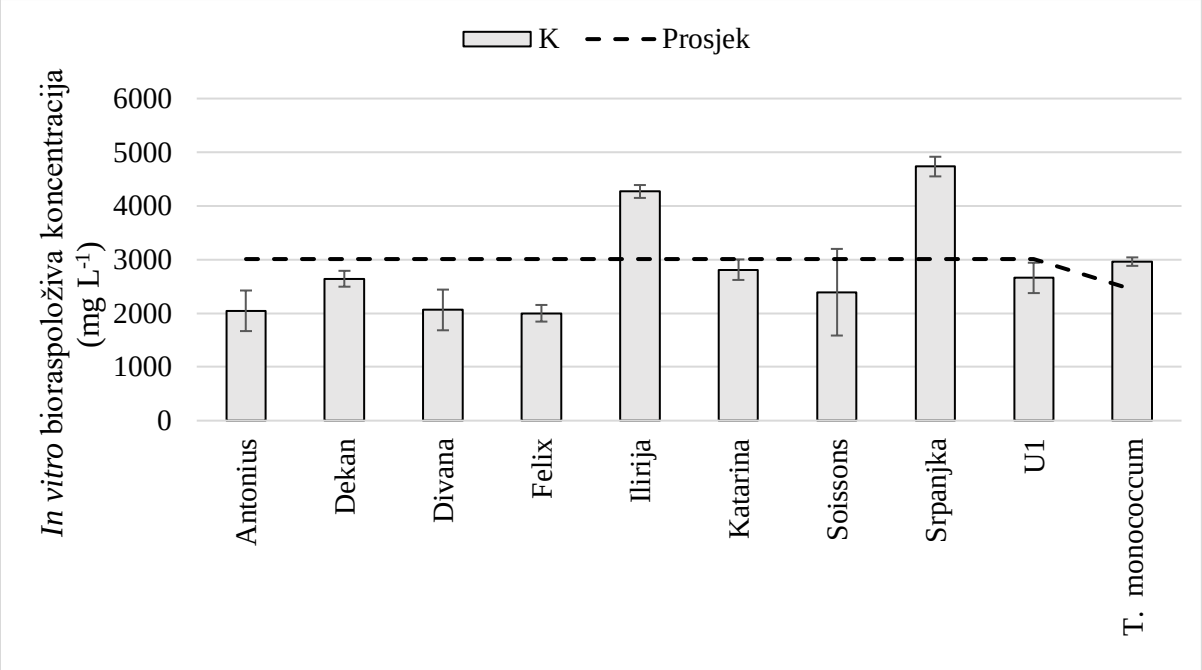
In vitro bioraspoložive koncentracije K, Ca, Mg, Fe, Mn i Zn u izabranim sortama

Očekivano je da su sorte s višim ukupnim koncentracijama Ca i Mg pokazale i veću *in vitro* bioraspoloživost navedenih elemenata (Grafikon 4.). Slijedom toga, sorta Soissons se pokazala

kao sorta s najvišom koncentracijom Ca nakon *in vitro* simulacije probave, što je u 37% više nego u odnosu na prosječnu *in vitro* bioraspoloživu koncentraciju. Iznad prosječno visoku *in vitro* bioraspoloživu koncentraciju Ca pokazale su također i sorte Dekan te U1, dok su sorte Antonius, Ilirija te divlji srodnik *Triticum monococcum* bile u rasponu prosječne vrijednosti. Sorta Katarina, kao i kod ukupne koncentracije Ca, je pokazala 17% nižu *in vitro* bioraspoloživu koncentraciju u odnosu na prosječnu koncentraciju. Sorta Dekan je pokazala 35% višu, a sorta Soissons 31% višu *in vitro* bioraspoloživu koncentraciju Mg u odnosu na prosječnu vrijednost. Sorte Felix i U1 su također pokazale iznad prosječnu koncentraciju Mg nakon provedene *in vitro* simulacije probave i to za 13% i 17%. Najniža *in vitro* bioraspoloživost Mg očitana je kod sorte Katarine te je iznosila 29% manje u odnosu na prosječnu *in vitro* bioraspoloživu koncentraciju Mg.



Grafikon 4. *In vitro* bioraspoložive koncentracije Ca i Mg (prosjek ± standardna devijacija) u soku izabranih genotipova i prosječne koncentracije Ca i Mg u ispitivanim sortama (n = 98) i divljim srodnicima (n = 5)

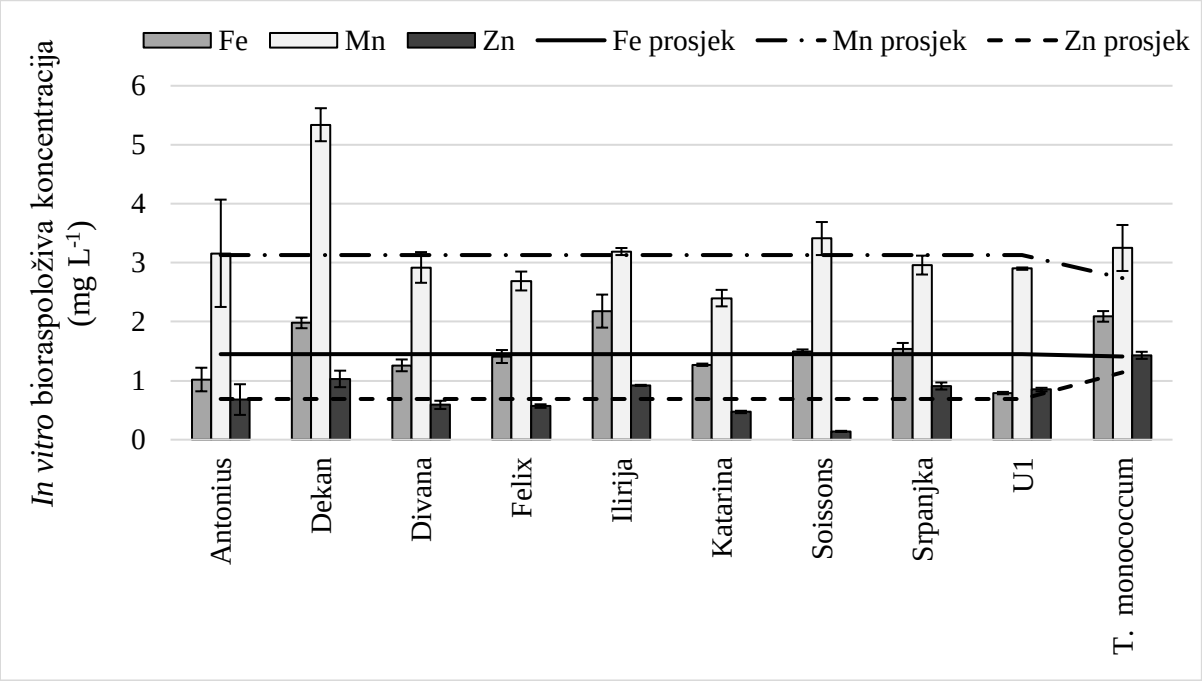


Grafikon 5. *In vitro* bioraspoložive koncentracije K (prosjek ± standardna devijacija) u soku izabranih genotipova i prosječne koncentracije K u ispitivanim sortama (n = 98) i divljim srodnicima (n = 5)

Kao i kod ukupnih koncentracija K, tako i nakon *in vitro* simulacije probave je utvrđeno da su sorte Ilirija i Srpanjka te divlji srodnik *Triticum monococcum* iznad prosjeka, dok su sve ostale sorte ispod prosječne vrijednosti (Grafikon 5.). Kod sorte Srpanjke je utvrđena 57% viša *in vitro* bioraspoloživa koncentracija K, kod Ilirije 41%, a kod divljeg srodnika *Triticum monococcuma* 21% viša u odnosu na prosjek K. Sorta Felix je pokazala najnižu vrijednost K nakon *in vitro* simulacije probave, odnosno 33% nižu u odnosu na prosjek, a vrlo slična koncentracija je utvrđena i kod sorte Divane.

Iako je većina izabranih genotipova po ukupnoj koncentraciji Fe iznad prosjeka (Grafikon 3.), nakon *in vitro* simulacije probave utvrđeno je slijedeće (Grafikon 6.). Naime, iznad prosječno visoke *in vitro* bioraspoložive koncentracije Fe su utvrđene kod sorti Ilirije sa 50% iznad, divljeg srodnika *Triticum monococcuma* sa 48% te sorte Dekan sa 36% iznad prosjeka. Sorte Soissons i Srpanjka su nakon *in vitro* simulacije probave bile u rasponu prosječne vrijednosti. Iako je sorta

U1 pokazala vrlo visoku ukupnu koncentraciju Fe (3,96 mg kg^{-1}), nakon *in vitro* simulacije probave koncentracije Fe je bila 45% niža u odnosu na prosječnu vrijednosti. Najviša *in vitro* bioraspoloživost Mn utvrđena je kod sorte Dekan te je bila 70% viša u odnosu na prosjek. Kod divljeg srodnika *Triticum monococcuma* je utvrđena 18 % viša koncentracija u odnosu na prosjek. Najniža *in vitro* bioraspoloživost Mn utvrđena je kod sorte Katarine te je ona iznosila 23 % manje u odnosu na prosječnu vrijednost.



Grafikon 6. *In vitro* bioraspoložive koncentracije Fe, Mn i Zn (prosjek ± standardna devijacija) u soku izabranih genotipova i prosječne koncentracije Fe, Mn i Zn u ispitivanim sortama (n = 98) i divljim srodnicima (n = 5)

Sorta Dekan imala je 49 % veću *in vitro* bioraspoloživu koncentraciju Zn u odnosu na prosječnu vrijednost. Vrlo visoke koncentracije Zn nakon provedene *in vitro* simulacije probave su utvrđene i kod sorti Ilirije, Srpanjke i U1 te divljeg srodnika *Triticum monococcuma*. Gledajući *in vitro* bioraspoložive koncentracije Zn, sve ostale sorte su ispod prosjeka. No, najniža vrijednost je izmjerena kod sorte Soissons i to za 79 % niže u odnosu na prosječnu *in vitro* bioraspoloživu koncentraciju Zn.

3.3. Koncentracije K, Ca, Mg, Mn, Fe, Zn i Se u zrnu pšenice nakon biofortifikacije

Izabrane sorte posijane u poljski pokus izložene su agronomskoj biofortifikaciji koja je podrazumijevala primjenu cinkovog sulfata ($ZnSO_4$) i natrijevog selenata (Na_2SeO_4) u tri različita tretmana (kontrola, biofortifikacija 1 i biofortifikacija). Biofortifikacija 1 je označavala primjenu 1,5 kg Zn ha^{-1} i 10 g Se ha^{-1} u fazi cvatnje, dok je tretman biofortifikacija 2 označavala primjenu u dvije faze, cvatnji i mliječnoj zriobi, oba puta sa koncentracijom od 0,75 kg Zn ha^{-1} i 5 g Se ha^{-1}. Odnos između sorti pri različitoj količini apliciranih razina Zn i Se uglavnom je vrlo sličan te sorte koje su pokazale više koncentracije ispitivanih elemenata u kontrolnom tretmanu, pokazale su više koncentracije i pri tretmanima biofortifikacije.

Tablica 16. Analiza varijance za utjecaj sorte, tretmana i njihove interakcije na koncentracije ispitivanih elemenata u zrnu pšenice

Element	Izvor varijacije	Stupnjevi slobode	F vrijednost	Pr > F
Ca (mg kg^{-1})	Sorta	8	50,35	<0,0001
	Tretman	2	0	0,9958
	Sorta * Tretman	16	0,7	0,7809
Mg (mg kg^{-1})	Sorta	8	16,07	<0,0001
	Tretman	2	0,71	0,4957
	Sorta * Tretman	16	1,01	0,4625
K (mg kg^{-1})	Sorta	8	11,22	<0,0001
	Tretman	2	0,89	0,4178
	Sorta * Tretman	16	0,77	0,7119
Fe (mg kg^{-1})	Sorta	8	11	<0,0001
	Tretman	2	2,11	0,1316
	Sorta * Tretman	16	1,18	0,3154
Mn (mg kg^{-1})	Sorta	8	20,38	<0,0001
	Tretman	2	0,18	0,8376
	Sorta * Tretman	16	1,35	0,2044
Zn (mg kg^{-1})	Sorta	8	17,71	<0,0001
	Tretman	2	67,11	<0,0001
	Sorta * Tretman	16	2,7	0,0033
Se (µg kg^{-1})	Sorta	8	16,29	<0,0001
	Tretman	2	1003,7	<0,0001
	Sorta * Tretman	16	7,35	<0,0001

Provedenom višefaktorijalnom analizom varijance ispitivan je utjecaj sorte, tretmana i njihove interakcije na koncentraciju ispitivanih elemenata u zrnu pšenice.

U Tablici 16. vidljivo je da je statistički značajan utjecaj na koncentracije svih elemenata imala sorta, dok za koncentraciju Zn statistički značajan utjecao imao i tretman, odnosno biofortifikacija.

Kod Se sva tri izvora varijacije, odnosno sorta, tretman i njihova interakcija su imale značajan utjecaj na koncentraciju Se u zrnu pšenice. Za razliku od ostalih elemenata, statistički značajan utjecaj tretmana na koncentraciju Zn i Se je očekivan, s obzirom da se tijekom poljskog pokusa provodila agronomska fortifikacija pšenice folijarnom aplikacijom cinkovog sulfata i natrijevog selenata. Sorta Antonius se, između ispitivanih sorti i na sve tri razine biofortifikacije, istaknula kao sorta s najvišom koncentracijom Ca, dok se Katarina na sve tri razine istaknula kao sorta s najnižom koncentracijom Ca u zrnu. U kontrolnom tretmanu sorta Antonius je imala najvišu koncentraciju Ca dok su pri tretmanima biofortifikacija 1 i biofortifikacija 2 utvrđene nešto niže koncentracije. Sličan odnos između tretmana utvrđen je i kod sorte Katarine. Naime, u kontrolnom tretmanu utvrđena je nešto viša koncentracija Ca u odnosu na biofortifikaciju 1 i biofortifikaciju 2 (Tablica 17).

Tablica 17. Koncentracija kalcija u zrnu pšenice (mg kg^{-1})

	Ca (mg kg^{-1})			
	Kontrola	Biofortifikacija 1	Biofortifikacija 2	Prosjek
Antonius	401,3 ± 37,6	388,9 ± 19,97	389,7 ± 24,0	393,3 ± 4,01a
Dekan	336,5 ± 31,2	344,3 ± 18,04	336,3 ± 25,4	339,0 ± 2,65b
Divana	356,3 ± 4,80	365,2 ± 16,7	345,6 ± 8,1	355,7 ± 5,64b
Felix	324,0 ± 16,6	328,84 ± 7,07	331,1 ± 4,8	328,0 ± 2,08b
Ilirija	325,4 ± 9,51	326,5 ± 11,01	335,1 ± 4,9	329,0 ± 3,05b
Katarina	226,5 ± 12,18	215,2 ± 23,79	215,9 ± 17,9	219,2 ± 3,64c
Soissons	346,7 ± 28,7	371,9 ± 18,38	361,1 ± 3,8	359,9 ± 7,31ab
Srpanjka	284,1 ± 68,8	248,1 ± 12,46	258,1 ± 5,9	263,4 ± 10,73d
U1	340,0 ± 19,01	356,6 ± 20,2	368,6 ± 24,9	355,1 ± 8,27b
Prosjek ± S.E.	**326,8 ± 16,2 a**	**327,3 ± 19,4 a**	**326,8 ± 18,4 a**	

Vrijednosti u tablici predstavljaju prosjek tri ponavljanja ± standardna pogreška aritmetičke sredine; prosječne vrijednosti označene različitim slovima statistički se značajno razlikuju prema Tukey HSD ($p < 0,01$)

U kontrolnom tretmanu između ispitivanih sorti koncentracija Mg je bila relativno ujednačena. Naime, najviša koncentracija Mg utvrđena je kod sorte Divane, a 18 % niža koncentracija izmjerena je kod sorte Dekan, koja je ujedno imala najnižu koncentraciju Mg (Tablica 18.) u kontroli. Najviše koncentracije Mg u tretmanima biofortifikacija 1 i biofortifikacija 2 imala je sorta U1, dok je najniža koncentracija utvrđena kod sorte Srpanjka (Tablica 17).

Tablica 18. Koncentracija magnezija u zrnu pšenice (mg kg^{-1})

	Mg (mg kg^{-1})			
	Kontrola	Biofortifikacija 1	Biofortifikacija 2	Prosjek
Antonius	1282 ± 34,2	1289 ± 93,2	1266 ± 21,0	1279 ± 6,8ab
Dekan	1064 ± 4,29	1047 ± 13,20	1005 ± 78,9	1039 ± 17,6c
Divana	1297 ± 25,4	1304 ± 30,7	1228 ± 181	1277 ± 24,2ab
Felix	1143 ± 68,4	1089 ± 56,5	1092 ± 41,8	1109 ± 17,3c
Ilirija	1173 ± 77,3	1167 ± 80,6	1204 ± 43,8	1182 ± 11,4bc
Katarina	1099 ± 6,4	970 ± 48,2	1063 ± 27,9	1045 ± 38,3c
Soissons	1112 ± 28,0	1123 ± 44,9	1199 ± 80,2	1145 ± 27,4bc
Srpanjka	1119 ± 111,1	952 ± 78,8	960 ± 29,6	1011 ± 54,5c
U1	1269 ± 98,2	1373 ± 209	1348 ± 219	1331 ± 31,3a
Prosjek ± S.E.	**1174 ± 87,6a**	**1147 ± 149,7a**	**1152 ± 128,6a**	

Vrijednosti u tablici predstavljaju prosjek tri ponavljanja ± standardna pogreška aritmetičke sredine; prosječne vrijednosti označene različitim slovima statistički se značajno razlikuju prema Tukey HSD ($p < 0,01$)

U kontrolnom tretmanu najviša koncentracija K izmjerena je kod sorte Divana i sorte U1. Sve ispitivane sorte pokazale su vrlo visoke koncentracije K. Naime, najniža koncentracija je 16 % niža u odnosu na najvišu koncentracije K, a utvrđena je kod sorte Ilirije. U tretmanima biofortifikacija 1 i biofortifikacija 2 sorta U1 ima najviše koncentracije K. Najniže koncentracije K i u ova dva tretmana utvrđene su kod sorte Ilirije i vrlo su slične koncentraciji u kontrolnom tretmanu (Tablica 19).

Tablica 19. Koncentracija kalija u zrnu pšenice (mg kg^{-1})

Sorta	K (mg kg^{-1})			
	Kontrola	Biofortifikacija 1	Biofortifikacija 2	Prosjek
Antonius	3698 ± 82	3797 ± 174	3602 ± 23	3699 ± 56,3bcd
Dekan	3857 ± 133	3725 ± 82	3678 ± 268	3754 ± 53,4bc
Divana	4088 ± 108	4054 ± 120	3928 ± 425	4024 ± 48,7b
Felix	3659 ± 203	3520 ± 248	3447 ± 239	3543 ± 62,2 cd
Ilirija	3424 ± 163	3421 ± 208	3415 ± 18	3421 ± 52,6d
Katarina	4042 ± 72	3719 ± 119	3972 ± 200	3912 ± 98,0 bc
Soissons	3493 ± 30	3465 ± 153	3641 ± 238	3533 ± 54,6 cd
Srpanjka	3890 ± 115	3565 ± 248	3566 ± 130	3674 ± 108 bcd
U1	4082 ± 133	4340 ± 525	4292 ± 614	4238 ± 79,2a
Prosjek ± S.E.	**3804 ± 83,2a**	**3735 ± 99,8 a**	**3727 ± 94,8 a**	

Vrijednosti u tablici predstavljaju prosjek tri ponavljanja ± standardna pogreška aritmetičke sredine; prosječne vrijednosti označene različitim slovima statistički se značajno razlikuju prema Tukey HSD ($p < 0,01$)

Odnos najviših i najnižih koncentracija Fe prema tretmanima (Tablica 20.) je vrlo ujednačen. U kontrolnom tretmanu najviša koncentracija Fe iznosila je 34,4 ± 4,96 mg kg^{-1} i utvrđena je kod sorte Antonius, dok je najniža iznosila 24,71 ± 1,10 mg kg^{-1} i utvrđena je kod sorte Soissons. Srpanjka je imala zanemarivo višu koncentraciju u odnosu na Soissons u iznosu od 25,01 ± 2,40 mg kg^{-1}. U tretmanima biofortifikacija 1 i biofortifikacija 2 najviša koncentracija izmjerena je kod sorte U1, dok je najniža koncentracija izmjerena kod sorte Srpanjke.

Tablica 20. Koncentracija željeza u zrnu pšenice (mg kg^{-1})

	Fe (mg kg^{-1})			
	Kontrola	Biofortifikacija 1	Biofortifikacija 2	Prosjek
Antonius	33,4 ± 4,96	31,80 ± 3,30	32,64 ± 1,25	32,61 ± 0,80ab
Dekan	29,46 ± 5,54	31,17 ± 2,61	27,20 ± 2,57	29,25 ± 1,95abc
Divana	32,24 ± 1,28	34,01 ± 3,68	29,09 ± 1,39	31,78 ± 2,49ab
Felix	25,96 ± 0,33	28,02 ± 1,98	28,68 ± 3,38	27,55 ± 1,42b
Ilirija	31,23 ± 2,69	34,66 ± 1,32	33,18 ± 2,88	33,06 ± 1,67a
Katarina	28,02 ± 2,98	27,78 ± 4,38	27,30 ± 1,30	27,70 ± 0,37bc
Soissons	24,71 ± 1,10	26,35 ± 1,08	27,39 ± 0,41	26,15 ± 1,35c
Srpanjka	25,01 ± 2,40	25,07 ± 0,63	25,26 ± 2,23	25,09 ± 0,15c
U1	29,18 ± 2,95	35,05 ± 3,80	36,28 ± 5,13	33,50 ± 3,79a
Prosjek ± S.E.	28,81 ± 3,16a	30,42 ± 3,76 a	29,67 ± 3,59 a	

Vrijednosti u tablici predstavljaju prosjek tri ponavljanja ± standardna pogreška aritmetičke sredine; prosječne vrijednosti označene različitim slovima statistički se značajno razlikuju prema Tukey HSD ($p < 0,01$)

Ispitivane sorte su, neovisno o tretmanima (kontrolni tretman, biofortifikacija 1 i biofortifikacija 2) pokazale vrlo ujednačene koncentracije Mn (Tablica 21). U kontrolnom tretmanu, najviša koncentracija utvrđena je kod sorte Divane (44,13 ± 0,41 mg kg^{-1}) što je ujedno i 36% veća koncentracija utvrđena kod U1 (32,32 ± 3,86 mg kg^{-1}), sorte s najnižom koncentracijom Mn. Najvišu koncentraciju sorta Divana (46,19 ± 3,11 mg kg^{-1}) je pokazala i u tretmanu biofortifikacija 1, dok je sorta Srpanjka (28,82 ± 2,12 mg kg^{-1}) pokazala 37% nižu koncentraciju u odnosu na Divanu. Srpanjka se i u tretmanu biofortifikacija 2 istaknula kao sorta s najnižom koncentracijom od 30,57 ± 0,58 mg kg^{-1}, dok je u ovom tretmanu kod sorte Antonius utvrđena najviša koncentracija Mn od 42,17 ± 2,27 mg kg^{-1}.

Tablica 21. Koncentracija mangana u zrnu pšenice (mg kg^{-1})

	Mn (mg kg^{-1})			
	Kontrola	Biofortifikacija 1	Biofortifikacija 2	Prosjek
Antonius	42,20 ± 2,75	42,41 ± 3,16	42,17 ± 2,27	42,26 ± 0,13ab
Dekan	34,78 ± 2,19	34,89 ± 1,56	34,11 ± 2,76	34,59 ± 0,43cd
Divana	44,13 ± 0,41	46,19 ± 3,11	41,8 ± 5,80	44,04 ± 2,20 a
Felix	36,75 ± 2,04	35,64 ± 2,36	34,55 ± 2,06	35,65 ± 1,10cd
Ilirija	38,42 ± 4,08	37,58 ± 2,28	39,73 ± 1,66	38,58 ± 1,08bc
Katarina	34,23 ± 0,64	31,6 ± 1,48	31,72 ± 1,96	32,52 ± 1,48d
Soissons	33,66 ± 0,93	36,58 ± 3,54	38,16 ± 3,93	36,14 ± 2,28 cd
Srpanjka	34,89 ± 4,98	28,82 ± 2,12	30,57 ± 0,58	31,42 ± 3,12d
U1	32,32 ± 3,86	36,58 ± 2,93	34,58 ± 2,68	34,49 ± 2,13cd
Prosjek ± S.E.	**36,82 ± 4,03a**	**36,70 ± 5,20a**	**36,38 ± 4,25a**	

Vrijednosti u tablici predstavljaju prosjek tri ponavljanja ± standardna pogreška aritmetičke sredine; prosječne vrijednosti označene različitim slovima statistički se značajno razlikuju prema Tukey HSD ($p < 0,01$)

S obzirom na provođenje biofortifikacije očekivano su najniže koncentracije Zn utvrđene u kontrolnom tretmanu u odnosu na tretmane biofortifikacija 1 i biofortifikacija 2. U kontrolnom tretmanu najviša koncentracija utvrđena je kod sorte Divane (23,03 ± 1,93 mg kg^{-1}) dok je najniža utvrđena kod sorte Katarine sa koncentracijom od 17,64 ± 1,08 mg kg^{-1}. U tretmanima biofortifikacija 1 i biofortifikacija 2 najviša koncentracija Zn utvrđena je kod sorte U1 (40,18 ± 4,02 mg kg^{-1}, 38,47 ± 2,88 mg kg^{-1}), a najniža kod sorte Srpanjke (20,73 ± 20,28 mg kg^{-1}, 20,11 ± 1,40 mg kg^{-1}). U1 je ujedno i sorta kod koje je utvrđeno povećanje od 97% i 89% u odnosu na koncentraciju izmjerenu u kontrolnom tretmanu (Tablica 22.). U kontrolnom tretmanu prosječna koncentracija je iznosila 20,05 Zn mg kg^{-1}, što je u odnosu na prosječnu koncentraciju u tretmanima biofortifikacija 1 i biofortifikacija 2 za 30% i 31% niže. Tukeyevim testom je utvrđen utjecaj tretmana na koncentraciju Zn i Se u zrnu. Kako je prikazano u Tablici 22. statistički značajne razlike utvrđene su između kontrolnog tretmana i tretmana biofortifikacija 1, te kontrolnog tretmana i tretmana biofortifikacija 2, dok između tretmana biofortifikacija 1 i biofortifikacija 2 nema statistikički značajne razlike.

Tablica 22. Koncentracija cinka u zrnu pšenice (mg kg^{-1})

	Zn (mg kg^{-1})			
	Kontrola	Biofortifikacija 1	Biofortifikacija 2	Prosjek
Antonius	22,62 ± 5,34	34,07 ± 1,66	36,68 ± 3,63	31,13 ± 7,48ab
Dekan	21,02 ± 4,29	29,27 ± 3,01	29,77 ± 2,84	26,69 ± 4,91bcd
Divana	23,03 ± 1,93	35,89 ± 5,93	29,94 ± 3,59	29,62 ± 6,43ab
Felix	17,80 ± 1,44	24,62 ± 2,17	24,57 ± 4,54	22,33 ± 3,92cd
Ilirija	21,09 ± 1,03	28,54 ± 4,25	32,19 ± 1,02	27,27 ± 5,66bc
Katarina	17,64 ± 1,08	22,78 ± 2,81	23,3 ± 2,85	21,24 ± 3,13d
Soissons	18,44 ± 0,99	24,49 ± 3,59	27,49 ± 1,66	23,48 ± 4,61cd
Srpanjka	18,47 ± 6,99	20,73 ± 2,28	20,11 ± 1,40	19,77 ± 1,17d
U1	20,32 ± 0,84	40,18 ± 4,02	38,47 ± 2,88	32,99 ±11,01a
Prosjek ± S.E.	**20,04 ± 2,05b**	**28,95 ± 6,57a**	**29,17 ± 6,06a**	

Vrijednosti u tablici predstavljaju prosjek tri ponavljanja ± standardna pogreška aritmetičke sredine; prosječne vrijednosti označene različitim slovima statistički se značajno razlikuju prema Tukey HSD ($p < 0,01$)

Koncentracija Zn se u kontrolnom tretmanu između izabranih genotipova kretala u rasponu od 17,64 mg kg^{-1} (Katarina) do 22,62 mg kg^{-1} (Antonius), sa prosječnom vrijednosti od 20,05 mg kg-1. U tretmanu biofortifikacija 1 se prosječna vrijednost povećala 44%, a u tretmanu biofortifikacija 2 45%. U usporedbi sa ispitivanim sortama i provedenim tretmanima, u većini sorti je u tretmanu biofortifikacija 2 utvrđena neznatno viša ili slična koncentracija kao u tretmanu biofortifikacija 1. Međutim, kod sorte Divane je u tretmanu biofortifikacija 1 utvrđeno 55% viša koncentracija Zn u odnosu na kontrolni tretman, a u tretmanu biofortifikacija 2 29% viša koncentracija. Kod sorte U1 je također utvrđena viša koncentracija Zn u zrnu u tretmanu biofortifikacija 1, za razliku od tretmana biofortifikacija 2 no ta razlika nije značajna.

Kao i kod Zn, značajno povećanje se vidi i kod tretmana sa Se između ispitivanih sorti. U kontrolnom tretmanu najviša koncentracija Se utvrđena je kod sorte Dekan (38,57 ± 1,29 µg kg^{-1}), dok je najniža utvrđena kod sorte Felix (13,52 ± 3,43 µg kg^{-1}). U tretmanu biofortifikacija 1 najviša koncentracija utvrđena je kod sorte Divana (216,1 ± 8,5 µg kg^{-1}), što je 62% više u odnosu

na Srpanjku, sortu sa najnižom koncentracijom (133,4 ± 7,93 μg kg^{-1}). U tretmanu biofortifikacija 2, najviša koncentracija utvrđena je kod sorte Antonius (181,1 ± 14,9 μg kg^{-1}), dok je kod sorte Katarina izmjerena najniža koncentracija Se (Tablica 23).

Tablica 23. Koncentracija selena u zrnu pšenice (μg kg^{-1})

	Se (μg kg^{-1})			
	Kontrola	Biofortifikacija 1	Biofortifikacija 2	Prosjek
Antonius	27,02 ± 2,99	153,6 ± 14,9	181,1 ± 14,9	120,60 ± 47,46ab
Dekan	38,57 ± 1,29	199,3 ± 28,2	123,0 ± 12,9	120,29 ± 46,42a
Divana	32,05 ± 1,29	216,1 ± 8,5	145,9 ± 19	131,35 ± 53,63 a
Felix	13,52 ± 3,43	142,8 ± 11,9	103,3 ± 12,1	86,56 ± 38,26c
Ilirija	26,86 ± 0,77	156,1 ± 5,66	148,4 ± 20,2	110,44 ± 41,85b
Katarina	20,55 ± 4,03	150,6 ± 8,93	94,10 ± 9,1	88,41 ± 37,64c
Soissons	13,86 ± 1,47	168,1 ± 26,0	129,9 ± 14,2	103,95 ± 46,37bc
Srpanjka	14,50 ± 1,76	133,4 ± 7,93	114,2 ± 4,4	87,35 ± 36,84c
U1	18,58 ± 4,95	173,7 ± 9,93	111,1 ± 11,4	101,14 ± 45,07bc
Prosjek ± S.E.	**22,83 ± 2,95c**	**165,96 ± 8,95a**	**129,89 ± 8,99b**	

Vrijednosti u tablici predstavljaju prosjek tri ponavljanja ± standardna pogreška aritmetičke sredine; prosječne vrijednosti označene različitim slovima statistički se značajno razlikuju prema Tukey HSD ($p < 0,01$).

Folijarna aplikacija Se se u tretmanima biofortifikacija 1 i biofortifikacija 2 pokazala izrazito učinkovitom. Koncentracija Se se u odnosu na kontrolni tretman sa povećala na 165,87 μg kg^{-1} (biofortifikacija 1) što je 7 puta više, dok se u tretmanu biofortifikacija 2 povećala 5 puta u odnosu na kontrolu. Na temelju Tukeyevog HSD testa, utvrđeno je da između sva tri tretmana (kontrolni tretman, biofortifikacija 1 i biofortifikacija 2) postoji statistički značajna razlika (Tablica 23.).

Koncentracija Se u zrnu ispitivanih sorti se značajno povećala primjenom biofortifikacijskih tretmana. Koncentracije Se u zrnu ispitivanih sorti kretala se u rasponu od 13,52 μg kg^{-1} (Felix) do 27,02 μg kg^{-1} (Antonius). Promatrajući sve sorte, utvrđeno je da samo kod sorte Antonius folijarna primjena u cvatnji i mliječnoj zriobi djelovala na veću koncentraciju Se u zrnu u odnosu na folijarnu primjenu u cvatnji. Kod svih ostalih sorti, utvrđene su veće koncentracije Se u zrnu u tretmanu biofortifikacija 1, za razliku od tretmana biofortifikacija 2.

3.4. Koncentracije K, Ca, Mg, Fe, Mn, Zn i Se u soku pšenične trave nakon biofortifikacije

Ukupne i bioraspoložive koncentracije Ca (mg L^{-1}) iz soka pšenične trave

Faktorijalnom analizom varijance (Tablica 24.). ispitan je utjecaj tretmana na ukupnu i bioraspoloživu koncentraciju Ca u soku pšenične trave. Provedenom analizom utvrđeno je da je ukupna koncentracija Ca u soku pšenične trave pod statistički značajnim utjecajem sorte, dana žetve (6., 8. i 10. dan žetve) te interakcije tretmana i sorte. S druge strane, utvrđeno je da na bioraspoložive koncentracije Ca statistički značajan utjecaj ima tretman, sorta, dan žetve (6., 8. i 10. dan žetve) te interakcija tretmana i sorte, tretmana i dana žetve te tretmana i sorte i dana žetve.

Tablica 24. Analiza varijance za ukupnu i bioraspoloživu koncentraciju Ca

	Ukupna koncentracija Ca			Bioraspoloživa koncentracija Ca		
Izvor varijacije	Stupnjevi slobode	F vrijednost	Pr > F	Stupnjevi slobode	F vrijednost	Pr > F
Tretman (T)	2	0,791	0,455	2	10,102	< 0,001
Sorta (S)	8	43,942	< 0,001	8	38,948	< 0,001
Dan žetve (D)	2	361,164	< 0,001	2	211,055	< 0,001
T x S	16	4,946	< 0,001	16	21,856	< 0,001
T x D	4	0,905	0,463	4	3,660	0,007
S x D	16	1,519	0,099	16	1,711	0,049
T x S x D	32	0,587	0,961	32	2,712	< 0,001

Neovisno o sorti i vrsti tretmana (kontrola, biofortifikacija 1 i biofortifikacija 2 najniže ukupne koncentracije Ca utvrđene su u soku napravljenog od listova pšenične trave starosti 6 dana (Tablica 25.). Ukupna koncentracija Ca u soku pšenične trave svih sorti se povećala s brojem dana uzgoja da bi u 10. danu uzgoja utvrđene najviše ukupne koncentracije Ca.

Najniža ukupna koncentracija Ca u 6. danu uzgoja u kontrolnom tretmanu je utvrđena kod sorte Divane (245,4 ± 8,00 mg kg^{-1}), a najviša je utvrđena kod sorte Ilirije (374,6 ± 21,11 mg kg^{-1}). U tretmanu biofortifikacija 1 ukupna koncentracija Ca kretala se u rasponu od 211,1 ± 7,61 mg kg^{-1} (sorta Felix) do 385,7 ± 7,51 mg kg^{-1} (Dekan). Najniže ukupne koncentracije Ca u tretmanu biofortifikacija 2 utvrđene su kod sorti U1 (264,8 ± 15,05 mg kg^{-1}) i Felix (265,2 ± 33,01 mg kg^{-1}), a najviša je utvrđena kod Soissons (385,5 ± 16,36 mg kg^{-1}).

Tablica 25. Ukupne koncentracije kalcija iz soka pšenične trave 6., 8., i 10. dan

	Sorta	Ukupna koncentracija Ca (mg L^{-1})			
		Kontrola	Biofortifikacija 1	Biofortifikacija 2	Prosjek
6. dan	Antonius	279,7 ± 8,60	305,9 ± 9,79	373,3 ± 9,97	319,6 ± 28,87
	Dekan	336,5 ± 35,19	385,7 ± 7,51	346,8 ± 55,09	356,3 ± 14,99
	Divana	245,4 ± 8,00	283,8 ± 18,04	278,2 ± 0,76	269,1 ± 11,97
	Felix	302,2 ± 7,32	211,1 ± 7,61	265,2 ± 33,01	259,5 ± 26,43
	Ilirija	374,6 ± 21,11	343,6 ± 12,50	356,9 ± 2,32	358,4 ± 8,97
	Katarina	275,2 ± 14,32	290,7 ± 24,11	269,9 ± 9,73	278,6 ± 6,24
	Soissons	365,6 ± 22,28	369,8 ± 24,84	385,5 ± 16,36	373,7 ± 6,04
	Srpanjka	316,8 ± 9,90	293,0 ± 7,95	334,3 ± 18,58	314,7 ± 11,95
	U1	314,9 ± 15,19	286,2 ± 9,93	264,8 ± 15,05	288,6 ± 14,52
	Prosjek	312,3 ± 14,12	307,8 ± 17,52	319,4 ± 16,55	**313,2 ± 16,06c**
8. dan	Antonius	372,1 ± 9,62	386,5 ± 14,49	449,8 ± 16,47	402,8 ± 28,87
	Dekan	375,3 ± 37,10	468,0 ± 17,34	401,1 ± 48,08	414,8 ± 27,63
	Divana	338,2 ± 11,20	316,4 ± 0,65	337,8 ± 8,32	330,8 ± 7,21
	Felix	407,4 ± 9,48	328,9 ± 39,83	364,2 ± 10,97	366,8 ± 22,71
	Ilirija	407,9 ± 5,05	428,9 ± 23,34	433,1 ± 14,74	423,3 ± 7,78
	Katarina	350,5 ± 15,37	377,9 ± 38,04	342,9 ± 5,32	357,0 ± 10,55
	Soissons	458,9 ± 15,35	454,6 ± 29,53	472,5 ± 36,02	462,0 ± 5,37
	Srpanjka	403,9 ± 12,54	352,2 ± 10,19	409,0 ± 39,79	388,4 ± 18,17
	U1	404,9 ± 17,10	339,4 ± 6,01	341,4 ± 18,24	361,9 ± 21,50
	Prosjek	391,0 ± 12,12	383,6 ± 18,53	394,7 ± 16,87	**389,8 ± 15,84b**
10. dan	Antonius	459,2 ± 10,06	469,1 ± 4,92	476,9 ± 8,24	468,4 ± 5,13
	Dekan	445,0 ± 22,99	479,9 ± 5,16	433,8 ± 6,78	452,9 ± 13,86
	Divana	394,3 ± 3,79	376,1 ± 7,19	404,8 ± 13,45	391,8 ± 8,37
	Felix	420,6 ± 10,35	386,8 ± 29,79	379,8 ± 31,90	395,8 ± 12,59
	Ilirija	490,1 ± 3,61	463,2 ± 14,00	493,6 ± 16,43	482,3 ± 9,60
	Katarina	435,2 ± 12,65	457,2 ± 0,28	404,3 ± 5,01	432,2 ± 15,33
	Soissons	546,9 ± 10,82	548,1 ± 9,04	539,1 ± 21,68	544,7 ± 2,80
	Srpanjka	484,1 ± 6,46	464,3 ± 15,90	475,6 ± 10,30	474,7 ± 5,74
	U1	447,8 ± 15,76	427,1 ± 13,50	403,8 ± 10,59	426,2 ± 12,73
	Prosjek	458,1 ± 14,84	452,4 ± 17,17	445,8 ± 13,8	**452,1 ± 15,27a**
Prosjek (ukupno)		**387,2 ± 13,69a**	**381,3 ± 17,74a**	**386,6 ± 15,74a**	

Vrijednosti u tablici predstavljaju prosjek tri ponavljanja ± standardna pogreška aritmetičke sredine; prosječne vrijednosti označene različitim slovima statistički se značajno razlikuju prema Tukey HSD ($p < 0,01$)

U soku pšenične trave od 8. dana prosječna ukupna koncentracija koncentracija Ca je 25% veća u odnosu na prosječnu ukupnu koncentraciju Ca u soku pšenične trave 6. dana uzgoja. U kontrolnom

tretmanu najviša ukupna koncentracija Ca utvrđena je kod sorte Soissons (458,9 ± 15,35 mg kg^{-1}) što je 35% veća koncentracija nego kod Divane (338,2 ± 11,20 mg kg^{-1}), sorte s najnižom ukupnom koncentracijom Ca. Osim u kontrolnom tretmanu, kod sorte Divane (316,4 ± 0,65 i 337,8 ± 8,32 mg kg^{-1}) su utvrđene najniže ukupne koncentracije Ca i u ostala dva tretmana (biofortifikacija 1 i biofortifikacija 2.). U tretmanu biofortifikacija 1 najviša ukupna koncentracija Ca utvrđena je kod sorte Dekan (468,0 ± 17,34 mg kg^{-1}), a u tretmanu biofortifikacija 2 najviša koncentracija je zabilježena kod sorte Soissons (472,5 ± 36,02 mg kg^{-1}).

U odnosu na sok pšenične trave 6. i 8. dana, 10. dan su utvrđene najviše ukupne koncentracije Ca neovisno o vrsti tretmana. U sva tri tretmana (kontrola, biofortifikacija 1 i biofortifikacija 2), najviša ukupna koncentracija Ca utvrđena je kod sorte Soissons 546,9 ± 10,82 mg kg^{-1}, 548,1 ± 9,04 mg kg^{-1}, 539,1 ± 21,68 mg kg^{-1}, što je 38%, 45% i 33% više u odnosu na najniže ukupne koncentracije Ca utvrđene u tretmanima kod sorte Divane (394,3 ± 3,79 mg kg^{-1}, 376,1 ± 7,19 mg kg^{-1} i 404,8 ± 13,45 mg kg^{-1}) .

Šesti dan uzgoja u kontrolnom tretmanu najviša bioraspoloživa koncentracija Ca je utvrđena kod sorte Ilirije (275,3 ± 7,44 mg kg^{-1}) što je 57% više u odnosu na najnižu bioraspoloživu koncentraciju koja je utvrđena kod sorte Divane (174,8 ± 11,40 mg kg^{-1}). U tretmanu biofortifikacija 1 bioraspoloživa koncentracija Ca kretala se u rasponu od 154,6 ± 14,35 mg kg^{-1} (Antonius) do 296,6 ± 23,70 mg kg^{-1} (Soissons) (Tablica 26).

Sorta Soissons se i u tretmanu biofortifikacija 2 iskazala kao sorta s najvišom bioraspoloživom koncentracijom Ca (290,6 ± 11,35 mg kg^{-1}), dok je najniža bioraspoloživa koncentracija utvrđena kod sorte U1 (182,7 ± 5,13 mg kg^{-1}).

Bioraspoloživa koncentracija Ca se u 8. danu uzgoja u kontrolnom tretmanu kretala u rasponu od 227,6 ± 9,60 mg kg^{-1} (Katarina) do 315,5 ± 14,68 mg kg^{-1} (Felix). U tretmanima biofortifikacija 1 biofortifikacija 2 sorta Soissons se istaknula kao sorta s najvišom bioraspoloživom koncentracijom Ca (366,2 ± 26,67 i 377,1 ± 15,96 mg kg^{-1}). U tretmanu biofortifikacija 1 najniža bioraspoloživa koncentracija Ca utvrđena je kod sorte Antonius (193,2 ± 0,01 mg kg^{-1}), a u tretmanu biofortifikacija 2 kod sorte Felix (190,0 ± 4,60 mg kg^{-1}). U 10. danu uzgoja u kontrolnom tretmanu najviša bioraspoloživa koncentracija Ca utvrđena je kod sorte Dekan (344,4 ± 9,67 mg kg^{-1}) što je 58% više u odnosu na najnižu bioraspoloživu koncentraciju Ca koja je utvrđena kod sorte Soissons (217,7 ± 4,63 mg kg^{-1}). Iako je u kontrolnom tretmanu Soissons imala najnižu bioraspoloživu

koncentraciju, u ostala dva tretmana je imala najvišu bioraspoloživu koncentraciju Ca (428,7 ± 8,67 i 429,5 ± 7,70) u odnosu na ispitivane sorte.

Tablica 26. Bioraspoložive koncentracije kalcija iz soka pšenične trave 6., 8., i 10. dan

	Sorta	Bioraspoloživa koncentracija Ca (mg L^{-1})			
		Kontrola	Biofortifikacija 1	Biofortifikacija 2	Prosjek
6. dan	Antonius	208,0 ± 10,72	154,6 ± 14,35	214,1 ± 4,33	192,2 ± 18,88
	Dekan	263,8 ± 28,05	290,8 ± 2,13	253,4 ± 39,95	269,3 ± 11,13
	Divana	185,5 ± 3,34	220,9 ± 12,46	192,4 ± 1,63	199,6 ± 10,84
	Felix	227,9 ± 13,49	170,1 ± 1,96	185,5 ± 17,01	194,5 ± 17,28
	Ilirija	275,3 ± 7,44	268,6 ± 19,56	259,2 ± 2,29	267,7 ± 4,67
	Katarina	174,8 ± 11,40	221,9 ± 22,84	224,9 ± 0,91	207,2 ± 16,21
	Soissons	255,3 ± 35,83	296,6 ± 23,70	290,6 ± 11,35	280,8 ± 12,89
	Srpanjka	212,2 ± 8,63	221,6 ± 1,48	249,0 ± 7,86	227,6 ± 11,03
	U1	232,5 ± 6,60	232,1 ± 5,05	182,7 ± 5,13	215,7 ± 16,54
Prosjek		226,1 ± 11,5	230,8 ± 16,3	228,0 ± 12,5	**228,3 ± 13,43c**
8. dan	Antonius	278,1 ± 3,85	193,2 ± 0,01	321,8 ± 15,75	264,4 ± 37,73
	Dekan	304,4 ± 25,33	336,1 ± 6,41	293,8 ± 31,85	311,5 ± 12,70
	Divana	235,0 ± 8,63	255,6 ± 2,63	216,1 ± 24,60	235,6 ± 11,40
	Felix	315,5 ± 14,68	251,2 ± 19,04	190,0 ± 4,60	252,2 ± 36,24
	Ilirija	285,3 ± 0,60	314,4 ± 17,38	322,7 ± 3,09	307,4 ± 11,35
	Katarina	227,6 ± 9,60	285,8 ± 26,31	297,9 ± 0,58	270,4 ± 21,70
	Soissons	209,6 ± 0,16	366,2 ± 26,67	377,1 ± 15,96	317,7 ± 54,10
	Srpanjka	276,5 ± 1,82	269,9 ± 7,27	331,2 ± 10,48	292,5 ± 19,43
	U1	297,8 ± 0,54	283,8 ± 1,98	230,4 ± 4,87	270,7 ± 20,53
Prosjek		270,0 ± 12,4	284,0 ± 17,0	286,8 ± 20,5	**280,3 ± 16,63b**
10. dan	Antonius	337,8 ± 7,12	258,2 ± 9,24	347,7 ± 20,55	314,5 ± 28,32
	Dekan	344,4 ± 9,67	359,7 ± 2,73	337,9 ± 7,00	347,3 ± 6,44
	Divana	297,5 ± 9,78	293,8 ± 7,22	209,7 ± 36,47	267,0 ± 28,67
	Felix	310,3 ± 4,51	284,3 ± 9,59	163,4 ± 2,04	252,7 ± 45,27
	Ilirija	327,6 ± 1,49	388,3 ± 21,97	356,5 ± 1,04	357,5 ± 17,54
	Katarina	258,2 ± 38,16	338,1 ± 7,17	348,3 ± 7,50	314,9 ± 28,47
	Soissons	217,7 ± 4,63	428,7 ± 8,67	429,5 ± 7,70	358,6 ± 70,45
	Srpanjka	299,8 ± 51,92	361,5 ± 3,79	333,9 ± 4,08	331,7 ± 17,87
	U1	292,1 ± 0,49	322,4 ± 17,82	275,4 ± 16,61	296,6 ± 13,77
Prosjek		298,4 ± 13,35	337,2 ± 17,96	311,4 ± 27,24	**315,7 ± 19,52a**
Prosjek (ukupno)		**264,8 ± 12,41b**	**284,0 ± 17,08a**	**275,3 ± 20,08ab**	

Vrijednosti u tablici predstavljaju prosjek tri ponavljanja ± standardna pogreška aritmetičke sredine; prosječne vrijednosti označene različitim slovima statistički se značajno razlikuju prema Tukey HSD ($p < 0,01$)

Shodno tome, kao i kod 8. dana uzgoja, najnižu bioraspoloživu koncentraciju Ca imala je sorta Antonius (258,2 ± 9,24 mg kg^{-1}) u tretmanu biofortifikacija 1, dok je u tretmanu biofortifikacija 2 imala sorta Felix (163,4 ± 2,04 mg kg^{-1}).

Ukupne i bioraspoložive koncentracije Mg (mg L^{-1}) iz soka pšenične

Analizom varijance (Tablica 27.). utvrđeno je da na ukupnu koncentraciju Mg statistički značajan utjecaj imaju sorta, dan žetve (6., 8. i 10. dan žetve) te interakcije tretmana i sorte te sorte i dana žetve. Statistički značajan utjecaj na bioraspoložive koncentracije Mg utvrđen je kod tretmana, sorte, dana žetve (6., 8. i 10. dan žetve) te interakcije tretmana i sorte, sorte i dana žetve te tretmana i sorte i dana žetve.

Tablica 27. Analiza varijance za ukupne i bioraspoložive koncentracije Mg (mg kg^{-1})

Izvor varijacije	Ukupna koncentracija Mg			Bioraspoloživa koncentracija Mg		
	Stupnjevi slobode	F vrijednost	Pr > F	Stupnjevi slobode	F vrijednost	Pr > F
Tretman (T)	2	3,446	0,034	2	12,59	< 0,001
Sorta (S)	8	74,723	< 0,001	8	17,397	< 0,001
Dan žetve (D)	2	1200,37	< 0,001	2	191,492	< 0,001
T x S	16	3,792	< 0,001	16	10,33	< 0,001
T x D	4	0,285	0,888	4	1,66	0,163
S x D	16	3,645	< 0,001	16	2,57	0,001
T x S x D	32	0,889	0,641	32	2,18	0,001

U Tablici 28. su prikazane ukupne, a u Tablici 29. i bioraspoložive koncentracije Mg u soku pšenične trave pri tri različite razine tretmana (kontrola, biofortifikacija 1 i biofortifikacija 2) i to za 6., 8. i 10. dan žetve. Kako je vidljivo prema dobivenim rezultatima, ukupna koncentracija Mg, kao i ukupna koncentracija Ca (Tablica 28.) je rasla s brojem dana uzgoja dok tretman biofortifikacije nije imao značajan utjecaj na njegovu koncentraciju u soku pšenične trave (Tablica 27).

Tablica 28. Ukupne koncentracije Mg u soku pšenične trave 6., 8. i 10. dan

	Sorta	Ukupna koncentracija Mg (mg L^{-1})			
		Kontrola	Biofortifikacija 1	Biofortifikacija 2	Prosjek
6. dan	Antonius	133,8 ± 0,19	135,1 ± 0,11	140,7 ± 6,29	136,5 ± 2,12
	Dekan	158,9 ± 0,90	150,8 ± 3,36	159,4 ± 8,20	156,4 ± 2,80
	Divana	128,2 ± 7,64	131,3 ± 3,58	120,5 ± 0,78	126,6 ± 3,21
	Felix	152,7 ± 6,99	152,4 ± 4,34	159,6 ± 4,63	154,9 ± 2,35
	Ilirija	158,4 ± 9,26	153,7 ± 2,93	153,4 ± 6,94	155,2 ± 1,63
	Katarina	129,6 ± 1,13	118,8 ± 3,80	119,8 ± 1,44	122,7 ± 3,44
	Soissons	157,0 ± 8,32	180,3 ± 5,07	180,9 ± 2,40	172,7 ± 7,85
	Srpanjka	161,9 ± 11,67	166,7 ± 1,25	163,1 ± 7,15	163,9 ± 1,44
	U1	133,4 ± 4,08	156,9 ± 6,59	163,6 ± 2,78	151,3 ± 9,15
	Prosjek	146,0 ± 4,76	149,5 ± 6,24	151,2 ± 6,83	**148,9 ± 5,94c**
8. dan	Antonius	211,1 ± 5,54	193,8 ± 8,12	207,5 ± 2,05	204,1 ± 5,27
	Dekan	206,3 ± 3,48	221,4 ± 4,90	210,4 ± 9,84	212,7 ± 4,50
	Divana	176,8 ± 13,44	174,3 ± 1,58	146,8 ± 2,41	165,9 ± 9,61
	Felix	208,9 ± 7,66	209,8 ± 3,69	223,9 ± 6,24	214,2 ± 4,88
	Ilirija	190,9 ± 6,07	207,3 ± 6,51	210,9 ± 9,85	203,0 ± 6,16
	Katarina	176,4 ± 7,00	163,5 ± 10,83	175,3 ± 2,46	171,7 ± 4,12
	Soissons	222,2 ± 8,71	240,9 ± 5,80	237,6 ± 1,19	233,6 ± 5,77
	Srpanjka	221,6 ± 4,82	207,9 ± 0,65	216,1 ± 6,23	215,2 ± 3,95
	U1	194,1 ± 7,25	210,3 ± 5,98	209,5 ± 6,65	204,6 ± 5,30
	Prosjek	200,9 ± 5,78	203,3 ± 7,80	204,2 ± 9,06	**202,8 ± 7,55b**
10. dan	Antonius	259,8 ± 4,60	252,9 ± 7,58	260,4 ± 6,10	257,7 ± 2,41
	Dekan	231,5 ± 2,67	248,8 ± 3,44	243,8 ± 0,62	241,4 ± 5,14
	Divana	211,2 ± 12,45	206,9 ± 11,24	193,5 ±12,48	203,8 ± 5,31
	Felix	240,9 ± 13,56	249,2 ± 2,13	241,6 ± 2,80	243,9 ± 2,65
	Ilirija	240,4 ± 6,90	243,0 ± 6,61	247,7 ± 1,77	243,7 ± 2,13
	Katarina	216,0 ± 6,47	195,9 ± 12,23	212,1 ± 4,11	208,0 ± 6,14
	Soissons	283,2 ± 9,15	303,1 ± 15,74	277,2 ±9,19	287,8 ± 7,84
	Srpanjka	248,2 ± 18,49	261,2 ± 10,61	260,7 ± 0,36	256,7 ± 4,27
	U1	229,1 ± 9,06	260,8 ± 9,94	270,0 ± 6,07	253,3 ± 12,37
	Prosjek	240,0 ± 7,38	246,9 ± 10,42	245,2 ± 9,05	**244,0 ± 8,95a**
Prosjek (ukupno)		**195,6 ± 5,97a**	**199,9 ± 8,15a**	**200,2 ± 8,31a**	

Vrijednosti u tablici predstavljaju prosjek tri ponavljanja ± standardna pogreška aritmetičke sredine; prosječne vrijednosti označene različitim slovima statistički se značajno razlikuju prema Tukey HSD ($p < 0,01$)

U soku pšenične trave napravljenom od listova starosti 6. dana kontrolnog tretmana najviša ukupna koncentracija Mg utvrđena je kod sorte Srpanjke (161,9 ± 11,67 mg kg^{-1}) što je 26 % više u odnosu na najnižu koncentraciju utvrđenu kod Divane (128,2 ± 7,64 mg kg^{-1}). U tretmanima biofortifikacija 1 i biofortifikacija 2 najniže ukupne koncentracije Mg utvrđene su kod sorte Katarine (118,8 ± 3,80 i 119,8 ± 1,44), a najviše su utvrđene kod sorte Soissons (180,3 ± 5,07 i 180,9 ± 2,40).

Kako je već navedeno da su ukupne koncentracije Mg rasle s brojem dana uzgoja, u 8. danu uzgoja prosječna ukupna koncentracija Mg bila je 36% viša u odnosu na prosječnu ukupnu koncentraciju Mg u 6. danu uzgoja. U kontrolnom tretmanu najniža ukupna koncentracija Mg utvrđena je kod sorte Katarine u iznosu od 176,4 ± 7,00 mg kg^{-1}, dok je najviša utvrđena kod sorte Soissons (222,2 ± 8,71 mg kg^{-1}). U tretmanu biofortifikacija 1, također su najniža i naviša ukupna koncentracija Mg utvrđene kod sorti Katarina (163,5 ± 10,83 mg kg^{-1}) i Soissons (240,9 ± 5,80 mg kg^{-1}). U tretmanu biofortifikacija 2 najniža ukupna koncentracija Mg utvrđena je kod Divane (146,8 ± 2,41 mg kg^{-1}), dok je najviša utvrđena kod sorte Soissons (237,6 ± 1,19 mg kg^{-1}).

U 10. danu uzgoja utvrđene su najviše ukupne koncentracije Mg. Naime, prosječna ukupna koncentracija Mg u 10. danu uzgoja je 63% viša u odnosu na prosječnu ukupnu koncentraciju u 6. danu uzgoja te 20% više u odnosu na 8. dan uzgoja. U kontrolnom tretmanu ukupna koncentracija Mg kretala se u rasponu od 211,2 ± 12,45 mg kg^{-1} (sorta Divana) do 283,2 ± 9,15 mg kg^{-1} (sorta Soissons). U tretmanu biofortifikacija 1, najniža ukupna koncentracija Mg utvrđena je kod sorte Katarine (195,9 ± 12,23 mg kg^{-1}), a najviša je utvrđena kod Soissons (303,1 ± 15,74 mg kg^{-1}). U tretmanu biofortifikacija 2, ukupna koncentracija Mg kretala se od 193,5 ± 12,48 mg kg^{-1} (sorta Divana) do 277,2 ± 9,19 mg kg^{-1} (sorta Soissons).

Tablica 29. Bioraspoložive koncentracije Mg u soku pšenične trave 6., 8. i 10. dan

	Sorta	Bioraspoloživa koncentracija Mg (mg L^{-1})			
		Kontrola	Biofortifikacija 1	Biofortifikacija 2	Prosjek
6. dan	Antonius	113,6 ± 3,24	114,9 ± 4,80	116,2 ± 1,49	114,9 ± 0,74
	Dekan	137,3 ± 3,06	133,7 ± 2,71	130,3 ± 5,53	133,8 ± 2,01
	Divana	107,0 ± 7,05	117,7 ± 0,02	98,3 ± 0,60	107,7 ± 5,62
	Felix	127,1 ± 7,29	132,1 ± 3,35	132,5 ± 2,36	130,6 ± 1,74
	Ilirija	135,7 ± 3,53	135,9 ± 2,36	119,2 ± 0,85	130,3 ± 5,55
	Katarina	93,1 ± 12,11	104,1 ± 7,29	110,9 ± 0,14	102,7 ± 5,20
	Soissons	100,1 ± 26,15	153,9 ± 3,01	150,4 ± 0,90	134,8 ± 17,36
	Srpanjka	98,2 ± 30,98	142,4 ± 1,66	139,5 ± 9,02	126,7 ± 14,27
	U1	111,4 ± 1,60	134,5 ± 8,34	124,7 ± 5,33	123,5 ± 6,71
Prosjek		113,7 ± 5,4	129,9 ± 5,1	124,7 ± 5,2	**122,8 ± 5,2c**
8. dan	Antonius	180,1 ± 1,37	153,8 ± 20,25	179,0 ± 2,84	171,0 ± 8,58
	Dekan	181,2 ± 4,03	185,7 ± 1,72	178,7 ± 6,24	181,9 ± 2,06
	Divana	147,0 ± 12,05	151,2 ± 1,78	88,7 ± 17,59	129,0 ± 20,16
	Felix	177,3 ± 6,49	182,1 ± 6,91	147,7 ± 5,24	169,0 ± 10,76
	Ilirija	157,7 ± 3,10	177,4 ± 6,46	165,9 ± 4,89	167,0 ± 5,71
	Katarina	125,1 ± 18,32	140,7 ± 9,83	159,0 ± 0,17	141,6 ± 9,80
	Soissons	137,0 ± 37,61	202,8 ± 7,05	203,8 ± 3,14	181,2 ± 22,11
	Srpanjka	160,9 ± 15,51	181,6 ± 2,85	185,2 ± 6,49	175,9 ± 7,58
	U1	154,8 ± 3,49	184,5 ± 11,25	124,4 ± 1,11	154,6 ± 17,37
Prosjek		157,9 ± 6,5	173,3 ± 6,7	159,2 ± 11,7	**163,5 ± 8,3b**
10. dan	Antonius	216,2 ± 0,14	118,5 ± 8,98	143,3 ± 6,48	159,3 ± 29,30
	Dekan	205,4 ± 0,51	216,4 ± 3,38	215,4 ± 2,48	212,4 ± 3,50
	Divana	179,7 ± 14,41	175,4 ± 8,24	116,6 ± 16,32	157,2 ± 20,34
	Felix	196,2 ± 6,07	205,8 ± 8,09	103,0 ± 6,87	168,3 ± 32,77
	Ilirija	183,9 ± 2,11	161,2 ± 18,30	198,2 ± 2,02	181,1 ± 10,79
	Katarina	144,7 ± 26,62	170,8 ± 13,13	183,9 ± 1,98	166,4 ± 11,53
	Soissons	163,5 ± 42,02	256,3 ± 9,77	244,4 ± 6,74	221,4 ± 29,15
	Srpanjka	178,6 ± 35,50	235,7 ± 3,61	208,7 ± 4,64	207,7 ± 16,50
	U1	183,8 ± 4,63	222,0 ± 18,62	164,2 ± 3,37	190,0 ± 16,97
Prosjek		183,5 ± 7,1	195,8 ± 14,28	175,3 ± 15,77	**184,9 ± 12,4a**
Prosjek (ukupno)		**151,7 ± 6,3b**	**166,3 ± 8,7a**	**153,0 ± 10,9b**	

Vrijednosti u tablici predstavljaju prosjek tri ponavljanja ± standardna pogreška aritmetičke sredine; prosječne vrijednosti označene različitim slovima statistički se značajno razlikuju prema Tukey HSD ($p < 0,01$).

Bioraspoloživa koncentracija Mg se u 6. danu uzgoja u kontrolnom tretmanu kretala od 93,1 ± 12,11 mg kg^{-1} (Katarina) do 137,3 ± 3,06 mg kg^{-1} (Dekan). U tretmanu biofortifikacija 1 najviša bioraspoloživa koncentracija Mg utvrđena je kod sorte Soissons (153,9 ± 3,01 mg kg^{-1}) što je 47% više u odnosu na najnižu bioraspoloživu koncentraciju Mg utvrđenu kod sorte Katarine (104,1 ± 7,29 mg kg^{-1}). U tretmanu biofortifikacija 2 najniža bioraspoloživa koncentracija Mg utvrđena je kod sorte Divane (98,3 ± 0,60 mg kg^{-1}), a najviša je utvrđena kod sorte Soissons (150,4 ± 0,90 mg kg^{-1}).

Sorte Dekan (181,2 ± 4,03 mg kg^{-1}) i Antonius (180,1 ± 1,37 mg kg^{-1}) su u 8. danu uzgoja pokazale najviše bioraspoložive koncentracija Mg u kontrolnom tretmanu, dok je sorta Katarina (125,1 ± 18,32 mg kg^{-1}) pokazala najnižu bioraspoloživu koncentraciju Mg.

U tretmanima biofortifikacija 1 i 2 sorta Soissons je imala najviše bioraspoložive koncentracije Mg (202,8 ± 7,05 i 203,8 ± 3,14). Najniža bioraspoloživa koncentracija Mg u tretmanu biofortifikacija 1 je izmjerena kod sorte Katarine (140,7 ± 9,83 mg kg^{-1}), a u tretmanu biofortifikacija 2 kod sorte Divane (88,7 ± 17,59 mg kg^{-1}). U 10. danu uzgoja u kontrolnom tretmanu najniža bioraspoloživa koncentracija je utvrđena kod sorte Katarine (144,7 ± 26,62 mg kg^{-1}), a najviša kod sorte Antonius (216,2 ± 0,14 mg kg^{-1}). Iako je u kontrolnom tretmanu sorta Antonius imala najvišu bioraspoloživu koncentraciju, u tretmanu biofortifikacija 1 istaknula se kao sorta s najnižom bioraspoloživom koncentracijom Mg (118,5 ± 8,98 mg kg^{-1}), dok je kod sorte Soissons utvrđena najviša bioraspoloživa koncentracija (256,3 ± 9,77 mg kg^{-1}). U tretmanu biofortifikacija 2 bioraspoloživa koncentracija Mg kretala se u rasponu od 103,0 ± 6,87 mg kg^{-1} (Felix) do 244,4 ± 6,74 mg kg^{-1} (Soissons).

Ukupne koncentracije K (mg L^{-1}) u soka pšenične trave

Faktorijalnom analizom varijance (Tablica 30.). utvrđen je statistički značajan utjecaj tretmana biofortifikacije, sorte, dana žetve i interakcije sorte i dana žetve na ukupne koncentracije K u soku pšenične trave.

Tablica 30. Analiza varijance za ukupne koncentracije K

Izvor varijacije	Ukupna koncentracija K (mg kg^{-1})		
	Stupnjevi slobode	F vrijednost	Pr > F
Tretman (T)	2	9,70	< 0,001
Sorta (S)	8	5,098	< 0,001
Dan žetve (D)	2	82,99	< 0,001
T x S	16	3,54	< 0,001
T x D	4	0,313	0,869
S x D	16	0,437	0,970
T x S x D	32	0,349	1,000

Za razliku od Ca i Mg, utvrđeno je da su ukupne koncentracije K u soku pšenične trave, neovisno o vrsti tretmana, opadale s porastom broja dana uzgoja. Naime, u sva tri tretmana, najviše ukupne koncentracije K utvrđene su 6. dan uzgoja, a najniže 10. dan uzgoja (Tablica 31.).

U 6. danu uzgoja, u kontrolnom tretmanu ukupna koncentracija K kretala se u rasponu od 2379 ± 74,76 mg kg^{-1} (sorta Antonius) do 3157 ± 171,48 mg kg^{-1} (Ilirija). U tretmanu biofortifikacija 1 najniža ukupna koncentracija K utvrđena je kod sorte Felix (2242 ± 193,27 mg kg^{-1}), a najviša je utvrđena kod sorte Katarine (3093 ± 400,82 mg kg^{-1}). U tretmanu biofortifikacija 2 ukupna koncentracija K kretala se u rasponu od 2374 ± 155,29 mg kg^{-1} (sorta U1) i 3419 ± 184,75 mg kg^{-1} (sorta Ilirija).

Prosječna ukupna koncentracija K je u 8. danu uzgoja bila 16% niža u odnosu na prosječnu ukupnu koncentraciju u 6. danu uzgoja. U kontrolnom tretmanu najniža ukupna koncentracija K iznosila je 2027 ± 71,24 mg kg^{-1} (sorta Antonisu), a najviša je 2697 ± 90,25 mg kg^{-1} (sorta Srpanjka). U tretmanu biofortifikacija 1 ukupna koncentracija K kretala se u rasponu od 1826 ± 13,24 mg kg^{-1} (sorta U1) do 2555 ± 367,07 mg kg^{-1} (sorta Katarina). U tretmanu biofortifikacija 2 najniža ukupna

koncentracija K utvrđena je kod sorte Srpanjke te je iznosila 1892 ± 41,56 mg kg^{-1}, dok je najviša utvrđena kod sorte Dekan (2653 ± 334,98 mg kg^{-1}).

Tablica 31. Ukupne koncentracije K iz soka pšenične trave 6., 8. i 10. Dan

	Sorta	Ukupna koncentracija K (mg L^{-1})			Prosjek
		Kontrola	Biofortifikacija 1	Biofortifikacija 2	
6. dan	Antonius	2379 ± 74,76	2880 ± 403,05	2729 ± 340,52	2663 ± 148,31
	Dekan	2841 ± 57,02	2798 ± 57,19	3054 ± 255,16	2898 ± 79,14
	Divana	2834 ± 258,81	2591 ± 146,01	3316 ± 115,91	2914 ± 212,85
	Felix	3095 ± 150,59	2242 ± 193,27	2637 ± 173,89	2659 ± 246,55
	Ilirija	3157 ± 171,48	2883 ± 257,47	3419 ± 184,75	3154 ± 154,80
	Katarina	2846 ± 129,48	3093 ± 400,82	2672 ± 149,19	2871 ± 122,03
	Soissons	2977 ± 104,18	2606 ± 231,59	2979 ± 513,03	2854 ± 124,22
	Srpanjka	3102 ± 278,51	2643 ± 61,70	2614 ± 109,84	2787 ± 158,24
	U1	2676 ± 70,12	2560 ± 55,73	2374 ± 155,29	2537 ± 87,94
	Prosjek	2879 ± 81,52	2700 ± 81,93	2866 ± 116,11	**2815 ± 93,19a**
8. dan	Antonius	2027 ± 71,24	2193 ± 216,15	2312 ± 245,59	2178 ± 82,87
	Dekan	2307 ± 27,61	2324 ± 100,36	2653 ± 334,98	2429 ± 112,77
	Divana	2332 ± 63,87	2138 ± 37,89	2590 ± 87,41	2354 ± 130,99
	Felix	2646 ± 229,19	2047 ± 208,45	2421 ± 205,23	2372 ± 174,48
	Ilirija	2540 ± 60,75	2424 ± 267,71	2920 ± 49,50	2628 ± 149,90
	Katarina	2519 ± 46,38	2555 ± 367,07	2203 ± 81,27	2426 ± 111,96
	Soissons	2435 ± 206,68	2222 ± 3,58	2628 ± 314,80	2429 ± 117,30
	Srpanjka	2697 ± 90,25	2081 ± 154,81	1892 ± 41,56	2224 ± 243,11
	U1	2211 ± 54,07	1826 ± 13,24	2002 ± 90,23	2014 ± 111,13
	Prosjek	2413 ± 71,77	2202 ± 72,01	2403 ± 110,91	**2339 ± 84,89b**
10. dan	Antonius	2050 ± 192,70	2112 ± 258,62	2140 ± 222,78	2101 ± 26,35
	Dekan	2171 ± 67,54	2150 ± 109,13	2265 ± 372,46	2196 ± 35,41
	Divana	2194 ± 32,66	1905 ± 21,62	2167 ± 100,20	2089 ± 92,01
	Felix	2388 ± 84,42	2022 ± 360,99	2252 ± 335,81	2221 ± 106,66
	Ilirija	2381 ± 66,54	2177 ± 167,98	2422 ± 59,90	2327 ± 75,67
	Katarina	2490 ± 107,15	2151 ± 209,83	1899 ± 39,75	2181 ± 171,19
	Soissons	2312 ± 11,06	1771 ± 69,74	2453 ± 360,29	2179 ± 207,80
	Srpanjka	2563 ± 212,47	1999 ± 222,66	1943 ± 70,11	2169 ± 198,08
	U1	2083 ± 38,10	1881 ± 66,48	1922 ± 66,70	1962 ± 61,65
	Prosjek	2293 ± 59,70	2019 ± 47,47	2163 ± 69,32	**2158 ± 58,83c**
Prosjek (ukupno)		**2528 ± 70,99a**	**2307 ± 67,14b**	**2477 ± 98,78a**	

Vrijednosti u tablici predstavljaju prosjek tri ponavljanja ± standardna pogreška aritmetičke sredine; prosječne vrijednosti označene različitim slovima statistički se značajno razlikuju prema Tukey HSD ($p < 0,01$)

U 10. danu uzgoja u kontrolnom tretmanu najniža ukupna koncentracija K iznosila je 2050 ± 192,70 mg kg^{-1} (Antonius), a najviša je iznosila 2563 ± 212,47 mg kg^{-1} (sorta Srpanjka). U tretmanu biofortifikacija 1 ukupna koncentracija K kretala se u rasponu od 1881 ± 66,48 mg kg^{-1} (sorta U1) do 2177 ± 167,98 mg kg^{-1} (sorta Ilirija). Najviša ukupna koncentracija K je u tretmanu biofortifikacija 2 utvrđena kod sorte Soissons (2453 ± 360,29 mg kg^{-1}), a najniža je utvrđena kod sorte Katarine (1899 ± 39,75 mg kg^{-1}).

Ukupne i bioraspoložive koncentracije Fe (mg L^{-1}) u soku pšenične trave

Provedenom analizom varijance utvrđeno je da na ukupnu koncentraciju Fe statistički značajan utjecaj imao tretman biofortifikacije, sorta, dan žetve (6., 8. i 10. dan žetve) te interakcije tretmana i sorte te tretmana i sorte i dana žetve. Na bioraspoložive koncentracije Fe statistički značajan utjecaj utvrđen je kod tretmana, sorte, dana žetve (6., 8. i 10. dan žetve) te interakcije tretmana i sorte te sorte i dana žetve (Tablica 32.).

Tablica 32. Analiza varijance za ukupne i bioraspoložive koncentracije Fe

Izvor varijacije	Ukupna koncentracija Fe			Bioraspoloživa koncentracija Fe		
	Stupnjevi slobode	F vrijednost	Pr > F	Stupnjevi slobode	F vrijednost	Pr > F
Tretman (T)	2	9,29	< 0,001	2	17,76	< 0,001
Sorta (S)	8	46,49	< 0,001	8	160,15	< 0,001
Dan žetve (D)	2	27,55	< 0,001	2	72,85	< 0,001
T x S	16	3,56	< 0,001	16	12,24	< 0,001
T x D	4	2,37	0,054	4	2,45	0,048
S x D	16	2,39	0,003	16	4,19	< 0,001
T x S x D	32	1,22	0,211	32	0,844	0,707

U Tablici 33. prikazane su ukupne koncentracije Fe u soku pšenične trave 6., 8. i 10. dan nakon žetve. U sva tri tretmana (kontrola, biofortifikacija 1 i biofortifikacija 2) 6. dana uzgoja, najviše ukupne koncentracije Fe utvrđene su kod sorte Ilirije.

U kontrolnom tretmanu najniža ukupna koncentracija Fe je utvrđena kod sorte Divane, a u ostala dva tretmana (biofortifikacija 1 i biofortifikacija 2) najniže ukupne koncentracije Fe utvrđene su kod sorte Antonius.

Tablica 33. Ukupne koncentracije Fe u soku pšenične trave 6., 8. i 10. dan

	Sorta	Ukupna koncentracija Fe (mg L^{-1})			Prosjek
		Kontrola	Biofortifikacija 1	Biofortifikacija 2	
6. dan	Antonius	4,30 ± 0,17	4,17 ± 0,15	4,20 ± 0,37	4,22 ± 0,04
	Dekan	4,41 ± 0,18	4,22 ± 0,09	4,37 ± 0,23	4,33 ± 0,06
	Divana	4,04 ± 0,05	4,50 ± 0,23	4,22 ± 0,10	4,26 ± 0,13
	Felix	4,45 ± 0,10	5,05 ± 0,14	4,70 ± 0,10	4,73 ± 0,18
	Ilirija	5,23 ± 0,12	5,63 ± 0,17	5,54 ± 0,04	5,47 ± 0,12
	Katarina	4,68 ± 0,15	4,94 ± 0,12	4,26 ± 0,08	4,63 ± 0,20
	Soissons	4,80 ± 0,13	4,84 ± 0,02	5,53 ± 0,16	5,06 ± 0,24
	Srpanjka	5,20 ± 0,19	4,90 ± 0,02	5,39 ± 0,45	5,16 ± 0,14
	U1	4,05 ± 0,19	5,06 ± 0,18	4,46 ± 0,20	4,52 ± 0,29
	Prosjek	4,57 ± 0,15	4,81 ± 0,15	4,74 ± 0,19	**4,71 ± 0,16a**
8. dan	Antonius	4,53 ± 0,18	4,05 ± 0,35	3,80 ± 0,44	4,12 ± 0,22
	Dekan	4,34 ± 0,00	4,69 ± 0,15	4,75 ± 0,08	4,59 ± 0,13
	Divana	3,95 ± 0,45	4,27 ± 0,12	3,40 ± 0,12	3,87 ± 0,25
	Felix	4,46 ± 0,07	4,74 ± 0,07	4,72 ± 0,04	4,64 ± 0,09
	Ilirija	5,21 ± 0,22	5,57 ± 0,10	5,04 ± 0,25	5,27 ± 0,16
	Katarina	4,39 ± 0,16	4,76 ± 0,13	4,06 ± 0,10	4,40 ± 0,20
	Soissons	5,15 ± 0,11	4,78 ± 0,21	4,78 ± 0,06	4,90 ± 0,12
	Srpanjka	5,24 ± 0,01	5,01 ± 0,11	5,12 ± 0,20	5,13 ± 0,07
	U1	3,84 ± 0,26	4,09 ± 0,05	3,37 ± 0,29	3,76 ± 0,21
	Prosjek	4,57 ± 0,18	4,66 ± 0,16	4,34 ± 0,23	**4,52 ± 0,19b**
10. dan	Antonius	4,30 ± 0,07	3,89 ± 0,12	4,08 ± 0,02	4,09 ± 0,12
	Dekan	4,31 ± 0,18	4,53 ± 0,14	4,43 ± 0,13	4,42 ± 0,06
	Divana	4,09 ± 0,12	4,01 ± 0,19	3,62 ± 0,04	3,91 ± 0,15
	Felix	3,85 ± 0,16	4,26 ± 0,24	4,53 ± 0,16	4,21 ± 0,20
	Ilirija	5,07 ± 0,16	5,14 ± 0,11	5,31 ± 0,16	5,18 ± 0,07
	Katarina	3,80 ± 0,21	4,30 ± 0,38	3,68 ± 0,28	3,93 ± 0,19
	Soissons	4,43 ± 0,19	4,78 ± 0,14	4,20 ± 0,64	4,47 ± 0,17
	Srpanjka	4,45 ± 0,33	4,92 ± 0,04	4,94 ± 0,20	4,77 ± 0,16
	U1	3,80 ± 0,09	4,35 ± 0,10	3,19 ± 0,28	3,78 ± 0,33
	Prosjek	4,23 ± 0,14	4,46 ± 0,14	4,22 ± 0,22	**4,31 ± 0,16c**
Prosjek (ukupno)		**4,46 ± 0,16a**	**4,65 ± 0,15b**	**4,43 ± 0,21b**	

Vrijednosti u tablici predstavljaju prosjek tri ponavljanja ± standardna pogreška aritmetičke sredine; prosječne vrijednosti označene različitim slovima statistički se značajno razlikuju prema Tukey HSD ($p < 0,01$)

U sva tri tretmana (kontrola, biofortifikacija 1 i biofortifikacija 2) 8. dana uzgoja, najniža ukupna koncentracija Fe je utvrđena kod sorte U1. Sorta Srpanjka se istaknula kao sorta s najvišom ukupnom koncentracijom Fe u kontrolnom tretmanu i u tretmanu biofortifikacija 2. U tretmanu biofortifikacija 1 najviša ukupna koncentracija Fe utvrđena je kod sorte Ilirije.
Prosječna ukupna koncentracija Fe 10. dana uzgoja je 8% niža u odnosu na prosječnu ukupnu koncentraciju Fe u 6. dana. U kontrolnom tretmanu 10. dana uzgoja sorte Katarina i U1 su se istaknule po najnižim ukupnim koncentracijama Fe, dok se Ilirija istaknula kao sorta s najvišom ukupnom koncentracijom Fe.

Osim u kontrolnom tretmanu, Ilirija se istaknula kao sorta s najvišim ukupnim koncentracijama Fe i u ostala dva tretmana (biofortifikacija 1 i biofortifikacija 2) s ukupnim koncentracijama od 5,14 ± 0,11 mg kg^{-1} i 5,31 ± 0,16 mg kg^{-1}. U tretmanu biofortifikacija 1 najniža ukupna koncentracija Fe utvrđena je kod sorte Antonius dok se sorta U1 istaknula kao sorta s najnižom ukupnom koncentracijom Fe u tretmanu biofortifikacija 2.

Bioraspoložive koncentracije Fe su se u 6. danu uzgoja u kontrolnom tretmanu kretale u rasponu od 1,93 ± 0,05 mg kg^{-1} (sorta U1) do 3,20 ± 0,12 mg kg^{-1} (sorta Soissons) (Tablica 34).
U tretmanu biofortifikacija 1 najviša bioraspoloživa koncentracija Fe iznosila je 3,80 ± 0,04 mg kg^{-1} i utvrđena je kod sorte Soissons, a najniža je 1,45 ± 0,03 mg kg^{-1} i utvrđena je kod sorte Antonius. U tretmanu biofortifikacija 2 bioraspoloživa koncentracije Fe kretala se u rasponu od 1,84 ± 0,33 mg kg^{-1} (Divana) do 3,34 ± 0,18 mg kg^{-1} (Soissons) (Tablica 34).
U 8. danu uzgoja u kontrolnom tretmanu bioraspoloživa koncentracija Fe kretala se u rasponu od 1,40 ± 0,11 mg kg^{-1} (U1) do 3,33 ± 0,03 mg kg^{-1} (Ilirija). U tretmanu biofortifikacija 1 najniža bioraspoloživa koncentracija Fe utvrđena je kod sorte Antonius (1,28 ± 0,06 mg kg^{-1}), a najviša je utvrđena kod sorte Ilirije (3,58 ± 0,03 mg kg^{-1}). I u tretmanu biofortifikacija 2, sorta Ilirija se istaknula kao sorta s najvišom bioraspoloživom koncentracijom Fe (3,07 ± 0,12 mg kg^{-1}), dok je u istom tretmanu najniža bioraspoloživa koncentracija Fe utvrđena kod sorte Divane (1,32 ± 0,21 mg kg^{-1}).

Tablica 34. Bioraspoložive koncentracije Fe u soku pšenične trave 6., 8. i 10. dan

	Sorta	Bioraspoloživa koncentracija Fe (mg L^{-1})			Prosjek
		Kontrola	Biofortifikacija 1	Biofortifikacija 2	
6. dan	Antonius	2,31 ± 0,08	1,45 ± 0,03	2,11 ± 0,08	1,95 ± 0,26
	Dekan	2,13 ± 0,09	1,79 ± 0,04	2,17 ± 0,10	2,03 ± 0,12
	Divana	2,04 ± 0,03	2,52 ± 0,07	1,84 ± 0,33	2,13 ± 0,20
	Felix	2,53 ± 0,05	2,87 ± 0,06	2,85 ± 0,04	2,75 ± 0,11
	Ilirija	3,14 ± 0,06	3,51 ± 0,16	3,10 ± 0,14	3,25 ± 0,13
	Katarina	2,38 ± 0,15	2,92 ± 0,14	3,13 ± 0,02	2,81 ± 0,22
	Soissons	3,20 ± 0,12	3,80 ± 0,04	3,34 ± 0,18	3,45 ±0,18
	Srpanjka	1,96 ± 0,35	2,61 ± 0,36	2,80 ± 0,07	2,46 ± 0,25
	U1	1,93 ± 0,05	2,28 ± 0,15	2,04 ± 0,01	2,09 ± 0,10
	Prosjek	2,40 ± 0,16	2,64 ± 0,25	2,60 ± 0,19	**2,55 ± 0,19a**
8. dan	Antonius	2,02 ± 0,04	1,28 ± 0,06	1,83 ± 0,19	1,71 ± 0,22
	Dekan	2,17 ± 0,07	2,04 ± 0,12	2,10 ± 0,03	2,10 ± 0,04
	Divana	1,86 ± 0,16	2,23 ± 0,08	1,32 ± 0,21	1,81 ± 0,26
	Felix	2,48 ± 0,01	2,74 ± 0,07	2,35 ± 0,01	2,53 ± 0,11
	Ilirija	3,33 ± 0,03	3,58 ± 0,03	3,07 ± 0,12	3,33 ± 0,15
	Katarina	2,04 ± 0,22	2,63 ± 0,00	2,74 ± 0,05	2,47 ± 0,22
	Soissons	3,04 ± 0,09	3,19 ± 0,09	2,59 ± 0,05	2,94 ±0,18
	Srpanjka	2,39 ± 0,07	2,56 ± 0,09	2,74 ± 0,07	2,56 ± 0,10
	U1	1,40 ± 0,11	1,74 ± 0,04	1,45 ± 0,02	1,53 ± 0,11
	Prosjek	4,23 ± 0,14	4,46 ± 0,14	4,22 ± 0,22	**2,33 ± 0,16b**
10. dan	Antonius	1,80 ± 0,06	1,39 ± 0,11	1,71 ± 0,14	1,63 ± 0,12
	Dekan	1,97 ± 0,14	2,14 ± 0,06	1,86 ± 0,06	1,99 ± 0,08
	Divana	1,75 ± 0,02	1,88 ± 0,12	1,44 ± 0,20	1,69 ± 0,13
	Felix	1,95 ± 0,04	2,45 ± 0,02	2,22 ± 0,08	2,21 ± 0,14
	Ilirija	3,04 ± 0,05	3,38 ± 0,24	2,95 ± 0,03	3,12 ± 0,13
	Katarina	1,67 ± 0,16	2,40 ± 0,26	2,24 ± 0,12	2,11 ± 0,22
	Soissons	2,61 ± 0,06	3,04 ± 0,13	2,53 ± 0,42	2,73 ± 0,16
	Srpanjka	1,87 ± 0,07	2,19 ± 0,09	2,43 ± 0,05	2,16 ± 0,16
	U1	1,53 ± 0,06	1,47 ± 0,07	1,33 ± 0,06	1,44 ± 0,06
	Prosjek	2,02 ± 0,16	2,26 ± 0,22	2,08 ± 0,18	**2,12 ± 0,18c**
Prosjek (ukupno)		**2,24 ± 0,15a**	**2,45 ± 0,20b**	**2,31 ± 0,19b**	

Vrijednosti u tablici predstavljaju prosjek tri ponavljanja ± standardna pogreška aritmetičke sredine; prosječne vrijednosti označene različitim slovima statistički se značajno razlikuju prema Tukey HSD ($p < 0,01$)

Osim u kontrolnom tretmanu, Ilirija se istaknula kao sorta s najvišim ukupnim koncentracijama Fe i u ostala dva tretmana (biofortifikacija 1 i biofortifikacija 2) s ukupnim koncentracijama od 5,14 ± 0,11 mg kg^{-1} i 5,31 ± 0,16 mg kg^{-1}. U tretmanu biofortifikacija 1 najniža ukupna koncentracija

Fe utvrđena je kod sorte Antonius dok se sorta U1 istaknula kao sorta s najnižom ukupnom koncentracijom Fe u tretmanu biofortifikacija 2.

Bioraspoložive koncentracije Fe su se u 6. danu uzgoja u kontrolnom tretmanu kretale u rasponu od 1,93 ± 0,05 mg kg^{-1} (sorta U1) do 3,20 ± 0,12 mg kg^{-1} (sorta Soissons) (Tablica 34).
U tretmanu biofortifikacija 1 najviša bioraspoloživa koncentracija Fe iznosila je 3,80 ± 0,04 mg kg^{-1} i utvrđena je kod sorte Soissons, a najniža je 1,45 ± 0,03 mg kg^{-1} i utvrđena je kod sorte Antonius. U tretmanu biofortifikacija 2 bioraspoloživa koncentracije Fe kretala se u rasponu od 1,84 ± 0,33 mg kg^{-1} (Divana) do 3,34 ± 0,18 mg kg^{-1} (Soissons) (Tablica 34).
U 8. danu uzgoja u kontrolnom tretmanu bioraspoloživa koncentracija Fe kretala se u rasponu od 1,40 ± 0,11 mg kg^{-1} (U1) do 3,33 ± 0,03 mg kg^{-1} (Ilirija). U tretmanu biofortifikacija 1 najniža bioraspoloživa koncentracija Fe utvrđena je kod sorte Antonius (1,28 ± 0,06 mg kg^{-1}), a najviša je utvrđena kod sorte Ilirije (3,58 ± 0,03 mg kg^{-1}). I u tretmanu biofortifikacija 2, sorta Ilirija se istaknula kao sorta s najvišom bioraspoloživom koncentracijom Fe (3,07 ± 0,12 mg kg^{-1}), dok je u istom tretmanu najniža bioraspoloživa koncentracija Fe utvrđena kod sorte Divane (1,32 ± 0,21 mg kg^{-1}).
U sva tri tretmana (kontrola, biofortifikacija 1 i biofortifikacija 2) 10. dana uzgoja sorta Ilirija se istaknula kao sorta s najvišim bioraspoloživim koncentracijama sa vrijednostima 3,04 ± 0,05, 3,38 ± 0,24 i 2,95 ± 0,03 mg kg^{-1}. U kontrolnom i tretmanu biofortifikacija 2 najniža bioraspoloživa koncentracija Fe utvrđena je kod U1 (1,53 ± 0,06 i 1,33 ± 0,06 mg kg^{-1}), dok je u tretmanu biofortifikacija 2 najniža bioraspoloživa koncentracija Fe utvrđena kod sorte Antonius (1,39 ± 0,11 mg kg^{-1}).

Ukupne i bioraspoložive koncentracije Mn (mg L^{-1}) u soku pšenične trave

Utvrđeno je da ukupne koncentracije Mn rastu sa brojem dana uzgoja, odnosno, najviše ukupne koncentracije Mn su utvrđene u soku pšenične trave pri 10. dana uzgoja (Tablica 35.).

U kontrolnom tretmanu 6. dana uzgoja najviša ukupna koncentracija Mn utvrđena je kod sorte Soissons (4,73 ± 0,11 mg kg^{-1}) što je 93% više u odnosu na najnižu ukupnu koncentraciju Mn koja je utvrđena kod sorte U1 (2,44 ± 0,25 mg kg^{-1}). U tretmanu biofortifikacija 1 ukupna koncentracija Mn kretala se u rasponu od 2,50 ± 0,01 mg kg^{-1} (Katarina) do 5,62 ± 0,13 mg kg^{-1} (Soissons).

Tablica 35. Ukupna koncentracije Mn u soku pšenične trave 6., 8. i 10. dan

	Sorta	Ukupna koncentracija Mn (mg L^{-1})			Prosjek
		Kontrola	Biofortifikacija 1	Biofortifikacija 2	
6. dan	Antonius	3,83 ± 0,19	3,57 ± 0,06	2,45 ± 0,06	3,28 ± 0,42
	Dekan	3,33 ± 0,17	2,89 ±0,01	3,73 ± 0,21	3,32 ± 0,24
	Divana	3,09 ± 0,46	3,39 ± 0,41	2,81 ± 0,14	3,10 ± 0,17
	Felix	3,13 ± 0,08	4,39 ± 0,07	3,46 ±0,05	3,66 ± 0,38
	Ilirija	3,76 ± 0,34	4,53 ± 0,12	2,98 ± 0,10	3,76 ± 0,45
	Katarina	3,93 ± 0,27	2,50 ±0,01	3,66 ± 0,05	3,36 ± 0,44
	Soissons	4,73 ± 0,11	5,62 ± 0,13	3,55 ±0,05	4,63 ± 0,60
	Srpanjka	4,36 ± 0,11	4,19 ± 0,07	4,20 ± 0,15	4,25 ± 0,05
	U1	2,44 ± 0,25	3,54 ± 0,19	2,51 ± 0,06	2,83 ± 0,35
	Prosjek	3,62 ± 0,23	3,85 ± 0,31	3,26 ± 0,20	**3,58 ± 0,24c**
8. dan	Antonius	4,76 ± 0,03	4,65 ±0,06	2,81 ± 0,09	4,07 ± 0,63
	Dekan	3,82 ± 0,25	3,43 ±0,14	3,37 ± 0,18	3,54 ± 0,14
	Divana	4,21 ± 0,72	4,37 ±0,71	3,52 ± 0,29	4,03 ± 0,26
	Felix	3,62 ±0,06	5,74 ± 0,08	3,79 ±0,13	4,38 ± 0,68
	Ilirija	3,41 ± 0,18	6,15 ± 0,01	3,76 ±0,06	4,44 ± 0,86
	Katarina	5,68 ± 0,38	3,21 ±0,02	5,51 ± 0,07	4,80 ± 0,80
	Soissons	6,91 ± 0,11	7,06 ±0,07	3,96 ± 0,21	5,98 ± 1,01
	Srpanjka	6,05 ± 0,02	4,71 ±0,07	5,03 ±0,07	5,26 ± 0,40
	U1	2,59 ± 0,01	4,21 ± 0,15	3,78 ±0,20	3,53 ± 0,48
	Prosjek	4,56 ± 0,47	4,84 ± 0,42	3,95 ± 0,28	**4,45 ± 0,39b**
10. dan	Antonius	6,01 ± 0,27	5,92 ± 0,28	4,25 ±0,96	5,39 ± 0,57
	Dekan	6,34 ± 0,34	3,92 ± 0,15	3,76 ±0,22	4,67 ± 0,83
	Divana	5,41 ± 0,94	6,19 ± 0,05	4,44 ±0,61	5,34 ± 0,51
	Felix	4,12 ± 0,05	6,68 ± 0,12	5,76 ±0,32	5,52 ± 0,75
	Ilirija	4,37 ± 0,18	7,79 ±0,14	4,70 ± 0,17	5,62 ± 1,09
	Katarina	8,27 ± 0,64	5,05 ±0,96	6,81 ±0,05	6,71 ± 0,93
	Soissons	9,62 ± 0,11	8,82 ± 0,19	4,75 ±0,23	7,73 ± 1,51
	Srpanjka	7,62 ± 0,18	6,65 ±0,12	6,28 ± 0,13	6,85 ± 0,40
	U1	3,03 ± 0,05	4,51 ± 0,75	4,93 ±0,48	4,16 ± 0,58
	Prosjek	6,09 ± 0,71	6,17 ± 0,52	5,07 ± 0,33	**5,78 ± 0,52a**
Prosjek (ukupno)		**4,76 ± 0,47a**	**4,95 ± 0,41a**	**4,09 ± 0,27b**	

Vrijednosti u tablici predstavljaju prosjek tri ponavljanja ± standardna pogreška aritmetičke sredine; prosječne vrijednosti označene različitim slovima statistički se značajno razlikuju prema Tukey HSD ($p < 0,01$)

U tretmanu biofortifikacija 2 najviša ukupna koncentracija Mn je utvrđena kod sorte Srpanjke (4,20 ± 0,15 mg kg^{-1}) te je 71% više u odnosu na ukupnu koncentraciju Mn u sorti Antonius (2,45 ± 0,06 mg kg^{-1}) koja je ujedno i najniža ukupna koncentracija Mn.

U 8. danu uzgoja prosječna ukupna koncentracija Mn je 24% viša u odnosu na prosječnu ukupnu koncentraciju Mn 6. dana uzgoja. U kontrolnom tretmanu ukupna koncentracija Mn kretala se u rasponu od 2,59 ± 0,01 mg kg^{-1} (U1) do 6,91 ± 0,11 mg kg^{-1} (Soissons). U tretmanu biofortifikacija 1 sorta Soissons se ponovno istaknula kao sorta s najvišom ukupnom koncentracijom Mn (7,06 ± 0,07 mg kg^{-1}), dok je najniža ukupna koncentracija Mn utvrđena kod sorte Katarine (3,21 ± 0,02 mg kg^{-1}). S druge strane, sorta Katarina se u tretmanu biofortifikacija 2 istaknula kao sorta s najvišom ukupnom koncentracijom Mn (5,51 ± 0,07 mg kg^{-1}), dok je najniža ukupna koncentracija Mn u ovom tretmanu utvrđena kod sorte Antonius (2,81 ± 0,09 mg kg^{-1}).

U kontrolnom tretmanu 10. dana uzgoja, najviša ukupna koncentracija Mn utvrđena je kod sorte Soissons sa vrijednosti 9,62 ± 0,11 mg kg^{-1}, što je 3 puta više u odnosu na najnižu ukupnu koncentraciju Mn (3,03 ± 0,05 mg kg^{-1}) koja je utvrđena kod sorte U1. U tretmanu biofortifikacija 1 ukupna koncentracija Mn kretala se u rasponu od 3,92 ± 0,15 mg kg^{-1} (Dekan) do 8,82 ± 0,19 mg kg^{-1} (Soissons). U tretmanu biofortifikacija 2 najviša ukupna koncentracija Mn iznosila je 6,81 ± 0,05 mg kg^{-1} (Katarina) što je 81% više u odnosu na najnižu ukupnu koncentraciju Mn utvrđenu kod sorte Dekan (3,76 ± 0,22 mg kg^{-1}).

S obzirom na dužinu uzgoja pšenične trave, utvrđeno je da porast bioraspoloživih koncentracija Mn prati porast ukupnih koncentracija Mn.

U kontrolnom tretmanu 6. dana uzgoja bioraspoloživa koncentracija Mn kretala se u rasponu od 1,56 ± 0,20 mg kg^{-1} (U1) do 2,51 ± 0,33 mg kg^{-1} (Katarina). U tretmanu biofortifikacija 1 kod sorte Soissons (3,43 ± 0,05 mg kg^{-1}) je utvrđena najviša bioraspoloživa koncentracija Mn, a kod sorte Katarine (1,51 ± 0,13 mg kg^{-1}) je utvrđena najniža bioraspoloživa koncentracija Mn. Od ispitivanih sorti u tretmanu biofortifikacija 2 sorta Srpanjka se istaknula kao sorta s najvišom bioraspoloživom koncentracijom Mn (2,88 ± 0,10 mg kg^{-1}), dok se sorta U1 (1,23 ± 0,07 mg kg^{-1}) istaknula kao sorta s najnižom.

Tablica 36. Bioraspoloživa koncentracija Mn u soku pšenične trave 6., 8. i 10. dan

	Sorta	Bioraspoloživa koncentracija Mn (mg L^{-1})			Prosjek
		Kontrola	Biofortifikacija 1	Biofortifikacija 2	
6. dan	Antonius	2,37 ± 0,02	2,06 ± 0,29	1,40 ± 0,06	1,94 ± 0,29
	Dekan	1,74 ± 0,14	1,90 ±0,01	2,43 ± 0,17	2,02 ± 0,21
	Divana	2,05 ±0,33	2,21 ±0,24	1,50 ± 0,08	1,92 ± 0,22
	Felix	2,09 ±0,12	2,92 ±0,06	2,25 ± 0,11	2,42 ± 0,26
	Ilirija	2,33 ±0,14	2,31 ±0,3	1,95 ± 0,06	2,20 ± 0,12
	Katarina	2,51 ±0,33	1,51 ± 0,13	2,67 ± 0,04	2,23 ± 0,36
	Soissons	2,14 ±0,03	3,43 ± 0,05	1,90 ± 0,15	2,49 ± 0,48
	Srpanjka	2,44 ±0,51	2,62 ± 0,18	2,88 ± 0,10	2,64 ± 0,13
	U1	1,56 ±0,20	2,28 ±0,05	1,23 ± 0,07	1,69 ± 0,31
	Prosjek	2,14 ± 0,11	2,36 ± 0,19	2,02 ± 0,19	**2,17 ± 0,16c**
8. dan	Antonius	2,77 ±0,07	2,72 ±0,26	1,45 ± 0,24	2,31 ± 0,43
	Dekan	2,15 ±0,03	2,07 ±0,12	2,31 ± 0,06	2,18 ± 0,07
	Divana	2,35 ± 0,36	2,69 ± 0,48	1,77 ± 0,06	2,27 ± 0,27
	Felix	2,43 ±0,06	3,39 ±0,12	2,62 ± 0,00	2,81 ± 0,29
	Ilirija	2,40 ±0,08	2,46 ± 0,07	2,47 ± 0,07	2,45 ± 0,02
	Katarina	3,43 ±0,39	2,00 ± 0,08	3,75 ± 0,04	3,06 ± 0,54
	Soissons	3,92 ± 0,23	4,04 ± 0,10	2,13 ± 0,41	3,36 ± 0,62
	Srpanjka	3,87 ±0,01	2,96 ± 0,17	2,12 ± 0,06	2,98 ± 0,51
	U1	1,68 ±0,06	2,60 ± 0,06	2,33 ±0,02	2,21 ± 0,27
	Prosjek	2,78 ± 0,26	2,77 ± 0,21	2,33 ± 0,21	**2,63 ± 0,23b**
10. dan	Antonius	2,94 ±0,07	2,88 ± 0,05	2,98 ±0,49	2,93 ± 0,03
	Dekan	3,38 ±0,81	2,63 ± 0,20	1,92 ±0,30	2,64 ± 0,42
	Divana	3,65 ±0,82	3,20 ± 0,12	2,13 ± 0,00	2,99 ± 0,45
	Felix	2,79 ±0,11	2,55 ± 0,19	4,18 ± 0,16	3,17 ± 0,51
	Ilirija	2,45 ±0,18	3,92 ± 0,19	2,84 ± 0,11	3,07 ± 0,44
	Katarina	4,84 ± 1,03	2,87 ± 0,59	3,81 ±0,00	3,84 ± 0,57
	Soissons	4,02 ±0,39	4,80 ±0,19	1,30 ± 0,15	3,38 ± 1,06
	Srpanjka	4,33 ±0,68	3,48 ± 0,11	2,93 ±0,16	3,58 ± 0,40
	U1	1,77 ±0,03	2,31 ± 0,39	2,45 ±0,07	2,18 ± 0,21
	Prosjek	3,35 ± 0,32	3,18 ± 0,26	2,73 ± 0,30	**3,09 ± 0,29a**
Prosjek (ukupno)		**2,76 ± 0,23a**	**2,77 ± 0,22a**	**2,36 ± 0,23b**	

Vrijednosti u tablici predstavljaju prosjek tri ponavljanja ± standardna pogreška aritmetičke sredine; prosječne vrijednosti označene različitim slovima statistički se značajno razlikuju prema Tukey HSD ($p < 0,01$)

U 8. danu uzgoja u kontrolnom tretmanu bioraspoloživa koncentracija Mn kretala se u rasponu od 1,68 ± 0,06 mg kg^{-1} (U1) do 3,92 ± 0,23 mg kg^{-1} (Soissons). U tretmanu biofortifikacija 1 najniža bioraspoloživa koncentracija Mn utvrđena je kod sorte Katarine (2,00 ± 0,08 mg kg^{-1}), dok je kod

sorte Soissons utvrđena najviša bioraspoloživa koncentracija Mn (4,04 ± 0,10 mg kg^{-1}). U tretmanu biofortifikacija 2 bioraspoloživa koncentracija Mn kretala se u rasponu od 1,45 ± 0,24 mg kg^{-1} (Antonius) do 3,75 ± 0,04 mg kg^{-1} (Katarina).

U 10. danu uzgoja u kontrolnom tretmanu najniža bioraspoloživa koncentracija Mn utvrđena je kod sorte U1 (1,77 ± 0,03 mg kg^{-1}), dok je najviša utvrđena kod sorte Katarine (4,84 ± 1,03 mg kg^{-1}). U tretmanu biofortifikacija 1 bioraspoloživa koncentracija Mn kretala se u rasponu od 2,31 ± 0,39 mg kg^{-1} koja je utvrđena kod sorte U1, do 4,80 ± 0,19 mg kg^{-1} (Soissons). U tretmanu biofortifikacija 2, najniža bioraspoloživa koncentracija Mn utvrđena je kod sorte Soissons (1,30 ± 0,15 mg kg^{-1}), dok je najviša utvrđena kod sorte Felix (4,18 ± 0,16 mg kg^{-1}).

Analizom varijance (Tablica 37.) utvrđeno je da na ukupnu koncentraciju Mn statistički značajan utjecaj pokazao tretman, sorta, dan žetve (6., 8. i 10. dan žetve) te interakcije tretmana i sorte, sorte i dana žetve te tretmana i sorte i dana žetve. Na bioraspoložive koncentracije Mn statistički značajan utjecaj utvrđen je kod tretmana, sorte, dana žetve (6., 8. i 10. dan žetve) te interakcije tretmana i sorte te sorte i dana žetve.

Tablica 37. Analiza varijance za ukupne i bioraspoložive koncentracije Mn

Izvor varijacije	Ukupna koncentracija Mn			Bioraspoloživa koncentracija Mn		
	Stupnjevi slobode	F vrijednost	Pr > F	Stupnjevi slobode	F vrijednost	Pr > F
Tretman (T)	2	58,74	< 0,001	2	20,01	< 0,001
Sorta (S)	8	63,59	< 0,001	8	18,19	< 0,001
Dan žetve (D)	2	357,22	< 0,001	2	76,28	< 0,001
T x S	16	31,69	< 0,001	16	12,74	< 0,001
T x D	4	2,98	0,054	4	2,24	0,067
S x D	16	4,21	< 0,001	16	1,69	0,054
T x S x D	32	3,72	< 0,001	32	3,69	< 0,001

Ukupne i bioraspoložive koncentracije Zn (mg L^{-1})u soku pšenične trave

Ukupne koncentracije Zn u soku pšenične trave uzgojene iz biofortificiranog zrna u različitoj duljini uzgoja (6., 8. i 10. dan) prikazane su u Tablici 38. U 6. danu uzgoja u kontrolnom tretmanu najviša ukupna koncentracija Zn utvrđena je kod sorte Ilirije i iznosila je 2,30 ± 0,09 mg kg^{-1}, što

je 30% više nego najniža ukupna koncentracija Zn utvrđena kod sorte Dekan (1,77 ± 0,01 mg kg^{-1}).

Tablica 38. Ukupne koncentracije Zn u soku pšenične trave 6., 8. i 10. dan

	Sorta	Ukupna koncentracija Zn (mg L^{-1})			Prosjek
		Kontrola	Biofortifikacija 1	Biofortifikacija 2	
6. dan	Antonius	1,78 ± 0,01	2,66 ± 0,18	2,57 ± 0,12	2,33 ± 0,28
	Dekan	1,77 ± 0,01	2,06 ± 0,03	2,49 ± 0,09	2,11 ± 0,21
	Divana	1,88 ± 0,09	1,92 ± 0,01	2,14 ± 0,00	1,98 ± 0,08
	Felix	1,99 ± 0,09	2,13 ± 0,14	2,14 ± 0,21	2,09 ± 0,05
	Ilirija	2,30 ± 0,09	2,25 ± 0,04	2,92 ± 0,05	2,49 ± 0,22
	Katarina	2,08 ± 0,19	2,86 ± 0,06	1,99 ± 0,02	2,31 ± 0,28
	Soissons	1,78 ± 0,01	2,28 ± 0,12	2,65 ± 0,11	2,24 ± 0,25
	Srpanjka	1,92 ± 0,01	2,41 ± 0,05	2,79 ± 0,04	2,37 ± 0,25
	U1	1,83 ± 0,06	2,56 ± 0,08	2,55 ± 0,20	2,31 ± 0,24
	Prosjek	1,93 ± 0,06	2,35 ± 0,10	2,47 ± 0,11	**2,25 ± 0,09a**
8. dan	Antonius	1,98 ± 0,15	2,38 ± 0,10	2,51 ± 0,10	2,29 ± 0,16
	Dekan	1,90 ± 0,03	2,37 ± 0,09	2,33 ± 0,07	2,20 ± 0,15
	Divana	1,74 ± 0,02	1,80 ±0,04	1,81 ± 0,04	1,78 ± 0,02
	Felix	1,85 ± 0,05	2,08 ± 0,13	2,22 ± 0,05	2,05 ± 0,11
	Ilirija	1,83 ± 0,01	1,92 ± 0,02	2,53 ± 0,13	2,09 ± 0,22
	Katarina	1,99 ± 0,11	2,37 ± 0,10	2,09 ± 0,04	2,15 ± 0,11
	Soissons	1,85 ± 0,01	1,94 ± 0,04	2,08 ± 0,13	1,95 ± 0,07
	Srpanjka	1,93 ± 0,05	2,16 ± 0,02	2,40 ± 0,20	2,16 ± 0,14
	U1	1,62 ± 0,02	2,27 ± 0,13	2,30 ± 0,00	2,06 ± 0,22
	Prosjek	1,86 ± 0,04	2,14 ± 0,07	2,25 ± 0,08	**2,08 ± 0,06b**
10. dan	Antonius	2,16 ± 0,17	2,48 ± 0,02	2,59 ± 0,07	2,41 ± 0,13
	Dekan	2,16 ± 0,04	2,43 ± 0,03	2,46 ± 0,14	2,35 ± 0,09
	Divana	1,70 ± 0,06	2,08 ± 0,04	2,01 ± 0,08	1,93 ± 0,12
	Felix	1,71 ± 0,04	1,82 ± 0,02	1,99 ± 0,05	1,84 ± 0,08
	Ilirija	2,05 ± 0,01	2,16 ± 0,03	2,34 ± 0,06	2,18 ± 0,08
	Katarina	1,89 ± 0,10	1,99 ±0,01	1,71 ± 0,07	1,86 ± 0,08
	Soissons	2,13 ± 0,03	2,33 ± 0,02	2,36 ± 0,18	2,27 ± 0,07
	Srpanjka	1,85 ± 0,01	2,11 ± 0,00	2,24 ± 0,10	2,07 ± 0,11
	U1	1,72 ± 0,03	2,28 ± 0,07	2,26 ± 0,05	2,09 ± 0,18
	Prosjek	1,93 ± 0,07	2,19 ± 0,07	2,22 ± 0,09	**2,11 ± 0,08b**
Prosjek (ukupno)		**1,90 ± 0,06c**	**2,22 ± 0,08b**	**2,31 ± 0,09a**	

Vrijednosti u tablici predstavljaju prosjek tri ponavljanja ± standardna pogreška aritmetičke sredine; prosječne vrijednosti označene različitim slovima statistički se značajno razlikuju prema Tukey HSD ($p < 0,01$)

U tretmanu biofortifikacija 1 ukupna koncentracija Zn kretala se od 1,92 ± 0,01 mg kg^{-1} (Divana) do 2,86 ± 0,06 mg kg^{-1} (Katarina). U tretmanu biofortifikacija 2, najviša ukupna koncentracija Zn iznosila je 2,92 ± 0,05 mg kg^{-1} (Ilirija) što je 46% više nego najniža ukupna koncentracija Zn utvrđena kod sorte Katarine (1,99 ± 0,02 mg kg^{-1}).

U kontrolnom tretmanu 8. dana uzgoja u soku pšenične trave ukupna koncentracija Zn kretala se u rasponu od 1,62 ± 0,02 mg kg^{-1} (sorta U1) do 1,99 ± 0,11 mg kg^{-1} (Katarina). U tretmanu biofortifikacija 1 najviša ukupna koncentracija Zn iznosila je 2,38 ± 0,10 mg kg^{-1} (Antonius) što je 31% više u odnosu na Divanu kod koje je utvrđena ujedno i najniža ukupna koncentracija Zn (1,80 ± 0,04 mg kg^{-1}). U tretmanu biofortifikacija 2 najniža ukupna koncentracija Zn kretala se u rasponu od 1,81 ± 0,04 mg kg^{-1} (Divana) do 2,53 ± 0,13 mg kg^{-1} (Ilirija).

U 10. danu uzgoja u kontrolnom tretmanu najviše ukupne koncentracije Zn utvrđene su kod sorte Antonis (2,16 ± 0,17 mg kg^{-1}) i sorte Dekan (2,16 ± 0,04 mg kg^{-1}), a najniža ukupna koncentracija Zn utvrđena je kod sorte Divane (1,70 ± 0,06 mg kg^{-1}). Sorta Antonius se i u ostala dva tretmana istaknula kao sorta s najvišom ukupnom koncentracijom Zn (2,48 ± 0,02, 2,59 ± 0,07 mg kg^{-1}). U tretmanu biofortifikacija 1 najniža ukupna koncentracija Zn utvrđena je kod sorte Felix (1,82 ± 0,02 mg kg^{-1}), a u tretmanu biofortifikacija 2 najniža ukupna koncentracija Zn utvđena je kod sorte Katarine (1,71 ± 0,07 mg kg^{-1}).

Značajna interakcija tretmana i dana žetve na ukupnu koncentraciju Zn prikazana je u Prilogu (Tablica 63.).

Bioraspoloživa koncentracija Zn u 6. danu uzgoja u kontrolnom tretmanu kretala se u rasponu od 0,26 ± 0,01 mg kg^{-1} (Srpanjka) do 0,72 ± 0,01 mg kg^{-1} (Ilirija). U tretmanu biofortifikacija 1 najniža bioraspoloživa koncentracija Zn utvrđena je kod sorte Antonius (0,27 ± 0,02 mg kg^{-1}), dok je najviša utvrđena kod sorte Katarine (1,01 ± 0,06 mg kg^{-1}). U tretmanu biofortifikacija 2 najniža bioraspoloživa koncentracija Zn utvrđena je kod sorte U1 (0,43 ± 0,11 mg kg^{-1}), dok je kod sorte Ilirije utvrđena najviša bioraspoloživa koncentracija Zn u iznosu od 0,77 ± 0,06 mg kg^{-1}. U 8. danu uzgoja u kontrolnom tretmanu bioraspoloživa koncentracija Zn kretala se u rasponu od 0,23 ± 0,01 mg kg^{-1} (Soissons) do 0,56 ± 0,05 mg kg^{-1} (Ilirija). U tretmanu biofortifikacija 1 najniža bioraspoloživa koncentracija Zn utvrđena je kod sorte Srpanjke (0,31 ± 0,02 mg kg^{-1}), a najviša je utvrđena kod sorte Katarine (0,66 ± 0,02 mg kg^{-1}). U tretmanu biofortifikacija 2 bioraspoloživa koncentracija Zn kretala se u rasponu od 0,35 ± 0,01 mg kg^{-1} (Dekan) do 0,68 ± 0,02 mg kg^{-1} (U1).

U 10. danu uzgoja u kontrolnom tretmanu bioraspoloživa koncentracija Zn kretala se u rasponu od 0,18 ± 0,01 mg kg^{-1} (Soissons) do 0,43 ± 0,03 (Divana).

Tablica 39. Bioraspoložive koncentracije Zn u soku pšenične trave 6., 8. i 10. dan

	Sorta	Bioraspoloživa koncentracija Zn (mg L^{-1})			Prosjek
		Kontrola	Biofortifikacija 1	Biofortifikacija 2	
6. dan	Antonius	0,39 ± 0,01	0,27 ± 0,02	0,69 ± 0,03	0,45 ± 0,12
	Dekan	0,42 ± 0,09	0,49 ± 0,01	0,48 ± 0,04	0,47 ± 0,02
	Divana	0,61 ± 0,09	0,83 ± 0,03	0,66 ± 0,01	0,70 ± 0,07
	Felix	0,62 ± 0,03	0,71 ± 0,02	0,57 ± 0,07	0,63 ± 0,04
	Ilirija	0,72 ± 0,01	0,48 ±0,03	0,77 ± 0,06	0,65 ± 0,09
	Katarina	0,42 ± 0,03	1,01 ± 0,06	0,68 ± 0,01	0,70 ± 0,17
	Soissons	0,45 ± 0,06	0,63 ± 0,04	0,62 ± 0,05	0,57 ± 0,06
	Srpanjka	0,26 ± 0,01	0,37 ± 0,01	0,47 ± 0,01	0,37 ± 0,06
	U1	0,41 ± 0,01	0,63 ± 0,02	0,43 ± 0,11	0,49 ± 0,07
	Prosjek	0,48 ± 0,05	0,60 ± 0,08	0,59 ± 0,04	**0,56 ± 0,06a**
8. dan	Antonius	0,34 ± 0,03	0,38 ± 0,01	0,55 ± 0,03	0,42 ± 0,06
	Dekan	0,48 ± 0,01	0,44 ± 0,02	0,35 ± 0,01	0,42 ± 0,04
	Divana	0,50 ± 0,00	0,54 ± 0,01	0,40 ± 0,07	0,48 ± 0,04
	Felix	0,52 ± 0,04	0,56 ± 0,00	0,52 ± 0,05	0,53 ± 0,01
	Ilirija	0,56 ± 0,05	0,46 ± 0,08	0,40 ±0,02	0,47 ± 0,05
	Katarina	0,43 ± 0,04	0,66 ± 0,02	0,60 ± 0,03	0,56 ± 0,07
	Soissons	0,23 ± 0,01	0,49 ± 0,03	0,35 ± 0,05	0,36 ± 0,08
	Srpanjka	0,34 ± 0,05	0,31 ± 0,02	0,41 ± 0,04	0,35 ± 0,03
	U1	0,31 ± 0,01	0,57 ± 0,00	0,68 ± 0,02	0,52 ± 0,11
	Prosjek	0,41 ± 0,04	0,49 ± 0,04	0,47 ± 0,04	**0,46 ± 0,04b**
10. dan	Antonius	0,26 ± 0,02	0,30 ± 0,02	0,59 ± 0,10	0,38 ± 0,11
	Dekan	0,28 ± 0,01	0,38 ± 0,01	0,42 ± 0,05	0,36 ± 0,04
	Divana	0,43 ± 0,03	0,55 ± 0,06	0,34 ± 0,07	0,44 ± 0,06
	Felix	0,25 ± 0,03	0,41 ± 0,03	0,52 ± 0,09	0,39 ± 0,08
	Ilirija	0,38 ± 0,01	0,35 ± 0,07	0,39 ± 0,02	0,38 ± 0,01
	Katarina	0,36 ± 0,02	0,43 ± 0,01	0,40 ± 0,04	0,40 ± 0,02
	Soissons	0,18 ± 0,01	0,24 ± 0,02	0,43 ± 0,01	0,28 ± 0,07
	Srpanjka	0,20 ± 0,01	0,38 ±0,01	0,36 ± 0,07	0,31 ± 0,06
	U1	0,34 ± 0,01	0,45 ± 0,00	0,27 ± 0,02	0,35 ± 0,05
	Prosjek	0,30 ± 0,03	0,39 ± 0,03	0,41 ± 0,03	**0,37 ± 0,03c**
Prosjek (ukupno)		**0,40 ± 0,04b**	**0,49 ± 0,05a**	**0,49 ± 0,04a**	

Vrijednosti u tablici predstavljaju prosjek tri ponavljanja ± standardna pogreška aritmetičke sredine; prosječne vrijednosti označene različitim slovima statistički se značajno razlikuju prema Tukey HSD ($p < 0,01$)

U tretmanu biofortifikacija 1 najviša bioraspoloživa koncentracija Zn utvrđena je kod Divane u iznosu od 0,55 ± 0,06 mg kg^{-1}, dok je najniža bioraspoloživa koncentracija Zn utvrđena kod sorte Soissons (0,24 ± 0,02 mg kg^{-1}). U tretmanu biofortifikacija 2, bioraspoloživa koncentracija Zn kretala se u rasponu od 0,27 ± 0,02 (U1) do 0,59 ± 0,10 mg kg^{-1} (Antonius).

Analizom varijance (Tablica 40.). utvrđeno je da na ukupnu koncentraciju Zn statistički značajan utjecaj pokazao tretman, sorta, dan žetve (6., 8. i 10. dan žetve) te interakcije tretmana i sorte, tretmana i dana žetve, sorte i dana žetve te tretmana i sorte i dana žetve. Na bioraspoložive koncentracije Zn statistički značajan utjecaj utvrđen je kod tretmana, sorte, dana žetve (6., 8. i 10. dan žetve) te interakcije tretmana i sorte, sorte i dana žetve te tretman i sorta i dan žetve.

Tablica 40. Analiza varijance za ukupne i bioraspoložive koncentracije Zn u soku pšenične trave

Izvori varijacije	Ukupna koncentracija Zn			Bioraspoloživa koncentracija Zn		
	Stupnjevi slobode	F vrijednost	Pr > F	Stupnjevi slobode	F vrijednost	Pr > F
Tretman (T)	2	166,26	< 0,001	2	51,19	< 0,001
Sorta (S)	8	21,91	< 0,001	8	27,04	< 0,001
Dan žetve (D)	2	27,58	< 0,001	2	146,67	< 0,001
T x S	16	10,19	< 0,001	16	13,26	< 0,001
T x D	4	5,36	< 0,001	4	1,84	0,124
S x D	16	7,28	< 0,001	16	6,29	< 0,001
T x S x D	32	2,28	< 0,001	32	5,17	< 0,001

Ukupne i bioraspoložive koncentracije Se (µg kg^{-1}) soku pšenične trave

Ukupne prosječne koncentracije Se su 6. i 8. dana uzgoja za sva tri tretmana su bile nešto više u odnosu na prosječnu ukupnu koncentraciju Se u 10. danu uzgoja.

U kontrolnom tretmanu 6. dana uzgoja najviša ukupna koncentracija Se utvrđena je kod sorte Srpanjke i iznosila je 7,76 ± 0,40 µg kg^{-1} što je 2 puta veće u odnosu na najnižu ukupnu koncentraciju Se utvrđenu kod sorte U1 (3,82 ± 0,27 µg kg^{-1}). U oba dva tretmana (biofortifikacija 1 i biofortifikacija 2) ukupne koncentracije Se su se povećale za skoro 4 i 3 puta u odnosu na kontrolni tretman. U tretmanu biofortifikacija 1 ukupna koncentracija Se se kretala od 17,91 ± 0,53 µg kg^{-1} (Antonius) do 23,64 ± 1,85 µg kg^{-1} (Ilirija). U tretmanu biofortifikacija 2 najniža ukupna

koncentracija Se utvrđena je kod sorte Katarine te je iznosila 10,12 ± 0,10 μg kg^{-1}, a najviša je utvrđena kod sorte Soissons u iznosu od 22,85 ± 2,70 μg kg^{-1}.

Tablica 41. Ukupne koncentracije Se u soku pšenične trave 6., 8. i 10. dan

	Sorta	Ukupna koncentracija Se (μg kg^{-1})			Prosjek
		Kontrola	Biofortifikacija 1	Biofortifikacija 2	
6. dan	Antonius	5,49 ± 0,24	17,91 ± 0,53	15,36 ±0,63	12,92 ± 3,79
	Dekan	5,90 ± 0,16	18,73 ± 0,27	20,41 ± 2,48	15,02 ± 4,58
	Divana	6,05 ± 0,05	23,53 ± 0,64	16,00 ± 0,77	15,20 ± 5,06
	Felix	4,08 ± 0,10	20,13 ± 1,66	17,33 ± 0,85	13,85 ± 4,95
	Ilirija	5,68 ± 0,57	23,64 ± 1,85	19,82 ± 1,19	16,38 ± 5,46
	Katarina	7,24 ± 0,05	22,31 ± 0,25	10,12 ± 0,10	13,23 ± 4,62
	Soissons	7,02 ± 0,29	23,57 ± 1,99	22,85 ± 2,70	17,81 ± 5,40
	Srpanjka	7,76 ± 0,40	22,14 ± 2,01	14,17 ± 1,58	14,69 ± 4,16
	U1	3,82 ± 0,27	21,97 ± 1,43	18,14 ± 0,24	14,64 ± 5,52
	Prosjek	5,89 ± 0,45	21,55 ± 0,71	17,13 ± 1,26	**14,86 ± 0,81a**
8. dan	Antonius	6,91 ± 0,12	20,25 ± 1,06	14,70 ± 0,12	13,95 ± 3,87
	Dekan	5,26 ± 0,15	19,50 ± 1,56	17,37 ±0,83	14,04 ± 4,43
	Divana	6,79 ± 0,22	20,65 ± 0,49	11,70 ± 0,47	13,05 ± 4,06
	Felix	4,05 ± 0,21	19,83 ± 0,95	16,72 ± 1,62	13,53 ± 4,83
	Ilirija	5,48 ± 0,26	22,09 ± 0,10	17,83 ± 0,91	15,13 ± 4,98
	Katarina	9,93 ± 0,17	19,29 ± 0,51	11,46 ± 0,49	13,56 ± 2,90
	Soissons	7,24 ± 0,29	24,43 ± 2,15	15,85 ± 0,50	15,84 ± 4,96
	Srpanjka	7,44 ± 0,46	20,82 ± 1,61	14,90 ± 0,89	14,38 ± 3,87
	U1	3,28 ± 0,01	18,03 ± 1,42	16,12 ± 0,38	12,48 ± 4,63
	Prosjek	6,26 ± 0,67	20,54 ± 0,61	15,18 ± 0,76	**14,00 ± 0,68b**
10. dan	Antonius	6,69 ± 0,09	16,45 ± 1,15	14,62 ± 0,06	12,59 ± 3,00
	Dekan	4,56 ± 0,21	17,81 ± 0,69	17,23 ± 1,02	13,20 ± 4,33
	Divana	7,41 ± 0,09	19,48 ± 1,44	12,27 ± 0,41	13,05 ± 3,51
	Felix	4,11 ± 0,17	17,23 ± 0,47	20,97 ± 2,39	14,10 ± 5,11
	Ilirija	5,95 ± 0,19	15,89 ± 0,25	15,68 ± 0,89	12,50 ± 3,28
	Katarina	7,35 ± 0,22	13,11 ± 0,28	10,74 ± 0,72	10,40 ± 1,67
	Soissons	5,58 ± 0,01	19,03 ± 0,47	15,05 ± 1,66	13,22 ± 3,99
	Srpanjka	6,47 ± 0,58	20,10 ± 0,60	13,64 ± 0,91	13,41 ± 3,94
	U1	4,10 ± 0,57	16,37 ±0,70	17,26 ± 0,40	12,58 ± 4,24
	Prosjek	5,80 ± 0,43	17,27 ± 0,72	15,27 ± 1,01	**12,78 ± 0,72c**
Prosjek (ukupno)		**5,99 ± 0,52c**	**19,79 ± 0,68a**	**15,86 ± 1,01b**	

Vrijednosti u tablici predstavljaju prosjek tri ponavljanja ± standardna pogreška aritmetičke sredine; prosječne vrijednosti označene različitim slovima statistički se značajno razlikuju prema Tukey HSD ($p < 0,01$)

U 8. danu uzgoja u kontrolnom tretmanu ukupna koncentracija Se se kretala u rasponu od 3,28 ± 0,01 μg kg^{-1} (U1) do 9,93 ± 0,17 μg kg^{-1}, što je izmjereno kod sorte Katarine. U tretmanu biofortifikacija 1 najviša ukupna koncentracija Se izmjerena je kod sorte Soissons (24,43 ± 2,15 μg kg^{-1}), dok je najniža izmjerena kod sorte U1, a iznosila je 18,03 ± 1,42 μg kg^{-1}. U tretmanu biofortifikacija 2 najviša ukupna koncentracija Se iznosila je 17,83 ± 0,91 μg kg^{-1}, što je 55% veća koncentracija u odnosu na najnižu ukupnu koncentraciju Se koja je izmjerena kod sorte Katarine (11,46 ± 0,49 μg kg^{-1}).

U soku pšenične trave uzgojene 10. dana u kontrolnom tretmanu su se ukupne koncentracije Se kretale u rasponu od 4,11 ± 0,17 μg kg^{-1} kao najniže ukupne koncentracije Se što je izmjerena kod sorte Felix do 7,41 ± 0,09 μg kg^{-1}, odnosno najviše ukupne koncentracije Se koja je izmjerena kod sorte Divane. U tretmanu biofortifikacija 1 prosječna ukupna koncentracija Se je 16% niža u odnosu na prosječnu ukupnu koncentraciju Se u istom tretmanu u 8. danu uzgoja. Naime, u istom tretmanu, ukupna koncentracija Se se kretala u rasponu od 13,11 ± 0,28 μg kg^{-1} (Katarina) do 20,10 ± 0,60 μg kg^{-1} (Srpanjka). U tretmanu biofortifikacija 2 najniža ukupna koncentracija Se izmjerena je kod sorte Katarine (10,74 ± 0,72 μg kg^{-1}), dok je najviša izmjerena kod sorte Felix (20,97 ± 2,39 μg kg^{-1}). Značajna interakcija tretmana i dana žetve na ukupnu koncentraciju Se prikazana je u Prilogu (Tablica 64.).

Za razliku od ukupnih koncentracija Se prosječne bioraspoložive koncentracije Se po tretmanima se ne razlikuju po danima uzgoja (Tablica 42). U kontrolnom tretmanu 6. dana uzgoja najviša bioraspoloživa koncentracija Se iznosila je 3,51 ± 0,23 μg kg^{-1}, a utvrđena je kod sorte Soissons, dok je najniža bioraspoloživa koncentracija utvrđena kod sorte Felix s vrijednosti od 1,18 ± 0,03 μg kg^{-1}. U tretmanu biofortifikacija 1 bioraspoloživa koncentracija Se kretala se u rasponu od 6,86 ± 0,40 (Antonius) do 17,04 ± 0,06 μg kg^{-1} (Divana). U tretmanu biofortifikacija 2 najniža bioraspoloživa koncentracija Se utvrđena je kod sorte Divane (5,22 ± 0,24 μg kg^{-1}), a najviša je utvrđena kod sorte Soissons (11,80 ± 1,14 μg kg^{-1}).

U 8. danu uzgoja u soku pšenične trave uzgojene iz zrna kontrolnog tretmana najniža bioraspoloživa koncentracija Se utvrđena je kod sorte Felix (1,23 ± 0,05 μg kg^{-1}) i sorte U1 (1,23 ± 0,02 μg kg^{-1}), a najviša bioraspoloživa koncentracija Se je utvrđena kod sorte Srpanjke (3,62 ± 0,18 μg kg^{-1}). U tretmanu biofortifikacija 1 najviša bioraspoloživa koncentracija Se utvrđena je kod sorte Ilirije (15,91 ± 0,70 μg kg^{-1}) što je 78% više u odnosu na najnižu bioraspoloživu

koncentraciju Se koja je utvrđena kod sorte U1 (8,93 ± 0,56 μg kg^{-1}). U tretmanu biofortifikacija 2 bioraspoloživa koncentracija Se kretala se u rasponu od 3,84 ± 0,06 μg kg^{-1} (Divana) do 11,58 ± 0,18 μg kg^{-1} (Dekan).

Tablica 42. Bioraspoložive koncentracije Se iz soka pšenične trave 6., 8. i 10. dan

	Sorta	Bioraspoloživa koncentracija Se			Prosjek
		Kontrola	Biofortifikacija 1	Biofortifikacija 2	
6. dan	Antonius	2,28 ± 0,06	6,86 ± 0,40	6,92 ± 0,44	5,35 ± 1,54
	Dekan	2,04 ± 0,14	11,11 ± 0,00	9,92 ± 1,05	7,69 ± 2,85
	Divana	2,39 ± 0,04	17,04 ± 0,06	5,22 ± 0,24	8,22 ± 4,49
	Felix	1,18 ± 0,03	12,44 ± 0,42	9,72 ± 0,58	7,78 ± 3,39
	Ilirija	3,23 ± 0,37	13,12 ± 1,11	10,47 ± 0,46	8,94 ± 2,96
	Katarina	2,86 ± 0,01	12,47 ± 0,13	5,39 ± 0,12	6,91 ± 2,87
	Soissons	3,51 ± 0,23	12,53 ± 0,93	11,80 ± 1,14	9,28 ± 2,89
	Srpanjka	3,61 ± 0,27	9,76 ± 0,82	7,40 ± 0,72	6,93 ± 1,79
	U1	1,41 ± 0,12	10,02 ± 1,00	6,66 ± 0,03	6,03 ± 2,51
	Prosjek	2,50 ± 0,29	11,71 ± 0,93	8,17 ± 0,79	**7,46 ± 0,67a**
8. dan	Antonius	2,96 ± 0,15	10,77 ± 0,45	11,58 ± 0,18	8,44 ± 2,75
	Dekan	1,55 ± 0,08	9,78 ± 0,69	8,94 ± 0,50	6,75 ± 2,61
	Divana	2,57 ± 0,08	13,15 ± 0,11	3,84 ± 0,06	6,52 ± 3,34
	Felix	1,23 ± 0,05	10,01 ± 0,53	9,62 ± 0,63	6,95 ± 2,86
	Ilirija	3,37 ± 0,01	15,91 ± 0,70	10,03 ± 0,59	9,77 ± 3,62
	Katarina	3,35 ±0,08	11,71 ± 0,18	6,14 ± 0,22	7,07 ± 2,46
	Soissons	3,44 ±0,14	12,89 ± 1,16	8,96 ± 0,51	8,43 ± 2,74
	Srpanjka	3,62 ± 0,18	11,36 ± 1,22	8,17 ± 0,61	7,72 ± 2,24
	U1	1,23 ± 0,02	8,93 ± 0,56	9,03 ± 0,04	6,40 ± 2,58
	Prosjek	2,59 ± 0,33	11,61 ± 0,71	8,48 ± 0,76	**7,56 ± 0,60a**
10. dan	Antonius	2,72 ± 0,09	8,31 ± 0,41	11,86 ± 0,12	7,63 ± 2,66
	Dekan	1,74 ± 0,03	8,99 ± 0,42	8,29 ± 0,35	6,34 ± 2,31
	Divana	3,04 ± 0,03	13,64 ± 1,13	3,96 ± 0,05	6,88 ± 3,39
	Felix	1,24 ± 0,07	10,11 ± 0,28	14,39 ± 1,37	8,58 ± 3,87
	Ilirija	3,35 ± 0,02	11,15 ± 0,12	9,05 ± 0,60	7,85 ± 2,33
	Katarina	3,63 ± 0,22	8,34 ± 0,28	5,88 ± 0,43	5,95 ± 1,36
	Soissons	2,86 ± 0,05	10,97 ± 0,51	8,39 ± 1,26	7,40 ± 2,39
	Srpanjka	1,95 ± 0,05	12,41 ± 0,37	7,48 ± 0,53	7,28 ± 3,02
	U1	1,69 ± 0,19	10,41 ± 0,53	9,57 ± 0,44	7,22 ± 2,78
	Prosjek	2,47 ± 0,28	10,48 ± 0,60	8,76 ± 1,02	**7,24 ± 0,63a**
Prosjek (ukupno)		**2,52 ± 0,30c**	**11,27 ± 0,75a**	**8,47 ± 0,86b**	

Vrijednosti u tablici predstavljaju prosjek tri ponavljanja ± standardna pogreška aritmetičke sredine; prosječne vrijednosti označene različitim slovima statistički se značajno razlikuju prema Tukey HSD ($p < 0,01$)

U kontrolnom tretmanu 10. dana uzgoja najniža bioraspoloživa koncentracija Se utvrđena je kod sorte Felix u iznosu od 1,24 ± 0,07 µg kg^{-1}, a najviša bioraspoloživa koncentracija je utvrđena kod sorte Katarine (3,63 ± 0,22 µg kg^{-1}).

U tretmanu biofortifikacija 1 bioraspoloživa koncentracija Se se kretala u rasponu od 8,31 ± 0,41 µg kg^{-1} kao najniže bioraspoložive koncentracije utvrđene kod sorte Antonius, do 13,64 ± 1,13 µg kg^{-1}, odnosno najviše bioraspoložive koncentracije Se utvrđene kod sorte Divane. U tretmanu biofortifikacija 2 najniža bioraspoloživa koncentracija Se utvrđena je kod sorte Divane (3,96 ± 0,05 µg kg^{-1}), a najviša je utvrđena kod sorte Felix (14,39 ± 1,37 µg kg^{-1}). Značajna interakcija tretmana i dana žetve na bioraspoloživu koncentraciju Se prikazana je u Prilogu (Tablica 65.).

Analizom varijance (Tablica 43.) utvrđeno je da na ukupnu koncentraciju Se statistički značajan utjecaj imaju tretman, sorta, dan žetve i interakcije tretmana i sorte, tretmana i dana žetve, sorte i dan žetve te tretmana i sorte i dana žetve. Na bioraspoložive koncentracije Se statistički značajan utjecaj utvrđen je kod tretmana, sorte te interakcija tretmana i sorte, tretmana i dana žetve, sorte i dana žetve te tretmana i sorte i dana žetve.

Tablica 43. Analiza varijance ukupne i bioraspoložive koncentracije Se

Izvori varijacije	Ukupna koncentracija Se			Bioraspoloživa koncentracija Se		
	Stupnjevi slobode	F vrijednost	Pr > F	Stupnjevi slobode	F vrijednost	Pr > F
Tretman (T)	2	1464,00	< 0,001	2	2000,43	< 0,001
Sorta (S)	8	8,398	< 0,001	8	20,146	< 0,001
Dan žetve (D)	2	31,468	< 0,001	2	2,723	0,069
T x S	16	14,476	< 0,001	16	40,119	< 0,001
T x D	4	14,511	< 0,001	4	7,935	< 0,001
S x D	16	2,949	< 0,001	16	9,686	< 0,001
T x S x D	32	2,243	0,001	32	5,577	< 0,001

3.5. Koncentracije K, Ca, Mg, Fe, Mn, Zn i Se u prahu pšenične trave

Ukupne i bioraspoložive koncentracije Ca (mg kg^{-1}) u prahu pšenične trave

Ukupne koncentracije Ca u kontrolnom tretmanu u prahu pšenične trave kretale su se u rasponu od 3587 ± 227,8 mg kg^{-1} (Divana) do 4779 ± 232,9 mg kg^{-1} (sorta Soissons). U tretmanu

biofortifikacija 1 najniža ukupna koncentracija Ca utvrđena je kod sorte Felix i iznosila je 3262 ± 111,6 mg kg^{-1}, a najviša je utvrđena kod sorte Soissons te je iznosila 4384 ± 269,1 mg kg^{-1}. U tretmanu biofortifikacija 2 najviša ukupna koncentracija Ca utvrđena je kod sorte Ilirije (4526 ± 81,7 mg kg^{-1}), što je 34% više u odnosu na najnižu ukupnu koncentraciju Ca utvrđenu kod sorte U1 (3376 ± 68,4 mg kg^{-1}) (Tablica 44.).

Tablica 44. Ukupne i bioraspoložive koncentracije Ca u prahu pšenične trave

Sorta	Ukupna koncentracija Ca (mg kg^{-1})			Prosjek
	Kontrola	Biofortifikacija 1	Biofortifikacija 2	
Antonius	3733 ± 210,1	3953 ± 161,9	4346 ± 473,8	4011 ± 180,5 ^{abc}
Dekan	3987 ± 277,5	4321 ± 296,8	3972 ± 326,9	4093 ± 161,0 ^{abc}
Divana	3587 ± 227,8	3561 ± 243,1	3624 ± 7,4	3591 ± 96,6 ^{c}
Felix	4268 ± 51,8	3262 ± 111,6	3682 ± 157,4	3737 ± 156,8 ^{bc}
Ilirija	4346 ± 50,8	4319 ± 277,4	4526 ± 81,7	4397 ± 90,8 ^{ab}
Katarina	4103 ± 346,9	4248 ± 354,9	3750 ± 114,9	4034 ±164,6 ^{abc}
Soissons	4779 ± 232,9	4384 ± 269,1	4392 ±203,0	4518 ± 135,0 ^{a}
Srpanjka	4213 ± 161,7	3982 ± 48,0	4329 ± 215,0	4175 ±93,9 ^{abc}
U1	4172 ± 33,3	3401 ± 116,3	3376 ± 68,4	3650 ± 136,7 ^{c}
Prosjek	**4132 ± 85,95 a**	**3937 ± 101,93 a**	**4000 ± 98,91 a**	
Sorta	Bioraspoloživa koncentracija Ca (mg kg^{-1})			Prosjek
Antonius	1706 ± 72,5	1468 ± 27,4	1043 ± 6,4	1406 ± 99,6 ^{bcd}
Dekan	1707 ± 85,6	1732 ± 175,4	1356 ± 152,7	1598 ± 93,8 ^{abc}
Divana	1592 ± 152,9	1296 ± 16,9	832 ± 30,5	1240 ± 119,5 ^{d}
Felix	2000 ± 4,8	1439 ± 136,7	1307 ±45,0	1582 ± 114,0 ^{abcd}
Ilirija	1490 ± 42,4	1914 ± 35,0	2066 ±160,2	1823 ± 99,0 ^{a}
Katarina	1741 ± 152,0	2092 ± 138,5	1487 ±121,2	1773 ± 111,5 ^{a}
Soissons	1756 ±134,2	1926 ± 92,5	1397 ± 24,0	1693 ± 91,3 ^{ab}
Srpanjka	1590 ± 190,2	1347 ±121,8	1321 ± 197,7	1419 ± 96,7 ^{bcd}
U1	1730 ± 111,3	1304 ±24,3	869 ± 33,2	1301 ± 129,0 ^{cd}
Prosjek	**1702 ± 42,29 a**	**1613 ± 63,35 a**	**1298 ± 75,13 b**	

Vrijednosti u tablici predstavljaju prosjek tri ponavljanja ± standardna pogreška aritmetičke sredine; prosječne vrijednosti označene različitim slovima statistički se značajno razlikuju prema Tukey HSD ($p < 0,01$)

Najviša bioraspoloživa koncentracija Ca u kontrolnom tretmanu utvrđena je kod sorte Felix (2000 ± 4,8 mg kg^{-1}), dok je najniža izmjerena kod sorte Ilirije (1490 ± 42,4 mg kg^{-1}). U tretmanu biofortifikacija 1 bioraspoloživa koncentracija Ca kretala se u rasponu od 1296 ± 16,9 mg kg^{-1} (Divana) do 2092 ± 138,5 mg kg^{-1} (Katarina). U tretmanu biofortifikacija 2 kod sorte Divane je

izmjerena najniža bioraspoloživa koncentracija Ca 832 ± 30,5 mg kg^{-1}, a kod sorte Ilirije je izmjerena najviša bioraspoloživa koncentracija Ca (2066 ± 160,2 mg kg^{-1}).
Ukoliko se pogledaju prosječne ukupne i bioraspoložive koncentracije Ca po ispitivanim sortama, vidljivo je da je kod sorte Soissons (4518 ± 135,0 mg kg^{-1}) utvrđena najviša prosječna ukupna koncentracija Ca, dok je kod Divane (3591 ± 96,6 mg kg^{-1}) utvrđena najniža prosječna ukupna koncentracija Ca. Kod sorte Divane (1240 ± 119,5 mg kg^{-1}) utvrđena je i najniža prosječna bioraspoloživa koncentracija Ca, a najviša prosječna bioraspoloživa koncentracija utvrđena je kod sorte Ilirije (1823 ± 99,0 mg kg^{-1}).

Prema analizi varijance utvrđeno je da na ukupnu koncentraciju Ca u prahu pšenične trave statistički značajan utjecaj ima sorta (Tablica 45.). S druge strane, na bioraspoloživu koncentraciju Ca u prahu pšenične trave statistički značaj pokazali su svi izvori variranja, odnosno tretman, sorta te interakcija tretmana i sorte.

Tablica 45. Analiza varijance ukupne i bioraspoložive koncentracije Ca u prahu pšenične trave

Izvori varijacije	Ukupna koncentracija Ca			Bioraspoloživa koncentracija Ca		
	Stupnjevi slobode	F vrijednost	Pr > F	Stupnjevi slobode	F vrijednost	Pr > F
Tretman	2	1,822	0,172	2	33,23	< 0,001
Sorta	8	6,275	< 0,001	8	10,53	< 0,001
T x S	16	1,699	0,075	16	5,07	< 0,001

Ukupne i bioraspoložive koncentracije Mg (mg kg^{-1}) u prahu pšenične trave

Najviša ukupna koncentracija Mg u kontrolnom tretmanu utvrđena je kod sorte Felix kod koje je utvrđena koncentracija 2793 ± 9,1 mg kg^{-1} što je 33% više u odnosu na sortu Divanu u kojoj je izmjerena najniža koncentracija Mg u iznosu od (2092 ± 33,9 mg kg^{-1}). U tretmanu biofortifikacija 1 ukupna koncentracija Mg kretala se u rasponu od 2212 ± 228,2 mg kg^{-1} (Katarina) do 2641 ± 150,3 mg kg^{-1} (Soissons). U tretmanu biofortifikacija 2, sorta Soissons se ponovno iskazala kao sorta s najvišom ukupnom koncentracijom Mg (2699 ± 154,8 mg kg^{-1}), dok je najniža ukupna koncentracija Mg utvrđena kod sorte Divane (2023 ± 91,4 mg kg^{-1}).
Bioraspoloživa koncentracija Mg se u kontrolnom tretmanu kretala u rasponu od 1172 ± 161,6 mg kg^{-1} (Srpanjka) do 1727 ± 95,2 mg kg^{-1} (Felix). U tretmanu biofortifikacija 1 najniža

bioraspoloživa koncentracija Mg utvrđena je kod sorte Dekan (717 ± 95,3 mg kg^{-1}), dok je najviša utvrđena kod sorte Soissons (1361 ± 18,1 mg kg^{-1}). U tretmanu biofortifikacija 2 kod sorte Divane je utvrđena najniža bioraspoloživa koncentracija Mg (663 ± 28,1 mg kg^{-1}), a kod sorte Ilirije (1454 ± 181,8 mg kg^{-1}) je utvrđena najviša bioraspoloživa koncentracija Mg.

Sorta Divana se istaknula kao sorta s najnižom ukupnom (2113 ± 42,4 mg kg^{-1}) i bioraspoloživom (877 ± 88,8 mg kg^{-1}) koncentracijom Mg u odnosu na ostale ispitivane sorte. Najviša ukupna koncentracija Mg utvrđena je kod sorte Soissons (2686 ± 72,1 mg kg^{-1}), a bioraspoloživa koncentracija Mg kod sorte Ilirije (1397 ± 75,1 mg kg^{-1}) (Tablica 46.).

Tablica 46. Ukupne i bioraspoložive koncentracije Mg u prahu pšenične trave

Sorta	Ukupna koncentracija Mg (mg kg^{-1})			Prosjek
	Kontrola	Biofortifikacija 1	Biofortifikacija 2	
Antonius	2423 ± 152,9	2486 ± 68,4	2544 ± 175,2	2484 ± 72,1 ^{ab}
Dekan	2331 ± 132,8	2468 ± 69,7	2342 ± 100,7	2380 ± 56,6 ^{abc}
Divana	2092 ± 33,9	2224 ± 41,9	2023 ± 91,4	2113 ± 42,4 ^{c}
Felix	2793 ± 9,1	2358 ± 65,7	2436 ± 43,4	2529 ± 70,7 ^{ab}
Ilirija	2409 ± 129,4	2321 ± 135,3	2450 ± 93,1	2393 ± 63,3 ^{abc}
Katarina	2398 ± 119,3	2212 ± 228,2	2249 ± 193,3	2286 ± 97,2 ^{bc}
Soissons	2718 ±119,2	2641 ± 150,3	2699 ± 154,8	2686 ± 72,1 ^{a}
Srpanjka	2436 ± 50,8	2401 ± 44,3	2627 ± 118,8	2488 ± 52,8 ^{ab}
U1	2453 ± 107,1	2481 ± 86,1	2332 ± 36,8	2422 ± 47,0 ^{abc}
Prosjek	**2450 ± 48,03 ^{a}**	**2399 ± 40,67 ^{a}**	**2411 ± 51,05 ^{a}**	
Sorta	Bioraspoloživa koncentracija Mg (mg kg^{-1})			Prosjek
Antonius	1457 ± 52,8	1194 ± 72,8	870 ± 38,1	1173 ± 89,5 ^{ab}
Dekan	1313 ± 8,4	717 ± 95,3	1119 ± 61,2	1049 ± 93,7 ^{bc}
Divana	1214 ± 15,3	754 ± 80,8	663 ± 28,1	877 ± 88,8 ^{c}
Felix	1727 ± 95,2	1214 ± 14,5	1237 ± 120,7	1392 ± 94,9 ^{a}
Ilirija	1477 ± 134,3	1259 ± 47,8	1454 ± 181,8	1397 ± 75,1 ^{a}
Katarina	1397 ± 99,7	1227 ± 66,9	939 ± 36,9	1188 ± 76,1 ^{ab}
Soissons	1635 ± 41,9	1361 ± 18,1	985 ± 67,3	1327 ± 97,1 ^{ab}
Srpanjka	1172 ± 161,6	1286 ± 118,8	910 ± 166,1	1123 ± 92,8 ^{abc}
U1	1397 ± 114,7	959 ± 170,1	792 ± 59,5	1049 ± 109,2 ^{bc}
Prosjek	**1421 ± 42,58 ^{a}**	**1108 ± 50,26 ^{b}**	**997 ± 52,45 ^{b}**	

Vrijednosti u tablici predstavljaju prosjek tri ponavljanja ± standardna pogreška aritmetičke sredine; prosječne vrijednosti označene različitim slovima statistički se značajno razlikuju prema Tukey HSD ($p < 0,01$)

Provedenom analizom varijance utvrđen je statistički značaj utjecaja tretmana, sorte te njihove interakcije na ukupne i bioraspoložive koncentracije Mg te su vrijednosti tablično prikazane

(Tablica 47.). Vidljivo je da na ukupnu koncentraciju Mg statistički značaj je pokazala samo sorta, dok tretman i interakcija tretmana i sorte nema statistički značaj. Međutim, na bioraspoloživu koncentraciju Mg statistički značajan utjecaj utvrđen je kod tretmana, sorte te njihove interakcije.

Tablica 47. Analiza varijance ukupne i bioraspoložive koncentracije Mg u prahu pšenične trave

Izvori varijacije	Ukupna koncentracija Mg			Bioraspoloživa koncentracija Mg		
	Stupnjevi slobode	F vrijednost	Pr > F	Stupnjevi slobode	F vrijednost	Pr > F
Tretman	2	0,49	0,615	2	48,73	< 0,001
Sorta	8	5,85	< 0,001	8	10,19	< 0,001
T x S	16	0,98	0,487	16	3,12	< 0,001

Ukupne koncentracije K (mg kg^{-1}) u prahu pšenične trave

Provedenom analizom varijance utvrđeno je da na ukupne koncentracije K statistički značajan utjecaj imaju tretman i sorta (Tablica 48.).

Tablica 48. Analiza varijance ukupne i bioraspoložive koncentracije K u prahu pšenične trave

Izvori varijacije	Ukupna koncentracija K		
	Stupnjevi slobode	F vrijednost	Pr > F
Tretman	2	5,42	0,007
Sorta	8	3,29	0,004
T x S	16	1,07	0,403

U kontrolnom tretmanu ukupna koncentracija K kretala se u rasponu od 16502 ± 569 mg kg^{-1} (Antonius) do 21311 ± 1393 mg kg^{-1} (Felix). U tretmanu biofortifikacija 1 najviša ukupna koncentracija K utvrđena je kod sorte Katarine, a iznosila je 20730 ± 2753 mg kg^{-1}, dok je najniža utvrđena kod sorte U1 (13995 ± 220 mg kg^{-1}). U tretmanu biofortifikacija 2 najviša ukupna koncentracija K utvrđena je kod sorte Ilirije (21757 ± 292 mg kg^{-1}), a najniža je utvrđena kod sorte U1 (15521 ± 632 mg kg^{-1}) (Tablica 49.).

Tablica 49. Ukupne koncentracije K u prahu pšenične trave

Sorta	Ukupna koncentracija K (mg kg^{-1})			Prosjek
	Kontrola	Biofortifikacija 1	Biofortifikacija 2	
Antonius	16502 ± 569	17710 ± 1729	17120 ±1403	17110 ± 686 ^{ab}
Dekan	18648 ± 426	18977 ± 1002	18768 ±1146	18798 ± 459 ^{ab}
Divana	20007 ± 1396	16547 ± 997	20287 ±491	18947 ± 792 ^{ab}
Felix	21311 ± 1393	15686 ±2993	17189 ±255	18062 ± 1273 ^{ab}
Ilirija	21295 ± 1333	18423 ±1504	21757 ±292	20492 ± 785 ^{a}
Katarina	20604 ± 933	20730 ±2753	18502 ±1268	19945 ± 984 ^{ab}
Soissons	18148 ± 660	15666 ± 1355	18070 ±926	17295 ± 653 ^{ab}
Srpanjka	20588 ± 1530	17754 ±960	17104 ±3042	18482 ± 1153 ^{ab}
U1	17808 ± 672	13995 ±220	15521 ±362	15775 ± 600 ^{b}
Prosjek	**19435 ± 434 ^{a}**	**17276 ± 607 ^{b}**	**18257 ± 502 ^{ab}**	

Vrijednosti u tablici predstavljaju prosjek tri ponavljanja ± standardna pogreška aritmetičke sredine; prosječne vrijednosti označene različitim slovima statistički se značajno razlikuju prema Tukey HSD ($p < 0,01$)

Ukupne i bioraspoložive koncentracije Fe (mg kg^{-1}) u prahu pšenične trave

Provedenom analizom varijance utvrđeno je da na ukupne koncentracije Fe u prahu pšenične trave statistički značajan utjecaj imala sorta i interakcija tretmana i sorte. Na bioraspoložive koncentracije Fe statistički značajan utjecaj imao je tretman, sorta i interakcija tretmana i sorte (Tablica 50.).

Tablica 50. Analiza varijance ukupne i bioraspoložive koncentracije Fe u prahu pšenične trave

Izvor variranja	Ukupna koncentracija Fe			Bioraspoloživa koncentracija Fe		
	Stupnjevi slobode	F vrijednost	Pr > F	Stupnjevi slobode	F vrijednost	Pr > F
Tretman	2	4,458	0,016	2	5,15	0,009
Sorta	8	19,390	< 0,001	8	138,71	< 0,001
T x S	16	3,480	< 0,001	16	4,14	< 0,001

U kontrolnom tretmanu ukupna koncentracija Fe kretala se u rasponu od 64,53 ± 2,36 mg kg^{-1} (Soissons) do 76,55 ± 0,61 mg kg^{-1} (Ilirija). U tretmanu biofortifikacija 1 u prahu tri sorte su utvrđene vrlo slične što su ujedno i najniže ukupne koncentracije Fe. Naime, sorta Dekan sa

ukupnom koncentracijom Fe od 67,32 ± 0,51 mg kg^{-1}, sorta Divana sa 67,38 ± 1,16 mg kg^{-1} i sorta Felix sa 67,66 ± 0,32 mg kg^{-1}. Najviša ukupna koncentracija utvrđena je kod sorte Ilirije (77,52 ± 0,62 mg kg^{-1}). U tretmanu biofortifikacija 2 najviša ukupna koncentracija Fe utvrđena je kod sorte Katarine (80,00 ± 01,15 mg kg^{-1}) što je 21% više u odnosu na najnižu ukupnu koncentraciju Fe utvrđenu kod sorte Dekan (66,09 ± 0,74 mg kg^{-1}).

Tablica 51. Ukupne i bioraspoložive koncentracije Fe iz praha pšenične trave

Sorta	Ukupna koncentracija Fe (mg kg^{-1})			Prosjek
	Kontrola	Biofortifikacija 1	Biofortifikacija 2	
Antonius	73,03 ± 0,32	71,68 ± 1,44	68,92 ± 2,02	71,21 ± 0,94 ^{b}
Dekan	70,46 ± 0,26	67,32 ± 0,51	66,09 ± 0,74	67,96 ± 0,71 ^{b}
Divana	68,41 ± 3,62	67,38 ± 1,16	70,77 ± 0,97	68,85 ± 1,24 ^{b}
Felix	65,00 ± 1,12	67,66 ± 0,32	70,28 ± 0,64	67,65 ± 0,85 ^{b}
Ilirija	76,55 ± 0,61	77,52 ± 0,62	78,11 ± 2,37	77,39 ± 0,76 ^{a}
Katarina	76,19 ± 1,01	72,20 ± 1,52	80,00 ± 0,15	76,13 ± 1,24 ^{a}
Soissons	64,53 ± 2,36	71,37 ± 1,32	69,96 ± 0,73	68,62 ± 1,32 ^{b}
Srpanjka	68,85 ± 0,55	74,25 ± 2,68	71,38 ± 1,74	71,49 ± 1,22 ^{b}
U1	65,91 ± 0,24	70,50 ± 0,76	71,01 ± 0,06	69,14 ± 0,84 ^{b}
Prosjek	**69,88 ± 0,95 ^{a}**	**71,10 ± 0,73 ^{a}**	**71,83 ± 0,89 ^{a}**	
Sorta	Bioraspoloživa koncentracija Fe (mg kg^{-1})			Prosjek
Antonius	19,00 ±0,22	20,03 ± 0,35	17,32 ± 0,32	18,78 ± 0,42 ^{de}
Dekan	18,51 ±0,16	18,82 ± 0,72	19,71 ± 0,60	19,01 ± 0,33 ^{de}
Divana	19,24 ±0,78	20,27 ± 0,61	23,34 ± 0,25	20,95 ± 0,68 ^{d}
Felix	29,65 ±0,37	24,80 ±0,18	28,23 ±0,36	27,56 ± 0,74 ^{bc}
Ilirija	29,73 ±0,43	32,68 ±0,10	33,18 ± 0,66	31,86 ± 0,59 ^{a}
Katarina	28,70 ±2,86	28,89 ±0,22	29,51 ±0,39	29,03 ± 0,84 ^{bc}
Soissons	30,33 ±0,29	28,83 ± 1,14	28,21 ± 0,32	29,12 ± 0,47 ^{b}
Srpanjka	25,69 ±1,60	25,85 ± 0,17	28,21 ± 1,04	26,58 ± 0,69 ^{c}
U1	18,55 ± 0,74	14,14 ±0,35	17,67 ± 0,72	16,78 ± 0,74 ^{e}
Prosjek	**24,38 ± 3,17 ^{ab}**	**23,81 ± 3,31 ^{b}**	**25,04 ± 3,21 ^{a}**	

Vrijednosti u tablici predstavljaju prosjek tri ponavljanja ± standardna pogreška aritmetičke sredine; prosječne vrijednosti označene različitim slovima statistički se značajno razlikuju prema Tukey HSD ($p < 0,01$)

Sorte Dekan (18,51 ± 0,16 mg kg^{-1}) i U1 (18,55 ± 0,74 mg kg^{-1}) su pokazale najnižu bioraspoloživu koncentraciju Fe u prahu pšenične trave u kontrolnom tretmanu. Najviša bioraspoloživa koncentracija utvrđena je kod sorte Soissons (30,33 ± 0,29 mg kg^{-1}). U tretmanu biofortifikacija 1 bioraspoloživa koncentracija Fe kretala se u rasponu od 14,14 ± 0,35 mg kg^{-1} (U1) do 32,68 ± 0,10

mg kg^{-1} (Ilirija). U tretmanu biofortifikacija 2 najviša bioraspoloživa koncentracija Fe utvrđena je kod sorte Ilirije i iznosila je 33,18 ± 0,66 mg kg^{-1}, što je 87% više u odnosu na najnižu bioraspoloživu koncentraciju utvrđenu kod sorte U1 (17,67 ± 0,72 mg kg^{-1}).

Promatrajući prosječne ukupne koncentracije Fe, sorte Felix (67,65 ± 0,85 mg kg^{-1}) i Dekan (67,96 ± 0,71 mg kg^{-1}) su imale najniže ukupne koncentracije Fe, a najviše su utvrđene kod sorti Ilirija (77,39 ± 0,76 mg kg^{-1}) i Katarina (76,13 ± 1,24 mg kg^{-1}). S obzirom na bioraspoložive koncentracije Fe, sorta U1 se istaknula kao sorta s najnižom bioraspoloživom koncentracijom Fe (16,78 ± 0,74 mg kg^{-1}), a sorta Ilirija (31,86 ± 0,59 mg kg^{-1}) kao sorta s najvišom bioraspoloživom koncentracijom Fe (Tablica 51.).

Ukupne i bioraspoložive koncentracije Mn (mg kg^{-1}) u prahu pšenične trave

Provedenom analizom varijance (Tablica 52.). utvrđeno je da je na ukupnu koncentraciju Mn statistički značajan utjecaj imao tretman, sorta i njihova interakcija. Nadalje, utvrđeno je da je i na bioraspoložive koncentracije Mn statistički značajan utjecaj imaju svi izvori varijacije, odnosno i tretman, sorta i interakcija tretmana i sorte.

Tablica 52. Analiza varijance ukupne i bioraspoložive koncentracije Mn u prahu pšenične trave

Izvori varijacije	Ukupna koncentracija Mn			Bioraspoloživa koncentracija Mn		
	Stupnjevi slobode	F vrijednost	Pr > F	Stupnjevi slobode	F vrijednost	Pr > F
Tretman	2	16,25	< 0,001	2	89,63	< 0,001
Sorta	8	38,13	< 0,001	8	47,37	< 0,001
T x S	16	14,15	< 0,001	16	5,43	< 0,001

Ukupne koncentracije Mn u prahu pšenične trave (Tablica 53.) su se u kontrolnom tretmanu kretale u rasponu od 39,73 ± 2,19 mg kg^{-1} što je izmjereno kod sorte U1 do 101,75 ± 0,09 mg kg^{-1} (Soissons). Sorta Soissons se i u tretmanu biofortifikacija 1 istaknula kao sorta s najvišom ukupnom koncentracijom Mn s vrijednosti od 80,78 ± 3,18 mg kg^{-1}, dok je najniža koncentracija Mn utvrđena kod sorte Dekan (47,93 ± 0,16 mg kg^{-1}). U tretmanu biofortifikacija 2 ukupna koncentracija Mn kretala se u rasponu od 50,77 ± 1,80 mg kg^{-1} (Antonius) do 84,13 ± 1,23 mg kg^{-1} (Katarina).

Najniže bioraspoložive koncentracije Mn u kontrolnom tretmanu su utvrđene kod sorte Dekan (10,63 ± 0,38 mg kg^{-1}) i sorte U1 (10,82 ± 0,02 mg kg^{-1}). Najviša bioraspoloživa koncentracija Mn utvrđena je kod sorte Katarine (27,94 ± 0,60 mg kg^{-1}). U tretmanu biofortifikacija 1 najniža bioraspoloživa koncentracija Mn utvrđena je kod sorte U1 (6,37 ± 0,09 mg kg^{-1}), dok je najviša bioraspoloživa koncentracija Mn utvrđena kod sorte Srpanjke (22,54 ± 1,97 mg kg^{-1}). U tretmanu biofortifikacija 2 je kod sorte Divane (7,13 ± 0,37 mg kg^{-1}) utvrđena najniža bioraspoloživa koncentracija Mn, a kod sorte Katarine (19,41 ± 2,06 mg kg^{-1}) najviša bioraspoloživa koncentracija Mn.

Tablica 53. Ukupne i bioraspoložive koncentracije Mn (mg kg^{-1}) u prahu pšenične trave

Sorta	Ukupna koncentracija Mn (mg kg^{-1})			Prosjek
	Kontrola	Biofortifikacija 1	Biofortifikacija 2	
Antonius	76,22 ± 1,24	69,78 ± 4,73	50,77 ± 1,80	65,59 ± 4,10 c
Dekan	73,05 ± 3,66	47,93 ± 0,16	58,58 ± 5,73	59,85 ± 4,14 c
Divana	64,06 ± 5,97	68,65 ± 3,48	57,97 ± 5,98	63,56 ± 3,06 c
Felix	57,45 ± 3,01	71,97 ± 1,46	75,41 ± 5,82	68,27 ± 3,37 bc
Ilirija	53,01 ± 1,97	69,65 ± 4,56	55,29 ± 0,23	59,32 ± 2,97 c
Katarina	99,42 ±0,51	56,00 ± 1,67	84,13 ± 1,23	79,85 ± 6,39 a
Soissons	101,75 ± 0,09	80,78 ± 3,18	76,13 ± 5,77	86,22 ± 4,38 a
Srpanjka	88,65 ± 0,74	78,70 ± 0,39	65,83 ± 3,01	77,72 ± 3,42 ab
U1	39,73 ± 2,19	54,87 ± 0,70	51,90 ± 1,65	48,83 ± 2,46 d
Prosjek	**72,59 ± 4,00 a**	**66,48 ± 2,21 b**	**64,00 ± 2,49 b**	
Sorta	Bioraspoloživa koncentracija Mn (mg kg^{-1})			Prosjek
Antonius	21,22 ± 0,59	14,95 ± 0,34	11,50 ±0,89	15,89 ± 1,46 b
Dekan	10,63 ± 0,38	8,40 ± 0,39	9,29 ± 0,04	9,44 ± 0,36 c
Divana	17,25 ±0,99	8,85 ± 0,46	7,13 ± 0,37	11,08 ± 1,60 c
Felix	22,38 ±2,98	10,01 ± 0,09	13,99 ± 0,90	15,46 ± 2,03 b
Ilirija	19,99 ± 0,06	13,02 ± 0,76	14,47 ± 0,78	15,83 ± 1,11 b
Katarina	27,94 ± 0,60	15,74 ± 0,29	19,41 ± 2,06	21,03 ± 1,91 a
Soissons	19,22 ± 0,74	13,25 ± 0,78	17,12 ±0,87	16,53 ± 0,96 b
Srpanjka	21,76 ±3,11	22,54 ± 1,97	17,62 ± 0,51	20,64 ± 1,32 a
U1	10,82 ± 0,02	6,37 ± 0,09	8,46 ± 0,12	8,55 ± 0,64 c
Prosjek	**19,02 ± 1,11 a**	**12,57 ± 0,93 b**	**13,22 ± 0,85 b**	

Vrijednosti u tablici predstavljaju prosjek tri ponavljanja ± standardna pogreška aritmetičke sredine; prosječne vrijednosti označene različitim slovima statistički se značajno razlikuju prema Tukey HSD ($p < 0,01$)

S obzirom na prosječne ukupne i bioraspoložive koncentracije Mn svih sorti, najviša ukupna koncentracija Mn je utvrđena kod sorte Soissons (86,22 ± 4,38 mg kg^{-1}) što je 76% više u odnosu na najnižu prosječnu ukupnu koncentraciju Mn koja je utvrđena kod sorte U1 (48,83 ± 2,46 mg kg^{-1}). Najviša prosječna bioraspoloživa koncentracija Mn utvrđena je kod sorte Katarine (21,03 ± 1,91 mg kg^{-1}), a najniža kod sorte U1 (8,55 ± 0,64 mg kg^{-1}). Vrlo niska prosječna bioraspoloživa koncentracija Mn utvrđena je i kod sorte Dekan (9,44 ± 0,36 mg kg^{-1}).

Ukupne i bioraspoložive koncentracije Zn (mg kg^{-1}) u prahu pšenične trave

Provedenom analizom varijance za ukupne i bioraspoložive koncentracije Zn utvrđen je statistički značajan utjecaj tretmana, sorte i njihove interakcije na ukupne i bioraspoložive koncentracije Zn u prahu pšenične trave (Tablica 54).

Tablica 54. Analiza varijance ukupne i bioraspoložive koncentracije Zn u prahu pšenične trave

Izvor variranja	Ukupna koncentracija Zn			Bioraspoloživa koncentracija Zn		
	Stupnjevi slobode	F vrijednost	Pr > F	Stupnjevi slobode	F vrijednost	Pr > F
Tretman	2	116,18	< 0,001	2	261,05	< 0,001
Sorta	8	43,64	< 0,001	8	42,99	< 0,001
T x S	16	12,23	< 0,001	16	35,37	< 0,001

Najviša ukupna koncentracija Zn u prahu pšenične trave je u kontrolnom tretmanu utvrđena kod sorte Katarine (35,29 ± 1,60 mg kg^{-1}) što je 33% više u odnosu na najnižu ukupnu koncentraciju Zn koja je utvrđena kod sorte Soissons (26,39 ± 1,51 mg kg^{-1}). Prosječna ukupna koncentracija Zn u tretmanu biofortifikacija 1 je 12% viša u odnosu na prosječnu ukupnu koncentraciju u kontrolnom tretmanu. Najniža ukupna koncentracija Zn u ovom tretmanu iznosila je 27,64 ± 0,46 mg kg^{-1} i utvrđena je kod sorte Felix, dok je najviša ukupna koncentracija Zn utvrđena kod sorte Antonius (45,10 ± 1,97 mg kg^{-1}). U tretmanu biofortifikacija 2 ukupna koncentracija Zn se kretala u rasponu od 32,11 ± 0,12 mg kg^{-1} (Felix) do 49,09 ± 1,83 mg kg^{-1} (Antonius) (Tablica 55). Prosječna ukupna koncentracija u ovom tretmanu je 24% viša u odnosu na prosječnu ukupnu koncentraciju u kontrolnom tretmanu.

Najviša bioraspoloživa koncentracija Zn u kontrolnom tretmanu utvrđena je kod sorte Dekan (4,15 ± 0,05 mg kg^{-1}), a najniža je utvrđena kod sorte Divane (9,13 ± 1,06 mg kg^{-1}). U tretmanu biofortifikacija 1 bioraspoloživa koncentracija Zn kretala se od 5,26 ± 0,08 mg kg^{-1} (Soissons) do 10,45 ± 0,60 mg kg^{-1} (Antonius). U tretmanu biofortifikacija 2 bioraspoloživa koncentracija Zn kretala se u rasponu od 6,33 ± 0,10 mg kg^{-1} (Soissons) do 22,31 ± 1,70 mg kg^{-1} (Antonius). Prosječna bioraspoloživa koncentracija Zn u tretmanu biofortifikacija 1 je 27% viša u odnosu na prosjek bioraspoložive koncentracije u kontrolnom tretmanu, dok je kod tretmana biofortifikacija 2 87% viša.

Tablica 55. Ukupne i bioraspoložive koncentracije Zn (mg kg^{-1}) u prahu pšenične trave

Sorta	Ukupna koncentracija Zn (mg kg^{-1})			Prosjek
	Kontrola	Biofortifikacija 1	Biofortifikacija 2	
Antonius	31,22 ± 0,68	45,10 ± 1,97	49,09 ± 1,83	41,80 ± 2,82 ^{a}
Dekan	32,34 ± 1,32	34,72 ± 0,62	36,37 ± 0,45	34,47 ± 0,73 ^{bcd}
Divana	31,20 ± 1,21	32,25 ± 1,28	34,33 ± 0,65	32,59 ± 0,71 ^{cde}
Felix	31,11 ± 0,13	27,64 ± 0,46	32,11 ± 0,12	30,28 ± 0,69 ^{e}
Ilirija	33,65 ± 1,58	31,97 ± 1,02	39,36 ± 0,50	34,99 ± 1,25 ^{bc}
Katarina	35,29 ± 1,60	44,09 ± 0,86	43,65 ± 1,12	41,01 ± 1,56 ^{a}
Soissons	26,39 ± 1,51	29,63 ± 0,15	43,12 ±1,06	33,05 ±2,62 ^{cde}
Srpanjka	28,48 ± 0,95	32,66 ± 0,16	33,34 ± 1,69	31,49 ± 0,95 ^{de}
U1	32,62 ± 0,14	37,82 ± 0,05	38,96 ±0,73	36,46 ± 1,00 ^{b}
Prosjek	**31,36 ± 0,59 ^{c}**	**35,09 ± 1,16 ^{b}**	**38,92 ± 1,07 ^{a}**	
Sorta	Bioraspoloživa koncentracija Zn (mg kg^{-1})			Prosjek
Antonius	6,90 ± 0,26	10,45 ± 0,60	22,31 ± 1,70	13,22 ± 2,39 ^{a}
Dekan	4,15 ±0,05	6,96 ± 0,49	18,63 ± 1,16	9,91 ± 2,25^{b}
Divana	9,13 ± 1,06	9,48 ± 0,13	8,04 ± 0,60	8,88 ± 0,41 ^{bc}
Felix	6,80 ± 0,06	5,83 ±0,08	10,18 ±0,35	7,60 ± 0,67 ^{c}
Ilirija	7,29 ± 0,21	7,37 ± 0,56	12,02 ± 0,39	8,89 ± 0,81 ^{bc}
Katarina	7,03 ± 0,05	9,49 ± 0,21	10,06 ± 0,37	8,86 ± 0,48 ^{bc}
Soissons	5,58 ± 0,25	5,26 ± 0,08	6,33 ±0,10	5,72 ± 0,18 ^{d}
Srpanjka	5,14 ± 0,10	9,29 ± 0,15	9,64 ± 0,48	8,02 ± 0,74 ^{c}
U1	6,04 ± 0,03	9,55 ± 0,02	11,09 ±0,17	8,89 ± 0,75 ^{bc}
Prosjek	**6,45 ± 0,29 ^{c}**	**8,19 ± 0,36 ^{b}**	**12,03 ± 0,97 ^{a}**	

Vrijednosti u tablici predstavljaju prosjek tri ponavljanja ± standardna pogreška aritmetičke sredine; prosječne vrijednosti označene različitim slovima statistički se značajno razlikuju prema Tukey HSD ($p < 0,01$)

Između sorti s obzirom na prosječnu ukupnu i bioraspoloživu koncentraciju, utvrđeno je da je sorta Antonius pokazala i najviše ukupne (41,80 ± 2,82 mg kg^{-1}) i bioraspoložive (13,22 ± 2,39 mg kg-1) koncentracije Zn. Felix (30,28 ± 0,69 mg kg^{-1}) se istaknuo kao sorta s najnižom ukupnom koncentracijom u odnosu na ispitivane sorte, a Soissons (5,72 ± 0,18 mg kg^{-1}) kao sorta s najnižim bioraspoloživom koncentracijom Zn.

Ukupne i bioraspoložive koncentracije Se (µg kg^{-1}) u prahu pšenične trave

Slično kao i kod analize varijance za Zn, provedenom analizom varijance za ukupne i bioraspoložive koncentracije Se utvrđeno je da su statistički značajan utjecaj imali tretman, sorta te interakcija tretmana i sorte (Tablica 56.).

Tablica 56. Analiza varijance za ukupne i bioraspoložive koncentracije Se u prahu pšenične trave

Izvor varijacije	Ukupna koncentracija Se			Bioraspoloživa koncentracija Se		
	df	F vrijednost	Pr > F	df	F vrijednost	Pr > F
Tretman	2	7215,22	< 0,001	2	1232,89	< 0,001
Sorta	8	70,14	< 0,001	8	67,01	< 0,001
T x S	16	35,35	< 0,001	16	40,45	< 0,001

U kontrolnom tretmanu se ukupna koncentracija Se kretala u rasponu od 15,06 ± 1,65 µg kg^{-1} (Srpanjka) do 22,46 ± 0,82 µg kg^{-1} (Ilirija). Najviša ukupna koncentracija Se u tretmanu biofortifikacija 1 utvrđena je kod sorte Divane (268,65 ± 3,61 µg kg^{-1}) što je 33% više u odnosu na najnižu ukupnu koncentraciju Se (201,05 ± 11,92 µg kg^{-1}) koja je utvrđena kod sorte Katarine. U tretmanu biofortifikacija 2 Divana se ponovno istaknula kao sorta s najvišom ukupnom koncentracijom Se (260,05 ± 5,82 µg kg^{-1}), dok je najniža ukupna koncentracija Se utvrđena kod sorte Felix (146,85 ± 2,74 µg kg^{-1}).

U kontrolnom tretmanu bioraspoloživa koncentracija Se kretala se u rasponu 1,98 ± 0,12 µg kg^{-1} (sorta U1), do 3,06 ± 0,04 µg kg^{-1} (sorta Ilirija). U tretmanu biofortifikacija 1 najviša bioraspoloživa koncentracija Se je utvrđena kod sorte Antonius (45,63 ± 1,65 µg kg^{-1}), a najniža je utvrđena kod sorte Felix (13,26 ± 0,61 µg kg^{-1}). I u tretmanu biofortifikacija 2 Antonius se

istaknuo kao sorta s najvišom koncentracijom Se (21,63 ± 0,46 μg kg^{-1}), a Soissons kao sorta s najnižom bioraspoloživom koncentracijom (10,99 ± 0,71 μg kg^{-1}).

S obzirom na ukupne koncentracije, sorta Divana se istaknula kao sorta s najvišim prosječnim koncentracijama Se (182,29 ± 41,10 μg kg^{-1}), što je 58% više nego što je utvrđeno kod sorte Katarine (114,97 ± 26,74 μg kg^{-1}). Gledano prema prosječnom bioraspoloživom koncentracijom Se, sorta Antonius se pokazala kao sorta s najvišom bioraspoloživom koncentracijom (23,39 ± 6,20 μg kg^{-1}), a sorta Felix (10,30 ± 1,99 μg kg^{-1}) kao sorta s najnižom bioraspoloživom koncentracijom Se (Tablica 57.).

Tablica 57. Ukupne i bioraspoložive koncentracije Se (μg kg^{-1}) iz praha pšenične trave

Sorta	Ukupna koncentracija Se (μg kg^{-1})			Prosjek
	Kontrola	Biofortifikacija 1	Biofortifikacija 2	
Antonius	18,80 ± 0,94	246,45 ± 2,05	162,24 ± 36,07	162,24 ± 36,07 ^{bcd}
Dekan	20,48 ± 0,83	209,97 ± 2,83	155,70 ± 34,06	155,70 ± 34,06 ^{cde}
Divana	18,16 ± 0,83	268,65 ± 3,61	182,29 ± 41,10	182,29 ± 41,10 ^{a}
Felix	16,78 ± 1,60	234,05 ± 7,30	132,56 ± 31,65	132,56 ± 31,65 ^{f}
Ilirija	22,46 ± 0,82	261,35 ± 3,09	163,40 ± 36,14	163,40 ± 36,14 ^{bc}
Katarina	18,45 ± 0,50	201,05 ± 11,92	114,97 ± 26,74	114,97 ± 26,74 ^{g}
Soissons	16,20 ± 0,53	265,75 ± 1,41	170,66 ± 39,02	170,66 ± 39,02 ^{ab}
Srpanjka	15,06 ± 1,65	223,17 ± 5,00	149,64 ± 33,74	149,64 ± 33,74 ^{de}
U1	16,93 ± 0,33	239,75 ± 5,63	147,95 ± 33,67	147,95 ± 33,67 ^{e}
Prosjek	**18,15 ± 0,50** ^{c}	**238,91 ± 4,75** ^{a}	**202,75 ± 8,09** ^{b}	
Sorta	Bioraspoloživa koncentracija Se (μg kg^{-1})			Prosjek
Antonius	2,90 ± 0,25	45,63 ± 1,65	21,63 ± 0,46	23,39 ± 6,20 ^{a}
Dekan	2,77 ± 0,17	18,08 ± 1,31	13,84 ± 0,80	11,56 ± 2,33 ^{bc}
Divana	2,57 ± 0,19	16,74 ± 2,31	19,06 ± 0,70	12,79 ± 2,67 ^{bc}
Felix	2,45 ± 0,27	13,26 ± 0,61	15,18 ± 0,11	10,30 ± 1,99 ^{c}
Ilirija	3,06 ± 0,04	17,55 ± 0,74	13,60 ± 1,34	11,40 ± 2,21 ^{bc}
Katarina	2,22 ± 0,03	20,22 ± 0,41	11,70 ± 0,52	11,38 ±2,61 ^{bc}
Soissons	2,41 ± 0,07	23,72 ± 1,16	10,99 ± 0,71	12,37 ± 3,12 ^{bc}
Srpanjka	2,07 ± 0,21	16,81 ± 0,91	15,93 ± 0,68	11,60 ± 2,41 ^{bc}
U1	1,98 ± 0,12	23,64 ± 0,92	14,13 ± 0,55	13,25 ± 3,15 ^{b}
Prosjek	**2,49 ± 0,08** ^{c}	**21,74 ± 1,80** ^{a}	**13,12 ± 1,01** ^{b}	

Vrijednosti u tablici predstavljaju prosjek tri ponavljanja ± standardna pogreška aritmetičke sredine; prosječne vrijednosti označene različitim slovima statistički se značajno razlikuju prema Tukey HSD ($p < 0,01$)

3.6. Apsorpcija Mg, Se, Fe i Zn pomoću Caco2 stanične linije

Apsorpcija Mg, Se, Fe i Zn iz svježeg soka, praha i probavljenog soka na Divani i Iliriji je ispitana pomoću Caco-2 staničnog modela, a svi rezultati su tablično prikazani.

Sorta Ilirija je imala je za 19 % veću koncentraciju Mg u svježem soku pšenične trave iz tretmana biofortifikacije u odnosu na svježi sok sorte Divane (32,53 ± 5,73). U oba tretmana je u prahu pšenične trave prosječno veća koncentracija Mg utvrđena kod sorte Ilirije za razliku od sorte Divane. Nije utvrđena razlika između ispitivanih sorti u oba tretmana u probavljenom soku (Tablica 58.). Prema provedenoj višefaktorijalnoj analizi varijance (Tablica 62.) na prosječnu koncentraciju Mg nakon 60 min apsorpcije u Caco-2 staničnu liniju statistički značaj utjecaj utvrđen je kod vrste uzorka. Naime, statistički značajna razlika utvrđena je između svježeg soka i probavljenog soka, te svježeg soka i praha (Tablica 58.).

Tablica 58. Prosječna koncentracija Mg nakon 60 min apsorpcije u Caco-2 staničnu liniju

Vrsta uzorka	Tretman	Divana	Ilirija	Prosjek
Svježi sok	Kontrola	33,42 ± 5,27	36,16 ± 6,23	35,20 ± 2,92a
	Biofortifikacija	32,53 ±5,73	38,69 ± 7,55	
Prah	Kontrola	23,91 ± 2,20	25,11 ± 2,40	24,51 ± 1,16b
	Biofortifikacija	23,01 ± 1,71	26,03 ± 3,27	
Probavljeni sok	Kontrola	21,82 ± 1,30	22,73 ± 1,47	22,11 ± 0,66b
	Biofortifikacija	21,29± 0,98	22,61 ± 1,74	

Vrijednosti u tablici predstavljaju prosjek tri ponavljanja ± standardna pogreška aritmetičke sredine; srednje vrijednosti označene različitim slovima statistički se značajno razlikuju prema Tukey HSD ($p < 0,01$)

U svježem soku uzgojenog iz biofortificiranog zrna sorta Divana je pokazala 35% veću prosječnu koncentraciju Se u odnosu na zrno iz kontrolnog tretmana (Tablica 59.). Nije utvrđena velika razlika u apsorpciji Se između ispitivanih sorti s obzirom na prosječnu koncentraciju Se iz praha pšenične trave u oba tretmana. U uzorcima soka pšenične trave Ilirije iz kontrolnog tretmana i biofortifikacije nakon provedene simulacije probave *in vitro* nije utvrđena razlika u koncentraciji Se. S druge strane, kod Divane je utvrđena 19% viša prosječna koncentracija Se u soku pšenične trave iz biofortifikacije nakon provedene *in vitro* simulacije probave u odnosu na kontrolni sok

nakon provedene simulacije *in vitro*. Prema provedenoj analizi varijance (Tablica 62.) utvrđeno je da na apsorpciju Se niti jedan izvor variranja nije imao statistički značaj.

Tablica 59. Prosječna koncentracija Se nakon 60 min apsorpcije u Caco-2 staničnu liniju

Vrsta uzorka	Tretman	Divana	Ilirija
Svježi sok	Kontrola	0,0121 ± 0,0014	0,0149 ± 0,0013
	Biofortifikacija	0,0164 ± 0,0017	0,0153 ± 0,0016
Prah	Kontrola	0,0144 ± 0,0011	0,0144 ± 0,0019
	Biofortifikacija	0,0151 ± 0,0014	0,0157 ± 0,0012
Probavljeni sok	Kontrola	0,0136 ± 0,0011	0,0158 ± 0,0013
	Biofortifikacija	0,0163 ± 0,0015	0,0158 ± 0,0018

Vrijednosti u tablici predstavljaju prosjek tri ponavljanja ± standardna pogreška aritmetičke sredine; srednje vrijednosti označene različitim slovima statistički se značajno razlikuju prema Tukey HSD ($p < 0,01$)

Sorta Ilirija je u svježem soku iz kontrolnog tretmana i biofortifikacije pokazala 40% i 50% veću prosječnu koncentraciju Fe u odnosu na sortu Divanu. Nadalje, kod Ilirije je u prahu pšenične trave iz biofortifikacije utvrđeno povećanje prosječne koncentracije Fe za 14% u odnosu na prah iz kontrolnog tretmana. Sok pšenične trave Ilirije iz kontrolnog tretmana nakon provedene simulacije probave *in vitro* je pokazao 72% veću prosječnu koncentraciju Fe u odnosu na sok Divane iz istog tretmana. Također, u soku Ilirije iz biofortifikacijskog tretmana nakon provedene simulacije probave *in vitro* je utvrđena veća koncentracija Fe za 43% u odnosu na sok Divane (Tablica 60). Prema provedenoj višefaktorijalnoj analizi varijance (Tablica 62.) utvrđeno je da na je prosječnu koncentraciju Fe nakon 60 min apsorpcije u Caco-2 staničnoj liniji pokazala samo sorta na razini značajnosti od 95 %, dok kod svih ostalih izvora variranja nije utvrđen statistički značajan utjecaj.

Prema prosječnoj koncentraciji Zn nakon 60 min apsorpcije u Caco-2 staničnoj liniji u svježem soku uzgojenog iz zrna kontrolnog tretmana i tretmana biofortifikacije nije utvrđena razlika između ispitivanih sorti. Međutim na prahu pšenične trave iz biofortifikacijskog tretmana, utvrđeno je da sorta Ilirija ima za 17% veću prosječnu koncentraciju Zn u odnosu na prosječnu koncentraciju u sorti Divani.

Tablica 60. Prosječna koncentracija Fe nakon 60 min apsorpcije u Caco-2 staničnu liniju

Vrsta uzorka	Tretman	Divana	Ilirija
Svježi sok	Kontrola	0,152 ± 0,033	0,214 ± 0,051
	Biofortifikacija	0,142 ± 0,036	0,213 ± 0,054
Prah	Kontrola	0,122 ± 0,028	0,147 ± 0,034
	Biofortifikacija	0,106 ± 0,024	0,168 ± 0,045
Probavljeni sok	Kontrola	0,092 ±0,015	0,159 ± 0,040
	Biofortifikacija	0,097 ± 0,018	0,139 ± 0,032
Prosjek		0,118 ± 0,01b	0,173 ± 0,01a

Vrijednosti u tablici predstavljaju prosjek tri ponavljanja ± standardna pogreška aritmetičke sredine; srednje vrijednosti označene različitim slovima statistički se značajno razlikuju prema Tukey HSD ($p < 0,01$)

Tablica 61. Prosječna koncentracija Zn nakon 60 min apsorpcije u Caco-2 staničnu liniju

Vrsta uzorka	Tretman	Divana	Ilirija	Prosjek
Svježi sok	Kontrola	0,157 ± 0,016	0,163 ± 0,017	0,165 ± 0,01a
	Biofortifikacija	0,168 ± 0,023	0,173 ± 0,021	
Prah	Kontrola	0,158 ± 0,017	0,169 ± 0,023	0,164 ± 0,01a
	Biofortifikacija	0,153 ± 0,014	0,179 ± 0,028	
Probavljeni sok	Kontrola	0,137 ± 0,007	0,138 ± 0,009	0,136 ± 0,004b
	Biofortifikacija	0,138 ± 0,009	0,135 ± 0,009	

Vrijednosti u tablici predstavljaju prosjek tri ponavljanja ± standardna pogreška aritmetičke sredine; srednje vrijednosti označene različitim slovima statistički se značajno razlikuju prema Tukey HSD ($p < 0,01$)

Između ispitivanih sorti nije utvrđena razlika u prosječnim koncentracijama Zn u soku pšenične trave nakon provedene simulacije probave *in vitro* (Tablica 61.). Prema provedenoj analizi varijance (Tablica 62.) utvrđeno je da je statistički značajan utjecaj na prosječnu koncentraciju Zn nakon 60 min apsorpcije u Caco-2 staničnoj liniji utvrđen kod vrste uzorka na razini značajnosti od 95 %. Kako je prikazano u Tablici 61. statistički značajna razlika utvrđena je između probavljenog soka i svježeg soka, te probavljenog soka i praha.

Tablica 62. Analiza varijance za apsorpciju Mg, Se, Fe i Zn pomoću Caco-2 staničnog modela

Apsorpcija Mg			
Izvori varijacije	Stupnjevi slobode	F vrijednost	Pr > F
Sorta (S)	1	1,25	0,27
Vrsta uzorka (V)	2	12,37	< 0,001
Tretman (T)	1	0,01	0,94
S x V	2	0,19	0,83
S x T	1	0,17	0,68
V x T	2	0,02	0,98
S x V x T	2	0,04	0,96
Apsorpcija Se			
Sorta (S)	1	0,62	0,44
Vrsta uzorka (V)	2	0,20	0,82
Tretman (T)	1	3,39	0,07
S x V	2	0,04	0,96
S x T	1	1,43	0,24
V x T	2	0,23	0,80
S x V x T	2	0,61	0,55
Apsorpcija Fe			
Sorta (S)	1	6,99	0,01
Vrsta uzorka (V)	2	2,89	0,07
Tretman (T)	1	0,03	0,86
S x V	2	0,10	0,90
S x T	1	0,03	0,87
V x T	2	0,02	0,98
S x V x T	2	0,19	0,83
Apsorpcija Zn			
Sorta (S)	1	0,59	0,45
Vrsta uzorka (V)	2	3,45	0,04
Tretman (T)	1	0,15	0,70
S x V	2	0,32	0,73
S x T	1	0,02	0,88
V x T	2	0,11	0,89
S x V x T	2	0,08	0,92

Dinamika apsorpcije Mg, Fe i Zn prikazana je za svaku vrstu uzoraka (prah, svježi sok i probavljeni sok) zasebno (Prilog, Grafikon 7., 8. i 9.).

Najviše početne koncentracije Mg utvrđene su u svježem soku pšenične trave, zatim slijedi prah pšenične trave, a potom u soku nakon *in vitro* simulacije probave (Prilog, Grafikon 7.). Osim toga,

Ilirija se u odnosu na Divanu istaknula kao sorta s većim početnim koncentracijama Mg. Uspoređujući kontrolni tretman i tretman biofortifikacije vidljivo je da je Ilirija u biofortifikacijskom tretmanu pokazala više početne koncentracije Mg, dok to kod sorte Divana nije vidljivo. Sukladno dobivenim rezultatima, može se zaključiti da se znatan dio Mg apsorbira u prvih 30 minuta mjerenja, iako prosječno vrijeme apsorpcije Mg traje 45 minuta.

Odnos između početnih koncentracija Fe u ispitivanim uzorcima je vrlo sličan kao i kod Mg. Naime, najveće početne koncentracije Fe utvrđene su u svježem soku pšenične trave, nakon čega slijedi prah pšenične trave i na kraju u soku nakon provedene *in vitro* simulacije probave (Prilog, Grafikon 8.). Sorta Ilirija se istaknula kao sorta s značajno višim početnim koncentracijama Fe u odnosu na sortu Divanu. Također, utvrđeno je da su kod sorte Ilirije pri biofortifikaciji porasle početne koncentracije u odnosu na kontrolni tretman. U odnosu na vrijeme apsorpcije Mg, prosječno vrijeme apsorpcije Fe se može utvrditi na 60 minuta.

Vrlo slične početne koncentracije Zn utvrđene su u svježem soku i prahu pšenične trave, a očekivano niže početne koncentracije utvrđene su u soku nakon provedene *in vitro* simulacije probave (Prilog, Grafikon 9.). U svježem soku pšenične trave, obje ispitivane sorte su pokazale povećanje pri tretmanu biofortifikacije u odnosu na kontrolni tretman, dok je u prahu pšenične trave povećanje uočeno samo kod Ilirije, dok su kod Divane utvrđene vrlo slične početne koncentracije kao i u kontrolnom tretmanu. Prosječno vrijeme apsorpcije utvrđeno je na 45 minuta.

4. RASPRAVA

4.1. Sortna specifičnost pšenice obzirom na ukupne i *in vitro* bioraspoložive koncentracije K, Ca, Mg, Fe, Mn i Zn u soku pšenične trave

U prvoj godini istraživanja provedeno je preliminarno istraživanje na temelju kojega je napravljen izbor sorti za daljnja istraživanja, odnosno poljski pokus s primjenom biofortifikacije cinkom i selenom te uzgoj pšenične trave iz biofortificiranog zrna pšenice. Preliminarnim istraživanjem utvrđene su ukupne i *in vitro* bioraspložive koncentracije makroelemanata (K, Ca, Mg) i mikroelemenata (Mn, Fe, Zn) u soku pšenične trave uzgojene 12 dana na ukupno 98 sorti pšenice i pet divljih srodnika (Tablica 10. i Tablica 11.). Osim određivanja ukupnih i *in vitro* bioraspoloživih koncentracija navedenih minerala, preliminarnim istraživanjem utvrđen je i sadržaj kloroplastnih pigmenata, fenola, flavonoida i DPPH (ti rezultati nisu dio ove doktorske disertacije). Na temelju svih navedenih analiza, izabrano je ukupno 9 sorti i jedan divlji srodnik za sjetvu u poljski pokus. Cilj preliminarnog istraživanja bio je ispitati varijabilnost između ispitivanih sorti s obzirom na ukupne i *in vitro* bioraspoložive koncentracije K, Ca, Mg, Mn, Fe i Zn te s obzirom na dobivene rezultate izdvojiti genotipove za daljnje istraživanja. Preliminarno istraživanje provedeno je na ukupno 98 sorata ozime pšenice i pet divljih srodnika, a sorte su porijeklom iz osam država (Hrvatska, Italija, Mađarska, Srbija, Njemačka, Austrija, Francuska i Rusija) s godinom priznavanja od 1936. godine do 2009. godine. Svjesno su izabrane sorte široke genetske varijabilnosti koncentracije ispitivanih elemenata u zrnu pšenice.

Preliminarna istraživanja (engl. screening) važan su preduvjet te je logično da su za mnoga višegodišnja istraživanja početna točka. S obzirom na zadani cilj, preliminarnim istraživanjem dobiva se uvid u genotipove koji se ističu po mjerenim parametrima, što nam pomaže u planiranju daljnjih ispitivanja. Nadalje, široka genetska varijabilnost je nužan preduvjet uspješnog oplemenjivanja bilja (Ulukan, 2011.). Dok potreba za hranom raste uslijed rasta svjetske populacije, oplemenjivači su se fokusirali na kreiranje genotipova sa visokim prinosom. Kao posljedica navedenog, u visokoprinosnim genotipovima dolazi do pada sadržaja proteina i minerala u zrnu (Zhao i sur., 2009.). Još jedan problem koji se javlja konstantnim uzgojem ujednačenih genotipova je smanjena otpornost na štetnike i patogene. Također, uslijed klimatskih promjena dolazi do razvoja niza stresnih uvjeta kao što su visoke temperature i suša

te zaslanjivanje tala. Iz navedenog se očituje velika važnost određivanja, ali i očuvanja genetske varijabilnosti (Ulukan, 2011.).

Hussain i sur. (2010.) su u svom istraživanju napravili screening mineralnog sastava zrna (B, Cu, Fe, Se, Mg, Zn, Ca, Mn, Mo, P, S i K) na ukupno 321 genotipu pšenice koje su podijelili u nekoliko različitih skupina s ciljem izdvajanja genotipova s iznimno visokim koncentracijama ispitivanih minerala. Treba napomenuti kako se radilo o organskom uzgoju pšenice. Slično istraživanje proveli su Pandey i sur. (2016.) na 150 genotipova krušne pšenice, od kojih je 121 Indijskog i 29 Turskog porijekla. Autori su na navedenom uzorku ispitali genetsku varijabilnost na sadržaj proteina i određenih makro (Ca, K, Mg, Na, P, S) i mikroelemenata (Cu, Zn, Fe, Mn). Na temelju dobivenih podataka ispitana je povezanost između sadržaja proteina i ispitivanih minerala pomoću analize glavnih komponenti (engl. Principal components analysis, PCA). Na temelju PCA i hijerarhijskog grupiranja ispitivani genotipovi su podijeljeni u dvije manje grupe.

S obzirom da je pšenična trava bogata biokomponentama kao što su klorofil, flavonoidi, brojni vitamini, minerali, aminokiseline i enzimi, benefiti pšenične trave su mnogobrojni (Avisar i sur., 2020.). Temeljem navedenoga pšenična trava postaje često predmet medicinskih istraživanja s ciljem ispitivanja antiproliferativnog učinka (Rajoria i sur., 2017.; Shakya i sur., 2018.). S druge strane, osim samog mineralnog sastava, vrlo je malo informacija o koncentraciji pojedinih minerala u pšeničnoj travi, a posebno o *in vitro* bioraspoloživim koncentracijama minerala. Ukazujući na to, istraživanje provedeno za ovu doktorsku disertaciju je zasada prvo takvo istraživanje, posebno ako se uzme u obzir broj ispitivanih genotipova pšenice.

Budući da je pšenica glavna krušarica u svijetu, a u određenim dijelovima svijeta, uslijed siromaštva, namirnica na kojoj se bazira dnevna prehrana, radi se o žitarici koja je većem broju svjetskog stanovništva glavni izvor esencijalnih mikronutrijenata i vitamina. Iz tog razloga, oplemenjivači bilja u fokus stavljaju kreiranje sorti pšenice s povećanim sadržajem mikronutrijenata kao što su Fe i Zn. Utvrđeno je da divlji srodnici pšenice imaju širok spektar genetske varijabilnosti za mnoga svojstva abiotskog stresa (Zhang i sur., 2014.), a ujedno imaju i visoke koncentracije Fe i Zn u zrnu (Çakmak i sur., 2004.). Zbog toga je i u ovom istraživanju uvršteno 5 divljih srodnika pšenice kako bi se utvrdile razlike u koncentracijama ispitivanih

elemenata u soku pšenične trave uzgojene iz kultiviranih sorti i divljih srodnika prije i nakon simulacije probave *in vitro*. Ukoliko se izuzme broj uzoraka u ove dvije skupine (sorte i divlji srodnici), aritmetičke sredine ukupnih koncentracija ispitivanih elemenata u soku pšenične trave izabranih sorti pšenice i divljih srodnika su vrlo slične (Tablica 10. i Tablica 12.). Naime, u soku pšenične trave divljih srodnika utvrđene su prosječno veće koncentracije Ca i Zn, dok su više prosječne ukupne koncentracije Mg, K i Mn utvrđene su soku pšenične trave uzgojene iz zrna ispitivanih sorti pšenice. S druge strane, prosječne ukupne koncentracije Fe su vrlo slične u obje skupine. Isti odnos između sorti i divljih srodnika pšenice prate i koncentracije nakon *in vitro* simulacije probave (Tablica 11. i Tablica 13.). Najviša razlika između sorti i divljih srodnika utvrđena je kod Zn, kako kod ukupne, tako i kod *in vitro* bioraspoložive koncentracije. Naime, prosječna ukupna koncentracija Zn u soku pšenične trave divljih srodnika je 38 % viša u odnosu na prosječnu koncentraciju Zn u soku pšenične trave ispitivanih sorata. Nakon provedene *in vitro* simulacije probave, ta razlika je i viša. Naime, prosječna *in vitro* bioraspoloživa koncentracija Zn kod divljih srodnika je veća 65 % u odnosu na prosječnu *in vitro* bioraspoloživu koncentraciju Zn kod sorti pšenice.

Preliminarnim istraživanjem je na temelju provedenih analiza i statističke obrade podataka izabrano 9 sorti pšenice i jedan divlji srodnik koji su posijani u poljski pokus. Od 10 izabranih genotipova pšenice, sorta Soissons ima 31% višu ukupnu koncentraciju u odnosu na prosječnu ukupnu koncentraciju Ca (n = 103) što je ujedno i najviša ukupna koncentracija Ca u izabranom uzorku (Grafikon 1.). Iznadprosječne ukupne koncentracije Ca još su utvrđene u sorata Dekan i U1, dok su ostale sorte podjednake ili niže od prosječne ukupne koncentracije Ca. U odnosu na prosječnu ukupnu koncentraciju Mg, kod sorte Soissons je utvrđena 30 % viša ukupna koncentracija, a kod sorte Katarine 34 % niža ukupna koncentracija Mg. To su ujedno i sorte s najvišom, odnosno najnižom ukupnom koncentracijom Mg u odnosu na izabrane genotipove. Najviša bioraspoloživost od ispitivanih elemenata utvrđena je kod K. Od izabranih sorti, Ilirija sa 54 % višom i Srpanjka sa 45 % višom ukupnom koncentracijom K od prosječne ukupne koncentracije K su se pokazale kao sorte s najvišim sadržajem K (Grafikon 2.). Sve ostale sorte su imale niže koncentracije K, dok je najniža koncentracija utvrđena kod sorte Felix, što je 36 % niža u odnosu na prosječnu koncentraciju K. Utvrđeno je da su svi izabrani genotipovi, osim sorte Antonius imale ukupnu koncentraciju Fe u skladu sa prosječnom ukupnom koncentracijom Fe ili iznad. Divlji srodnik *Triticum monococcum* je imao najvišu ukupnu koncentraciju što je 33 % više u odnosu na prosječnu koncentraciju Fe, dok je Antonius u

odnosu na spomenuti prosjek pokazao 17 % nižu ukupnu koncentraciju Fe. Sorta Dekan se izdvojila kao sorta s najvišom ukupnom koncentracijom Mn. Naime, izmjerena ukupna koncentracija je za 54 % viša u odnosu na prosječnu koncentraciju Mn. U soku pšenične trave najviša ukupna koncentracija Zn izmjerena je kod *Triticum monococcum*, divljeg srodnika pšenice koji je imao i najvišu koncentraciju Fe u odnosu na izabrane genotipove. *Triticum monococcum* je imao 32 % višu ukupnu koncentraciju Zn u odnosu na prosječnu ukupnu koncentraciju istog elementa. Nakon provedene *in vitro* simulacije probave, bioraspoložive koncentracije prikazane su u grafikonima 4., 5. i 6. Očekivano, vidljivo je da genotipovi s najvišom ukupnom koncentracijom pojedinih ispitivanih elmenata, su isti genotipovi kod kojih su utvrđene i najviše *in vitro* bioraspoložive koncentracije istih elemenata.

4.2. Utjecaj biofortifikacije Zn i Se na ukupne i *in vitro* bioraspoložive koncentracije K, Ca, Mg, Fe, Mn, Zn i Se u pšeničnoj travi

Biofortifikacija se definira kao mjera pomoću koje se povećava sadržaj mikronutrijenata u jestivim dijelovima biljke, a njena provedba moguća je kao agronomska biofortifikacija ili kao genetska biofortifikacija (Saltzman i sur., 2013.). Obzirom da genetska biofortifikacija podrazumijeva kreiranje genotipova s mogućnošću povećane akumulacije mikronutrijenata, što je dugotrajan proces, najčešće se pristupa agronomskoj biofortifikaciji (Lyons i Cakmak, 2012.). Takva vrsta biofortifikacije usjeva se postiže aplikacijom željenih hranjiva i to u tlo, folijarnom ili njihovom kombinacijom (De Valença i sur., 2017.).

U ovom istraživanju agronomska biofortifikacija je provedena folijarnom aplikacijom Zn u obliku cinkovog sulfata i Se u obliku natrijevog selenata. Osim standardnog kontrolnog tretmana, primijenjena su još dva dodatna tretmana. Jedan tretman je označavao primjenu 1,5 kg Zn ha^{-1} i 10 g Se ha^{-1} u fazi cvatnje pšenice, dok je drugi označavao primjenu iste količine hranjiva, ali jednako raspoređeno u dvije faze, fazu cvatnje i fazu mliječne zriobe. Naime, na ovakav način može se ispitati utjecaj agronomske biofortifikacije primijenjene u različitim fazama na koncentraciju željenih mikroelemenata u zrnu pšenice. Ovakav izbor primjene tretmana temeljio se na činjenici da termin folijarne aplikacije Zn tijekom vegetacije pšenice ima značajan utjecaj na povećanje Zn u zrnu (Cakmak i sur., 2010.). Nadalje, drži se da folijarnom aplikacijom u kasnijim fazama razvoja dolazi do većeg povećanja sadržaja Zn u zrnu u odnosu na aplikaciju u ranijim fazama razvoja. Sličan zaključak navode Phattarakul i

sur. (2012.) u istraživanju na riži. Naime, autori navode da najveće povećanje Zn (do 2 puta više u neoljuštenoj riži i 30 % više u smeđoj i bijeloj riži) postignuto ukoliko su jedna ili obje folijarne primjene provedene u kasnijim fazama razvoja (mliječna zrioba zrna). S druge strane, prema istraživanju Govasmark i sur. (2008.) u kojem se Se u tlo aplicirao tijekom 5 faza rasta i razvoja kukuruza (sjetva, busanje, izduživanje stabljike, cvatnja klipa (svilanje) i mliječna zrioba). Autori navode kako je najveće povećanje Se u zrnu utvrđeno u tretmanu gdje se Se aplicirao u fazi izduživanja stabljike.

Provedenim istraživanjem sorta je imala statistički značajan utjecaj na koncentracije Ca, Mg, K, Fe i Mn, dok biofortifikacija nije statistički značajno utjecala na koncentracije navedenih elemenata. Za razliku od ostalih elemenata, na koncentracije Zn i Se statistički značajan utjecaj su imale i sorta i biofortifikacija (Tablica 16.). Svih 9 sorti su u kontrolnom tretmanu pokazali vrlo ujednačene koncentracije Zn, dok su nakon primijenjene biofortifikacije utvrđene razlike između koncentracije Zn u zrnu. U odnosu na kontrolni tretman, sorta U1 je u tretmanu biofortifikacija 1 i u tretmanu biofortifikacija 2 pokazala 97 % i 89 % veću koncentraciju Zn u zrnu u odnosu na koncentraciju utvrđenu u kontroli, što je ujedno i najveće povećanje u odnosu na ostale sorte. Sorta Antoinus je u odnosu na kontrolni tretman u biofortifikacija 1 pokazao 50 %, a u biofortifikaciji 2 62 % veću koncentraciju Zn, čime se može zaključiti da je kod ove sorte folijarna aplikacija Zn u dvije primjene uspješnija u odnosu na jednu folijarnu aplikaciju. Kod sorte Ilirije uočen je sličan utjecaj primijenjenih tretmana na koncentraciju Zn u zrnu. Naime, u tretmanu biofortifikacija 1 u odnosu na kontrolni tretman dolazi do povećanja od 35 %, dok u biofortifikacija 2 od 52 % veće koncentracije Zn u zrnu. Nasuprot tome, vidljivo je da se kod sorte Divane tretman biofortifikacija 1 pokazao uspješnijim u odnosu na tretman biofortifikacija 2. Naime, u odnosu na kontrolni tretman, u tretmanu biofortifikacija 1 dolazi do 55 % veće koncentracije Zn u zrnu, dok u biofortifikacija 2 povećanje Zn iznosi 29 %. Dok su sve sorte pokazale da biofortifikacijom dolazi do znatnijeg povećanja Zn, najniže povećanje (12 % i 9 %) utvrđeno je kod sorte Srpanjke.

Nadalje, istraživanjem je utvrđeno da folijarna aplikacija Zn statistički značajno utječe na povećanje koncentracije Zn u zrnu (Tablica 22.). Naime, utvrđene su statistički značajne razlike između kontrolnog tretmana i tretmana biofortifikacija 1, kao i između kontrolnog tretmana i tretmana biofortifikacija 2, dok nema razlike između biofortifikacija 1 i biofortifikacija 2. Istraživanje je utvrdilo da je primjena biofortifikacija 1 tretmana dovela do 44% povećanja Zn

u zrnu, a biofortifikacija 2 do 45% u odnosu na kontrolni tretman. Zou i sur. (2012.) su u svom istraživanju utvrdili da folijarnom aplikacijom Zn dolazi do statistički značajnog povećanja Zn u zrnu pšenice. Naime, prosječna koncentracija Zn u kontrolnom tretmanu kretala se od 11,60 mg kg^{-1} do 49,00 mg kg^{-1}, dok je nakon folijarne aplikacije Zn prosječna koncentracija bila u rasponu od 19,60 mg kg^{-1} Zn do 63,00 mg kg^{-1}. Da folijarna aplikacija Zn utječe na povećanje Zn u zrnu pšenice te da je to efektivna mjera pri povećanju nutritivne vrijednosti žitarica koje se u mnogim dijelovima svijeta koriste kao osnovna hrana utvrdili su i Jalal i sur. (2020.) i Ramzan i sur. (2020.). Zou i sur. (2019.) su proveli istraživanje na pšenici u kojem su utvrdili da nema značajne razlike između same primjene folijarne aplikacije Zn i primjene folijarne aplikacije otopine koja osim Zn, sadržava i Fe, I i Se, na povećanje Zn u zrnu pšenice. Naime, u kontrolnom tretmanu prosječna koncentracija Zn iznosila je 28,60 mg kg^{-1}, dok je pri folijarne aplikacije Zn iznosila 46,0 mg kg^{-1}, a pri primjeni otopine (Zn, Fe, I i Se) iznosila 47,10 mg kg^{-1}. Agronomska biofortifikacija je moguća putem folijarne aplikacije, aplikacije u tlo ili kombinacijom. Međutim, istraživanja pokazuju da je folijarna aplikacija Zn učinkovitija u povećavanju koncentracije Zn u zrnu u odnosu na aplikaciju u tlo (Zhang i sur., 2012.; Hassan i sur., 2019.), dok Cakmak (2008.) navodi kako je najoptimalnija kombinacija folijarne i aplikacije u tlo.

Kod ispitivanih sorti, utvrđeno je da su primjenjeni tretmani biofortifikacije značajno utjecali na povećanje koncentracije Se u zrnu (Tablica 23.). Kod svih sorti, osim sorte Antonius i Ilirije utvrđeno je da primjena biofortifikacija 1 tretmana ukazala na značajno veće koncentracije Se u zrnu u odnosu na tretman biofortifikacija 2. U odnosu na kontrolni tretman, sorta Antonius je pri tretmanu biofortifikacija 1 pokazala skoro 6 puta, a pri tretmanu biofortifikacija 2 skoro 7 puta veću koncentraciju Se u zrnu. Kod sorte Ilirije nije uočena značajna razlika između biofortifikacije 1 i biofortifikacije 2, iako se u odnosu na kontrolni tretman vidi jasno povećanje Se u zrnu. U usporedbi sa ostalim sortama, kod sorte Soissons je utvrđeno najviše povećanje Se u zrnu uslijed primjene oba biofortifikacijska tretmana. Sorta Divana je pokazala najvišu koncentraciju Se od ostalih sorti pri tretmanu biofortifikacija 1, dok je sorta Antonius pri tretmanu biofortifikacija 2.

Istraživanjem je utvrđeno statistički značajno povećanje Se pri tretmanima biofortifikacije 1 i 2 u odnosu na kontrolni tretman. Prosječna koncentracija Se je u tretmanu biofortifikacija 1 sedam puta veća u odnosu na kontrolni tretman, dok je u tretmanu biofortifikacija 2 pet puta

veća u odnosu na kontrolni tretman. Također, za razliku od Zn, kod Se je između svih provedenih tretmana (kontrolni tretman i biofortifikacija 1, kontrolni tretman i biofortifikacija 2, biofortifikacija 1 i biofortifikacija 2) utvrđena statistički značajna razlika. Iz navedenoga se može zaključiti da je što se tiče Se učinkovitija folijarna aplikacija u cvatnji kada će se odjednom aplicirati ukupna količina, nego primjena u dva termina (tijekom cvatnje i mliječne zriobe). Za razliku od Se, kod Zn je utvrđeno da nema značajne razlike u koncentraciji Zn u zrnu pšenice između jedne folijarne aplikacije u fazi cvatnje ili dvije folijarne aplikacije u cvatnji i mliječnoj zriobi.

Prema istraživanju Manojlović i sur. (2019.) utvrđeno je da pri folijarnoj aplikaciji Se u koncentraciji od 10 g Se u odnosu na folijarnu aplikaciju 5 g Se i aplikaciju u tlo od 10 g Se dolazi do najveće koncentracije Se u zrnu pšenice. Xia i sur. (2019.) navode da pri folijarnoj aplikaciji Se 37,50 g Se ha^{-1} dolazi do povećanja Se u zrnu ispitivanih genotipova pšenice 6 puta u odnosu na kontrolu. Osim na pšenici, folijarna aplikacija Se se pokazala učinkovitija i kod biofortifikacije kukuruza. Wang i sur. (2013.) u svom istraživanju su utvrdili da je folijarna aplikacija Se učinkovitija u povećanju Se u zrnu u odnosu na aplikaciju u tlo. Autori navode da se pri primjeni folijarne aplikacije od 11 g Se ha^{-1} u odnosu na kontrolni tretman koncentracija Se u zrnu povećala 9 puta.

4.3. Bioraspoloživost K, Ca, Mg, Fe, Mn, Zn i Se iz pšenične trave i apsorpcija pomoću Caco-2 stanične linije

Brojna istraživanja su potvrdila da biofortifikacija kao mjera povećavanja željenih nutrijenata u jestivim dijelovima biljaka značajno povećava ukupan sadržaj nutrijenata. Međutim, prema dostupnoj literature nema podataka o tome utječe li biofortifikacija na bioraspoložive koncentracije željenih nutrijenata. Naime, potvrđeno je da ukupna koncentracija nekog nutrijenta nije u potpunosti dostupna za apsorpciju u ljudski organizam. Stoga je važno ispitati bioraspoloživost koja se definira kao količinu nutrijenta koja je dostupna za apsorpciju u organizam. Pretpostavka je da manjak ovakvog tipa istraživanja leži u činjenici da je probavni sustav izuzetno kompleksan te je nemoguće napraviti kompletnu simulaciju probave u laboratorijskim uvjetima. Ipak, razvijeni su različiti *in vitro* statički modeli pomoću kojih se može napraviti screening istraživanje na temelju kojega se može suziti izbor uzoraka za ispitivanje na staničnim modelima.

Probavni sustav čovjeka zbog svoje izuzetne kompleksnosti je vrlo teško simulirati budući da se tijekom probave odvija niz simultano povezanih reakcija pomoću kojih dolazi do razgradnje hrane kako bi se u završnom dijelu probave mogla apsorbirati. S obzirom na navedeno, kako statički, tako i dinamički, *in vitro* modeli simulacije probave imaju određene limitirajuće faktore koje je nemoguće eliminirati u laboratorijskim uvjetima (Dupont i sur., 2019.).

U ovom istraživanju, simulacija probave *in vitro* rađena je prema dvije statičke metode za simulaciju probave *in vitro* koje su detaljnije opisane u poglavlju Materijal i metode. S obzirom na tip i opsežnost istraživanja simulacija probave *in vitro* statičkom metodom je opravdan izbor iz više razloga. Naime, prvi dio istraživanja se odnosi na screening ukupno 105 genotipa pšenice (100 sorti i 5 divljih srodnika) te je sa ovom vrstom metode *in vitro* simulacije probave omogućeno napraviti veći broj uzoraka, a ujedno je i s financijske strane isplativije. Upravo iz tih razloga, statičke metode *in vitro* simulacije probave su čest izbor u istraživanjima s povećanim brojem uzoraka, u kojima je jedan od ciljeva napraviti screening uzoraka i istaknuti one koji će se dalje istraživati (Alminger i sur., 2014.; Brodkorb i sur., 2019.).

Prosječne *in vitro* bioraspoložive koncentracije ispitivanih elemenata u soku pšenične trave ispitivanih sorti pšenice ukazuju da je odnos između ispitivanih elemenata bio sljedeći K>Ca>Mg>Mn>Fe>Zn. Također, takav odnos vrijedi i za *in vitro* bioraspoložive koncentracije u skupini divljih srodnika. U skupini ispitivanih sorti, samo je kod Ca utvrđeno da su sorte s najmanjom, odnosno najvišom ukupnom koncentracijom imale i shodno tome najnižu, odnosno najvišu *in vitro* bioraspoloživu koncentraciju. Kod ostalih ispitivanih elemenata, taj trend nije uočen. Za razliku od sorti, u skupini divljih srodnika je utvrđeno da su divlji srodnici s najvišom, odnosno najnižom ukupnom koncentracijom pojedinog elemenata pokazali i najnižu, odnosno najvišu *in vitro* bioraspoloživu koncentraciju za isti element.

Prilikom određivanja bioraspoloživosti treba uzeti u obzir i sadržaj antinutrijenata. Naime, antinutrijenti su tvari koje utječu na smanjenje apsorpcije pojedinih nutrijenata. Kada se spominju antrinutrijenti najčešće se misli na inhibitore proteaze i amilaze, fitinsku kiselinu, lektinine, saponine, tanine, oksalati i alkaloide. U zrnu žitarica nalazi se fitinska kiselina, organski spoj koja za biljku predstavlja skladišni oblik fosfora, no u organizmu čovjeka veže kalcij, željezo, cink i druge minerale što za posljedicu ima smanjenje njihove apsorpcije.

Provedenim istraživanjem je utvrđeno da je kod svih ispitanih elemenata, neovisno o sorti, bioraspoloživost bila veća u svježem soku u odnosu na bioraspoložiovost u prahu pšenične trave. Da je bioraspoloživost elemenata veća u svježim listovima pšenične trave utvrđeno je istraživanjem Kulkarni i sur. (2007.). Naime, autori navode da je bioraspoloživost Mn, Zn i Fe bila veća u svježim listovima pšenične trave između 8 i 10 dana uzgoja u odnosu na bioraspoloživost istih elemenata u komercijalnim tabletama i zrnu pšenice.

S obzirom na rezultate screening istraživanja kao i rezultate bioraspoloživosti na 9 ispitivanih sorti izabrane su Divana i Ilirija kao dvije sorte na kojima se ispitala i biodostupnost Mg, Fe, Zn i Se. Biodostupnost se ispitivala pomoću Caco-2 staničnog modela koji se i najčešće koristi u sličnim istraživanjima (Amagloh i sur., 2017., Doumani i sur., 2020.). Na Caco-2 staničnu liniju od svake sorte aplicirane su tri vrste uzorka: svježi sok i prah pšenične trave te uzorak soka nakon provedene in vitro simulacije probave. Pokazano je da se u uzorcima svježeg soka i praha pšenične trave neovisno o sorti, najveća apsorpcija Mg odvija u prvih 45 minuta. Odnosno, najviše 61% Mg apsorbira se iz svježeg soka, a 45% iz praha pšenične trave. Ilirija se u odnosu na Divanu istaknula kao sorta sa većom početnom koncentracijom Mg, pa samim time i većom apsorpcijom. Neovisno o vrsti uzorka, najveća početna koncentracija Mg utvrđena je u tretmanu biofortifikacije u odnosu na kontrolni tretman. Za razliku od Mg, kod Fe je utvrđeno produljeno vrijeme apsorpcije na 60 minuta, pri čemu je u prosjeku apsorbirano 70% Fe. Ilirija se i po apsorpciji Fe istaknula kao bolja sorta u odnosu na Divanu. Kod Zn je je kao i kod Mg utvrđena apsorpcija na trajanje od 45 minuta, odnosno apsorpcija Zn između 45 i 60 minuta je zanemariva. Vidljivo je da je kod Zn utvrđena sporija apsorpcija u odnosu na ostale ispitane elemente. U uzorcima svježeg soka pšenične trave kod obje sorte utvrđeno je povećanje početnih koncentracija Zn u biofortifikacijskom tretmanu u odnosu na kontrolni tretman, dok je kod praha pšenične trave značajno povećanje utvrđeno kod Ilirije.

4.4. Pogodnost ispitivanih genotipova pšenice kao prirodnog dodatka prehrani

Krajnji cilj ovog istraživanje bio je da se na temelju provedenog istraživanja mogu izabrati genotipovi pšenice koji s obzirom na mineralni sastav u mladim listovima su pogodni za korištenje u obliku svježeg soka ili praha pšenične trave. Ispitivane sorte pšenice značajno su se razlikovale po koncentracijama svih ispitivanih elemenata i u obliku svježeg soka i u obliku praha pšenične trave. Također, treba istaknuti da je i na koncentraciju elementa značajno utjecala i duljina uzgoja pšenične trave. Naime, istraživanjem je utvrđeno da je trajanje uzgoja

pšenične trave povezano s povećanjem koncentracija Ca, Mg i Mn. S druge strane pak, kod K je utvrđeno da mu sadržaj opada sa duljinom uzgoja pšenične trave te su najveće koncentracije utvrđene 6. dana uzgoja. Nasuprot dobivenim rezultatima, Kulkarni i sur. (2006., a) su utvrdili da koncentracija K, ali i Mn, Zn, Fe, Ca i Mg raste s brojem dana uzgoja.

Provedenim istraživanjem između ispitivanih sorti, istaknula se sorta Soissons kao sorta s najvišim ukupnim i *in vitro* bioraspoloživim koncentracijama Ca, Mg i Mn u svježem soku pšenične trave. Ilirija se istaknula kao sorta s najvišim ukupnim i *in vitro* bioraspoloživim koncentracijama Fe i Zn. Iako je utvrđena veća bioraspoloživost svih elemenata u soku pšenične trave, treba imati na umu kako je u prahu veća koncentracija ispitivanih elemenata. U prahu pšenične trave najviše ukupne koncentracije Ca i Mg utvrđene su kod sorte Soissons, a kod sorte Ilirije najviše *in vitro* bioraspoložive koncentracije Ca i Mg. Također, kod sorte Ilirije utvrđene su i najviše ukupne i *in vitro* bioraspoložive koncentracije Fe. Sorta Antonius se istaknula kao sorta s najvišim ukupnim i *in vitro* bioraspoloživim koncentracijama Zn i Se.

4.5. Značaj rezultata u oplemenjivanju pšenice

Oplemenjivanje svih žitarica, pa tako i pšenice je dosada bilo usmjereno ka povećavanju prinosa, otpornosti prema bolestima i štetnicima i adaptaciji različitim faktorima abiotskog stresa (suša, salinitet, visoke i niske temperature i sl.). Kao posljedica navedenog, sve do posljednjih desetljeća kada se počelo govoriti o pothranjenosti ljudi mikronutrijentima, nutritivna kvaliteta zrna je bila zanemarena. Iako se kao najbolji izvor mikronutrijenata kao što su željezo i cink ističu meso, riba i morski plodovi, treba imati na umu kako u svim dijelovima svijeta uslijed siromaštva raznolika i uravnotežena prehrane nije moguća. S obzirom na to, kreiranje genotipova pšenice i drugih žitarica s većom sposobnošću akumulacije željenih mikroelemenata (Fe, Zn) ili provođenje biofortifikacije u tim područjima nameće se kao moguće rješenje spomenute malnutricije u ljudi (Lowe, 2021.).

Iako kada se priča o pšenici, uglavnom se bazira na zrno kao glavni proizvod, treba istaknuti kako je ovim istraživanjem utvrđeno da se listovi pšenice starosti do 12 dana mogu koristiti kao prirodan dodatak prehrani, bilo u obliku svježeg soka ili praha pšenične trave. U odnosu na meso, ribu i morske plodove kao i orašaste plodove, istraživanjem je utvrđeno da pšenična trava nije najbolji izvor željeza i cinka kao već spomenute skupine namirnica. No, ukoliko se govori o ljudima koji se odlučuju za posebne pravce prehrane poput vegetarijanstva i

veganstva, u kojima se u pravilu meso i namirnice životinjskog podrijetla zaobilaze, pšenična trava može zauzeti značajno mjesto u dnevnoj prehrani. U tom slučaju, pšenična trava može biti izvor određenih makro i mikro elemenata pomoću kojega će se zadovoljiti potrebna dnevna količina nutrijenata za normalno funkcioniranje organizma. Provedenim istraživanjem je utvrđeno i da su u prahu pšenične trave veće koncentracije svih ispitivanih elemenata u odnosu na koncentracije u svježem soku pšenične trave. No, provedenom simulacijom probave *in vitro* utvrđeno je da je bioraspoloživost ispitivanih elemenata veća u svježem soku u odnosu na prah pšenične trave. Treba istaknuti kako prah pšenične trave osim većih koncentracija makro i mikroelemenata u svom sastavu ima i vlakna koja su izuzetno važna za očuvanje zdravlja (Rahman i sur., 2015.).

Obzirom na utvrđenu veliku varijabilnost ispitivanih sorata i različit odgovor sorata na biofortifikaciju mogu se izdvojiti sorte koje su pogodnije za korištenje za proizvodnju pripravaka od pšenične trave. Uzevši u obzir ukupne i bioraspoložive koncentracije ispitivanih elemenata sorta Soissons se može izdvojiti kao potencijalni roditelj u budućim križanjima s ciljem kreiranja sorata s visokom koncentracijom elemenata u mladim listovima koji se koriste za pripremu soka i praha od pšenične trave. Osim toga, s oplemenjivačkog aspekta važan je međuodnos ispitivanih elemenata, kako se provođenjem agrotehničkih mjera za povećanje koncentracije pojedinih elemenata, ne bi negativno utjecalo na sadržaj, koncentracije i bioraspoloživost ostalih elemenata.

5. ZAKLJUČAK

1. Temeljem provedenog istraživanja utvrđena je velika varijabilnost između ispitivanih genotipova pšenice s obzirom na ukupne i *in vitro* bioraspoložive koncentracije K, Ca, Mg, Mn, Fe, Zn i Se u soku pšenične trave. Veća varijabilnost je utvrđena za *in vitro* bioraspoložive koncentracije u odnosu na ukupne koncentracije ispitivanih elemenata. Najveća varijabilnost kod ukupnih koncentracija je utvrđena za K, a kod *in vitro* bioraspoloživih koncentracija najveća varijabilnost je utvrđena za Zn, K i Fe.

2. Istraživanjem je utvrđeno da biofortifikacija Zn i Se ima statistički značajan utjecaj na ukupne koncentracije K, Mn, Fe, Zn i Se i *in vitro* bioraspoložive koncentracije Ca, Mg, Mn, Fe, Zn i Se u soku pšenične trave izabranih genotipova pšenice. Biofortifikacija Zn i Se imala je statistički značajan utjecaj na ukupne koncentracije K, Mn, Zn i Se i *in vitro* bioraspoložive koncentracije Ca, Mg, Mn, Fe, Zn i Se u prahu pšenične trave izabranih genotipova pšenice.

3. Različiti termin žetve pšenične trave značajno utječe na ukupne koncentracije Ca, Mg, K, Mn, Fe, Zn i Se i *in vitro* bioraspoložive koncentracije Ca, Mg, Mn, Fe i Zn u soku pšenične trave izabranih genotipova pšenice.

4. Na temelju provedenog istraživanja i ispitanih genotipova, sorta Soissons se istaknula kao sorta s najvišim koncentracijama Ca, Mg i Mn, a sorta Ilirija kao sorta s najvišom koncentracijom Fe. Također, veća *in vitro* bioraspoloživost svih ispitanih elemenata je utvrđena u svježem soku u odnosu na prah pšenične trave. Ipak, treba napomenuti, da je u prahu pšenične trave prisutna veća koncentracija makro i mikroelemenata u odnosu na svježi sok.

6. LITERATURA

1. Abbasi, G. H., Akhtar, J., Anwar-ul-Haq, M., Ali, S., Chen, Z., Malik, W. (2014): Exogenous potassium differentially mitigates salt stress in tolerant and sensitive maize hybrids. Pakistan Journal of Botany 46:1: 135-146.
2. Abbaspour, N., Hurrell, R., Kelishadi, R. (2014.): Review on iron and its importance for human health. Journal of research in medical sciences: the official journal of Isfahan University of Medical Sciences 19:2: 164.
3. Aburto, N. J., Hanson, S., Gutierrez, H., Hooper, L., Elliott, P., Cappuccio, F. P. (2013.): Effect of increased potassium intake on cardiovascular risk factors and disease: systematic review and meta-analyses. Bmj: 346.
4. Ackland, M. L., Michalczyk, A. A. (2016.): Zinc and infant nutrition. Archives of biochemistry and biophysics 611: 51-57.
5. Al Alawi, A. M., Majoni, S. W., Falhammar, H. (2018.): Magnesium and human health: perspectives and research directions. International journal of endocrinology V(2018): 1-17
6. Alegría, A., Garcia-Llatas, G., Cilla, A. (2015). Static digestion models: General introduction. The impact of food bioactives on health. London. str. 3-12.
7. Alloway, B. J. (2008). Zinc in soils and crop nutrition. Published by IZA and IFA. Bruxelles, Belgija i Francuska.
8. Al-Muzafar, H. M., Al-Hariri, M. T. (2021). Alterations in manganese level in the biological samples of young obese Saudi women. Journal of Taibah University Medical Sciences. 16(5): 706-711.
9. Alminger, M., Aura, A. M., Bohn, T., Dufour, C., El, S. N., Gomes, A., Karakaya, S., Martinez – Cuesta, M.C., McDougall, G. J., Requena, T., Santos, C. N. (2014.): In vitro models for studying secondary plant metabolite digestion and bioaccessibility. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety. 13(4): 413-436.
10. Amagloh, F. K., Atuna, R. A., McBride, R., Carey, E. E., Christides, T. (2017.): Nutrient and total polyphenol contents of dark green leafy vegetables, and estimation of their iron bioaccessibility using the in vitro digestion/Caco-2 cell model. *Foods*. *6*(7): 54.
11. Amoroso, L. (2016.): The second international conference on nutrition: implications for hidden hunger. Hidden Hunger 115: 142-152.
12. Amtmann, A., Rubio, F. (2012.): Potassium in plants. Els. 1-10.

13. Angelis, I. D., Turco, L. (2011): Caco-2 cells as a model for intestinal absorption. Current protocols in toxicology. 47(1): 20-6.
14. Avery, J. C., Hoffmann, P. R. (2018.): Selenium, selenoproteins, and immunity. Nutrients. 10(9): 1203.
15. Avisar, A., Cohen, M., Brenner, B., Bronshtein, T., Machluf, M., Bar-Sela, G., Aharon, A. (2020.): Extracellular Vesicles Reflect the Efficacy of Wheatgrass Juice Supplement in Colon Cancer Patients During Adjuvant Chemotherapy. Frontiers in oncology. 10: 1659.
16. Awulachew, M. T. (2020.): The Role of Wheat in Human Nutrition and Its Medicinal Value. Glob Acad J Med Sci. 2(6): 50-54.
17. Bar-Sela, G., Tsalic, M., Fried, G., Goldberg, H. (2007.): Wheat grass juice may improve hematological toxicity related to chemotherapy in breast cancer patients: a pilot study. Nutrition and cancer. 58(1): 43-48.
18. Bellows, L., Moore, R., Anderson, J., Young, L., Long, E. (2013.): Potassium and the Diet. Food and nutrition series. Health 9:355.
19. Ben-Arye, E., Goldin, E., Wengrower, D., Stamper, A., Kohn, R., Berry, E. (2002.): Wheat grass juice in the treatment of active distal ulcerative colitis: a randomized double-blind placebo-controlled trial. Scandinavian journal of gastroenterology. 37(4): 444-449.
20. Berhe, K., Gebrearegay, F., Gebremariam, H. (2019.): Prevalence and associated factors of zinc deficiency among pregnant women and children in Ethiopia: a systematic review and meta-analysis. BMC public health. 19(1): 1-11.
21. Beto, J. A. (2015). The role of calcium in human aging. Clinical nutrition research, 4(1): 1-8.
22. Bhowmik, D., Chiranjib, K., Kumar, S. (2010.): A potential medicinal importance of zinc in human health and chronic. Int J Pharm. 1(1): 05-11.
23. Bilandžić, N., Sedak, M., Đokić, M., Varenina, I., Kolanović, B. S., Božić, Đ., Brstilo, M., Šimić, B. (2014.): Determination of zinc concentrations in foods of animal origin, fish and shellfish from Croatia and assessment of their contribution to dietary intake. Journal of Food Composition and Analysis. 35(2): 61-66.
24. Black, R. E., Victora, C. G., Walker, S. P., Bhutta, Z. A., Christian, P., De Onis, M., Uauy, R. (2013.): Maternal and child undernutrition and overweight in low-income and middle-income countries. The lancet. 382(9890): 427-451.
25. Bohn, T., Carriere, F., Day, L., Deglaire, A., Egger, L., Freitas, D., Golding, M., Le

Feunteun, S., Macierzanka, A., Menard, O., Miralles, B., Moscovici, A., Portmann, R., Recio, I., Remond, D., Sante – Lhoutelier, V., Wooster, T. J., Lesmes, U., Mackie, A. R., Dupont, D. (2018.): Correlation between in vitro and in vivo data on food digestion. What can we predict with static in vitro digestion models?. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 58(13): 2239-2261.

26. Broadley, M., Brown, P., Cakmak, I., Rengel, Z., Zhao, F. (2012.): Function of nutrients: micronutrients. In Marschner's mineral nutrition of higher plants. Academic Press. 191-248.
27. Brodkorb, A., Egger, L., Alminger, M., Alvito, P., Assunção, R., Ballance, S., Bohn, T., Bourlieu – Lacanal, C., Boutrou, R., Carriere, F., Clemente, A., Corredig, M., Dupont, D., Dufour, C., Edwards, C., Golding, M., Karakaya, S., Kirkhus, B., Le Feunteun, S., Lesmes, U., Macierzanka, A., Mackie, A. R., Martins, C., Marze, S., McClements, D. J., Menard, O., Minekus, M., Portmann, R., Santos, C. N., Souchon, I., Singh, P., Vegarud, G. E., Wickham, M. S. J., Weitshies, W., Recio, I. (2019.): INFOGEST static in vitro simulation of gastrointestinal food digestion. Nature protocols. 14(4): 991-1014.
28. Brown, K. H., Wuehler, S. E., Peerson, J. M. (2001.): The importance of zinc in human nutrition and estimation of the global prevalence of zinc deficiency. Food and Nutrition Bulletin. 22(2): 113-125.
29. Bryszewska, M. A., Tomás-Cobos, L., Gallego, E., Villalba, M., Rivera, D., Saa, D. L. T., Gianotti, A. (2019.): In vitro bioaccessibility and bioavailability of iron from breads fortified with microencapsulated iron. LWT. 99: 431-437.
30. Cakmak, I. (2008.): Enrichment of cereals grains with zinc: Agronomic and genetic biofortification. Plant and Soil. 302: 1-17.
31. Cakmak, I., Kalayci, M., Kaya, Y., Torun, A. A., Aydin, N., Wang, Y., Arisoy, Z., Erdem, H., Yazici, A., Gokmen, O., Ozturk, L., Horst, W. J. (2010.): Biofortification and localization of zinc in wheat grain. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 58(16): 9092-9102.
32. Çakmak, I., Torun, A., Millet, E., Feldman, M., Fahima, T., Korol, A., Özkan, H. (2004.): Triticum dicoccoides: an important genetic resource for increasing zinc and iron concentration in modern cultivated wheat. Soil science and plant nutrition. 50(7): 1047-1054.
33. Cakmak, I., Pfeiffer, W. H., McClafferty, B. (2010.): Biofortification of durum wheat with zinc and iron. Cereal chemistry. 87(1): 10-20.

34. Camara, F., Barbera, R., Amaro, M. A., Farre, R. (2007.): Calcium, iron, zinc and copper transport and uptake by Caco-2 cells in school meals: Influence of protein and mineral interactions. Food Chemistry. 100(3): 1085-1092.
35. Camaschella, C. (2019.): Iron deficiency. Blood, The Journal of the American Society of Hematology. 133(1): 30-39.
36. Chasapis, C. T., Ntoupa, P. S. A., Spiliopoulou, C. A., Stefanidou, M. E. (2020): Recent aspects of the effects of zinc on human health. Archives of toxicology. 94(5).
37. Chasapis, C. T., Spiliopoulou, C. A., Loutsidou, A. C., Stefanidou, M. E. (2012.): The Antioxidant Properties of Zinc. Arch Toxicol. 86(4): 521-34.
38. Cheng, C. J., Kuo, E., Huang, C. L. (2013.): Extracellular potassium homeostasis: insights from hypokalemic periodic paralysis. In Seminars in nephrology. 33(3): 237-247.
39. Cherevko, S., Mayrhofer, K. J. J. (2018.): On-Line Inductively Coupled Plasma Spectrometry in Electrochemistry: Basic Principles and Applications. 326-335.
40. Cochrane, T. T., Cochrane, T. A. (2009.): The vital role of potassium in the osmotic mechanism of stomata aperture modulation and its link with potassium deficiency. Plant signaling & behavior. 4(3): 240-243.
41. Cordain, L., Eaton, S. B., Sebastian, A., Mann, N., Lindeberg, S., Watkins, B. A., O'Keefe, J. H., Brand-Miller, J. (2005.): Origins and evolution of the Western diet: health implications for the 21st century. The American journal of clinical nutrition. 81(2): 341-354.
42. Correa-Rodríguez, M., DelOlmo-Romero, S., Pocovi-Gerardino, G., Callejas-Rubio, J. L., Ríos-Fernández, R., Ortego-Centeno, N., Rueda-Medina, B. (2022). Dietary Sodium, Potassium, and Sodium to Potassium Ratio in Patients With Systemic Lupus Erythematosus. Biological Research For Nursing. 24(2): 235-244.
43. Coutinho, G. G. P. L., Goloni-Bertollo, E. M., Bertelli, É. C. P. (2005.): Iron deficiency anemia in children: a challenge for public health and for society. Sao Paulo Medical Journal. 123: 88-92.
44. D'Elia, L., Barba, G., Cappuccio, F. P., Strazzullo, P. (2011.): Potassium intake, stroke, and cardiovascular disease: a meta-analysis of prospective studies. Journal of the American College of Cardiology. 57(10): 1210-1219.
45. Das, S., Green, A. (2013.): Importance of zinc in crops and human health. J SAT Agric Res. 11: 1-7.

46. De Benoist, B., Cogswell, M., Egli, I., McLean, E. (2008.): Worldwide prevalence of anaemia 1993-2005; WHO Global Database of anaemia. Geneva. Switzerland.
47. De Brier, N., Gomand, S. V., Donner, E., Paterson, D., Smolders, E., Delcour, J. A., Lombi, E. (2016.): Element distribution and iron speciation in mature wheat grains (Triticum aestivum L.) using synchrotron X-ray fluorescence microscopy mapping and X-ray absorption near-edge structure (XANES) imaging. Plant, cell & environment. 39(8): 1835-1847.
48. Del Río, L. A., López-Huertas, E. (2016.): ROS generation in peroxisomes and its role in cell signaling. Plant and Cell Physiology. 57(7): 1364-1376.
49. De Valença, A. W., Bake, A., Brouwer, I. D., Giller, K. E. (2017.): Agronomic biofortification of crops to fight hidden hunger in sub-Saharan Africa. Global Food Security. 12: 8-14.
50. Dima, C., Assadpour, E., Dima, S., Jafari, S. M. (2020.): Bioavailability and bioaccessibility of food bioactive compounds; overview and assessment by in vitro methods. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety. 19(6): 2862-2884.
51. Dodig, S., Čepelak, I. (2004.): The facts and controverses about selenium. Acta pharmaceutica. 54(4): 261-276.
52. Doumani, N., Severin, I., Dahbi, L., Bou-Maroun, E., Tueni, M., Sok, N., Chagnon, M. C., Maalouly, J., Cayot, P. (2020.): Lemon juice, sesame paste, and autoclaving influence iron bioavailability of hummus: Assessment by an in vitro digestion/Caco-2 cell model. *Foods*. *9*(4): 474.
53. Du, S., Wu, X., Han, T., Duan, W., Liu, L., Qi, J., Niu, Y., Sun, C. (2018.): Dietary manganese and type 2 diabetes mellitus: two prospective cohort studies in China. Diabetologia. 61(9): 1985-1995.
54. Dupont, D., Alric, M., Blanquet-Diot, S., Bornhorst, G., Cueva, C., Deglaire, A., Denis., S., Ferrua, M., Havenaar, R., Lelieveld, J., Mackie, A. R., Marzorati, M., Menard., O., Minekus, M., Miralles, B., Recio, I., Van den Abbeele, P. (2019.): Can dynamic in vitro digestion systems mimic the physiological reality?. Critical reviews in food science and nutrition. 59(10): 1546-1562.
55. Durairaj, V., Shakya, G., Rajagopalan, R. (2015.): Hepatoprotective role of wheatgrass on alcohol and ΔPUFA-induced oxidative stress in rats. Journal of dietary supplements. 12(2): 126-137.
56. Đokić, M., Bilandžić, N., Đuras, M., Gomerčić, T., Sedak, M. (2017.): Biokemijske

funkcije i toksičnost mangana te njegove koncentracije u tkivima morskih sisavaca. Veterinarska stanica. 48(6): 439-449.

57. EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (NDA). (2014). Scientific opinion on dietary reference values for zinc. EFSA Journal. 12(10): 3844.
58. Elbrecht, D. H., Long, C. J., Hickman, J. J. (2016.): Transepithelial/endothelial Electrical Resistance (TEER) theory and applications for microfluidic body-on-a-chip devices. Journal of Rare Diseases Research & Treatment. 1(3).
59. El-Ramady, H., Abdalla, N., Alshaal, T., Domokos-Szabolcsy, E., Elhawat, N., Prokisch, J., Sztrik, A., Fari, M., El-Marsafawy, S., Shams, M. S. (2015.): Selenium in soils under climate change, implication for human health. Environmental Chemistry Letters. 13(1): 1-19.
60. Etcheverry, P., Grusak, M. A., Fleige, L. E. (2012.): Application of in vitro bioaccessibility and bioavailability methods for calcium, carotenoids, folate, iron, magnesium, polyphenols, zinc, and vitamins B6, B12, D, and E. Frontiers in physiology. 3: 317.
61. FAOSTAT / http://www.fao.org/faostat/en/#home pristupljeno: 25.01.2021.
62. Farhangi-Abriz, S., Ghassemi-Golezani, K. (2021.): Changes in soil properties and salt tolerance of safflower in response to biochar-based metal oxide nanocomposites of magnesium and manganese. Ecotoxicology and Environmental Safety. 211: 111904.
63. Fernández-García, E., Carvajal-Lérida, I., Pérez-Gálvez, A. (2009.): In vitro bioaccessibility assessment as a prediction tool of nutritional efficiency. Nutrition research. 29(11): 751-760.
64. Ferreira, R. L. U., Sena-Evangelista, K. C. M., De Azevedo, E. P., Pinheiro, F. I., Cobucci, R. N., Pedrosa, L. F. C. (2021.): Selenium in human health and gut microflora: bioavailability of selenocompounds and relationship with diseases. Frontiers in nutrition. 8: 292.
65. Freeland-Graves, J. H., Mousa, T. Y., Kim, S. (2016.): International variability in diet and requirements of manganese: Causes and consequences. Journal of Trace Elements in Medicine and Biology. 38: 24-32.
66. Fu, J., Cui, Y. (2013.): In vitro digestion/Caco-2 cell model to estimate cadmium and lead bioaccessibility/bioavailability in two vegetables: The influence of cooking and additives. Food and chemical toxicology. 59: 215-221.
67. Fujishiro, H., Kambe, T. (2022.): Manganese transport in mammals by zinc transporter

family proteins, ZNT and ZIP. Journal of Pharmacological Sciences. 148(1): 125-133.

68. Fuqua, B. K., Vulpe, C. D., Anderson, G. J. (2012.): Intestinal iron absorption. Journal of Trace Elements in Medicine and Biology. 26(2-3): 115-119.
69. George, T. S., French, A. S., Brown, L. K., Karley, A. J., White, P. J., Ramsay, L., Daniell, T. J. (2014.): Genotypic variation in the ability of landraces and commercial cereal varieties to avoid manganese deficiency in soils with limited manganese availability: is there a role for root-exuded phytases?. Physiologia plantarum. 151(3): 243-256.
70. Glutsch, V., Hamm, H., Goebeler, M. (2019.): Zinc and skin: an update. JDDG: Journal der Deutschen Dermatologischen Gesellschaft. 17(6): 589-596.
71. Grubišić, S., Orkić, V., Guberac, S., Petrović, S., Lisjak, M., Kristić, M., Rebekić, A. (2019). Optimalan način sjetve pšenice (Triticum aestivum L.) za uzgoj pšenične trave. Poljoprivreda. 25(2): 31-37.
72. Gore, R. D., Palaskar, S. J., Bartake, A. R. (2017.): Wheatgrass: green blood can help to fight Cancer. Journal of clinical and diagnostic research: JCDR. 11(6): ZC40.
73. Govasmark, E., Singh, B. R., MacLeod, J. A., Grimmett, M. G. (2008). Selenium concentration in spring wheat and leaching water as influenced by application times of selenium and nitrogen. Journal of plant nutrition. 31(2): 193-203.
74. Gröber, U., Schmidt, J., Kisters, K. (2015.): Magnesium in prevention and therapy. Nutrients. 7(9): 8199-8226.
75. Guerinot, M.L., Yi, Y. (1994.): Iron: nutritious, noxious, and not readily available. Plant Physiology. 104: 815-820.
76. Guerra, A., Etienne-Mesmin, L., Livrelli, V., Denis, S., Blanquet-Diot, S., Alric, M. (2012.): Relevance and challenges in modeling human gastric and small intestinal digestion. Trends in biotechnology. 30(11): 591-600.
77. Gupta, C. P. (2014). Role of iron (Fe) in body. IOSR Journal of Applied Chemistry. 7(11): 38-46.
78. Gupta, M., Gupta, S. (2017.): An overview of selenium uptake, metabolism, and toxicity in plants. Frontiers in plant science. 7: 2074.
79. Gupta, U. C., Gupta, S. C. (2000.): Selenium in soils and crops, its deficiencies in livestock and humans: implications for management. Communications in soil science and plant analysis. 31(11-14): 1791-1807.
80. Gurol, K. C., Aschner, M., Smith, D. R., Mukhopadhyay, S. (2022). Role of excretion in

manganese homeostasis and neurotoxicity: A historical perspective. American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology, 322(1), G79-G92.

81. Ha, H. Y., Alfulaij, N., Berry, M. J., Seale, L. A. (2019.): From selenium absorption to selenoprotein degradation. Biological trace element research. 192(1): 26-37.
82. Habib, M. (2009.): Effect of foliar application of Zn and Fe on wheat yield and quality. African Journal of Biotechnology. 8(24): 6795-6798.
83. Hadi, M. R., Karimi, N. (2012.): THE ROLE OF CALCIUM IN PLANTS'SALT TOLERANCE. Journal of Plant Nutrition. 35(13): 2037-2054.
84. Hassan, M. U., Chattha, M. U., Ullah, A., Khan, I., Qadeer, A., Aamer, M., Khan, A. U., Nadeem, F., Khan, T. A. (2019.): Agronomic biofortification to improve productivity and grain Zn concentration of bread wheat. Int. J. Agric. Biol. 21: 615-620.
85. Hattarki, S. A., Bogar, C., Bhat, K. (2020.): Triticum aestivum (wheat grass) Exhibited Anticancer Activity on Oral Cancer (KB) Cell Line. Int J Pharma Res Health Sci. 8(5): 3220-3224.
86. Hebbani, A. V., Bulle, S., Kanu, V. R., Balachandrababu Malini, A., Reddy, V. D., Chakravarthula, V. N. (2020.): Nephro-protective activity of wheatgrass juice against alcohol-induced oxidative damage in rats. Toxicology Mechanisms and Method. 30(9): 679-686.
87. Hennigar, S. R., McClung, J. P. (2011.): Zinc transport in the mammalian intestine. Comprehensive Physiology. 9(1): 59-74.
88. Hennigar, S. R., Olson, C. I., Kelley, A. M., McClung, J. P. (2022.): Slc39a4 in the small intestine predicts zinc absorption and utilization: a comprehensive analysis of zinc transporter expression in response to diets of varied zinc content in young mice. The Journal of Nutritional Biochemistry. 101
89. Hinderling, P. H. (2016.): The pharmacokinetics of potassium in humans is unusual. The Journal of Clinical Pharmacology. 56(10): 1212-1220.
90. Hourston, J. E., Ignatz, M., Reith, M., Leubner-Metzger, G., Steinbrecher, T. (2017.): Biomechanical properties of wheat grains: the implications on milling. Journal of the Royal Society Interface, 14(126).
91. Hrvatski zavod za javno zdravstvo, Registar za rak Republike Hrvatske. Incidencija raka u Hrvatskoj 2017., Bilten 42, Zagreb. 2020.
92. Huber, D. M., Jones, J. B. (2013.): The role of magnesium in plant disease. Plant and Soil. 368(1): 73-85.

93. Hur, S. J., Lim, B. O., Decker, E. A., McClements, D. J. (2011.): In vitro human digestion models for food applications. Food Chemistry. 125(1): 1-12.
94. Hussain, A., Larsson, H., Kuktaite, R., Johansson, E. (2010.): Mineral composition of organically grown wheat genotypes: contribution to daily minerals intake. International journal of environmental research and public health. 7(9): 3442-3456.
95. Iorio, J., Lastraioli, L., Lastraioli, E. (2021). Potassium in Solid Cancers. Potassium in Human Health. 79-86
96. Jalal, A., Shah, S., Carvalho Minhoto Teixeira Filho, M., Khan, A., Shah, T., Ilyas, M., Leonel Rosa, P. A. (2020.): Agro biofortification of zinc and iron in wheat grains. Gesunde Pflanzen. 72(3): 227-236.
97. Jeong, J., Connolly, E. L. (2009.): Iron uptake mechanisms in plants: functions of the FRO family of ferric reductases. Plant science. 176(6): 709-714.
98. Karakas, F. P., Keskin, C. N., Agil, F., Zencirci, N. (2021.): Profiles of vitamin B and E in wheat grass and grain of einkorn (Triticum monococcum spp. monococcum), emmer (Triticum dicoccum ssp. dicoccum Schrank.), durum (Triticum durum Desf.), and bread wheat (Triticum aestivum L.) cultivars by LC-ESI-MS/MS analysis. Journal of Cereal Science. 98: 103177.
99. Kaur, K., Gupta, R., Saraf, S. A., Saraf, S. K. (2014.): Zinc: the metal of life. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety. 13(4): 358-376.
100. Kaur, N., Singh, B., Kaur, A., Yadav, M. P., Singh, N., Ahlawat, A. K., Singh, A. M. (2021.): Effect of growing conditions on proximate, mineral, amino acid, phenolic composition and antioxidant properties of wheatgrass from different wheat (Triticum aestivum L.) varieties. Food Chemistry. 341: 128201.
101. Kerstan, D., Quamme, G. A. (2002.): Intestinal absorption of magnesium. In Calcium in internal medicine. Springer. London. 171-183.
102. Kibria, M. G., Barton, L., Rengel, Z. (2021.): Foliar application of magnesium mitigates soil acidity stress in wheat. Journal of Agronomy and Crop Science. 207(2): 378-389.
103. Kiers, J. L., Nout, R. M. J., Rombouts, F. M. (2000.): In vitro digestibility of processed and fermented soya bean, cowpea and maize. Journal of the Science of Food and Agriculture. 80(9): 1325-1331.
104. Kleczkowski, L. A., Igamberdiev, A. U. (2021.): Magnesium signaling in plants. International Journal of Molecular Sciences. 22(3): 1159.
105. Kolte, D., Vijayaraghavan, K., Khera, S., Sica, D. A., Frishman, W. H. (2014.): Role of

magnesium in cardiovascular diseases. Cardiology in review. 22(4): 182-192.

106. Kopru, S., Cadir, M., Soylak, M. (2022.): Investigation of Trace Elements in Vegan Foods by ICP-MS After Microwave Digestion. Biological Trace Element Research. 1-9.
107. Kulkarni, S. D., Acharya, R., Nair, A. G. C., Rajurkar, N. S., Reddy, A. V. R. (2006.). (a): Determination of elemental concentration profiles in tender wheatgrass (Triticum aestivum L.) using instrumental neutron activation analysis. Food Chemistry. 95(4): 699-707.
108. Kulkarni, S. D., Acharya, R., Rajurkar, N. S., Reddy, A. V. R. (2007.): Evaluation of bioaccessibility of some essential elements from wheatgrass (Triticum aestivum L.) by in vitro digestion method. *Food chemistry*. *103*(2): 681-688.
109. Kulkarni, S. D., Tilak, J. C., Acharya, R., Rajurkar, N. S., Devasagayam, T. P. A., Reddy, A. V. R. (2006.). (b): Evaluation of the antioxidant activity of wheatgrass (Triticum aestivum L.) as a function of growth under different conditions. Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives. 20(3): 218-227.
110. Kulshreshtha, D., Ganguly, J., Jog, M. (2021.): Manganese and movement disorders: a review. Journal of movement disorders. 14(2): 93.
111. Kumar, V., Choudhry, V. P. (2010.): Iron deficiency and infection. The Indian Journal of Pediatrics. 77(7): 789-793.
112. Lakshmeesha, D. R. (2022.): Study to Assess the Efficacy of Wheatgrass Juice Therapy Intervention on Haemoglobin Level in Adolescent Anaemic Females. Indo Global Journal of Pharmaceutical Sciences (IGJPS). 12: 30-35.
113. Laktašić-Žerjavić, N., Koršić, M., Crnčević-Orlić, Ž., Anić, B. (2011.): Vitamin D: vitamin prošlosti, hormon budućnosti. Liječnički vjesnik. 133(5-6).
114. Lara, T. S., de Lima Lessa, J. H., de Souza, K. R. D., Corguinha, A. P. B., Martins, F. A. D., Lopes, G., Guilherme, L. R. G. (2019.): Selenium biofortification of wheat grain via foliar application and its effect on plant metabolism. Journal of Food Composition and Analysis. 81: 10-18.
115. Lea, T. (2015.): Caco-2 cell line. The impact of food bioactives on health. 103-111.
116. Li, C., Yu, W., Wu, P., Chen, X. D. (2020.): Current in vitro digestion systems for understanding food digestion in human upper gastrointestinal tract. Trends in Food Science & Technology. 96: 114-126.
117. Li, F., Hong, L., Mau, C. I., Chan, R., Hendricks, T., Dvorak, C., Yee, C., Harris, J.,

Alfredson, T. (2006.): Transport of levovirin prodrugs in the human intestinal Caco-2 cell line. Journal of pharmaceutical sciences. 95(6): 1318-1325.

118. Li, H. F., McGrath, S. P., Zhao, F. J. (2008.): Selenium uptake, translocation and speciation in wheat supplied with selenate or selenite. New Phytologist. 178(1): 92-102.
119. Lindinger, M. I., Cairns, S. P. (2021.): Regulation of muscle potassium: exercise performance, fatigue and health implications. European Journal of Applied Physiology. 121(3): 721-748.
120. Lončarić, Z., Kadar, I., Jurković, Z., Kovačević, V., Popović, B., Karalić, K. (2012.): Teški metali od polja do stola. In Proc. 47th Croatian International Symposium on Agriculture, Opatija, Croatia. 14: 14-32
121. Long, S., Romani, A. M. (2014.): Role of cellular magnesium in human diseases. Austin journal of nutrition and food sciences. 2(10).
122. Lowe, N. M. (2021.): The global challenge of hidden hunger: Perspectives from the field. *Proceedings of the Nutrition Society*. *80*(3): 283-289.
123. Lyons, G., Cakmak, I. (2012.): Agronomic biofortification of food crops with micronutrients. Fertilizing crops to improve human health: a scientific review. 1: 97-122.
124. Ma, G., Jin, Y., Li, Y., Zhai, F., Kok, F. J., Jacobsen, E., Yang, X. (2008.): Iron and zinc deficiencies in China: what is a feasible and cost-effective strategy?. Public Health Nutrition. 11(6): 632-638.
125. Maares, M., Haase, H. (2020.): A guide to human zinc absorption: General overview and recent advances of in vitro intestinal models. Nutrients. 12(3): 762.
126. Mackenzie, B., Garrick, M. D. (2005.): Iron Imports. II. Iron uptake at the apical membrane in the intestine. American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology. 289(6): 981-986.
127. Mackie, A., Rigby, N., Macierzanka, A., Bajka, B. (2015.): Approaches to static digestion models. The impact of food bioactives on health. 23-31.
128. Maltzahn, L. E., Zenker, S. G., Lopes, J. L., Pereira, R. M., Verdi, C. A., Rother, V., Busanello, C., Viana, V. V., Batista, B. L., Costa de Olivieira, A., Pegoraro, C. (2021.): Brazilian genetic diversity for desirable and undesirable elements in the wheat grain. Biological Trace Element Research. 199(6): 2351-2365.
129. Manojlović, M. S., Lončarić, Z., Cabilovski, R. R., Popović, B., Karalić, K., Ivezić, V., Ademi, A., Singh, B. R. (2019.): Biofortification of wheat cultivars with selenium. Acta Agriculturae Scandinavica, Section B—Soil & Plant Science. 69(8): 715-724.

130. Maqbool, M. A., Aslam, M., Akbar, W., Iqbal, Z. (2017.): Biological importance of vitamins for human health: A review. J. Agric. Basic Sci, 2(3): 50-58.
131. Markowska, M., Oberle, R., Juzwin, S., Hsu, C. P., Gryszkiewicz, M., Streeter, A. J. (2001.): Optimizing Caco-2 cell monolayers to increase throughput in drug intestinal absorption analysis. Journal of pharmacological and toxicological methods. 46(1): 51-55.
132. Marwaha, R. K., Bansal, D., Kaur, S., Trehan, A. (2004.): Wheat grass juice reduces transfusion requirement in patients with thalassemia major: a pilot study. Indian Pediatr. 41(7): 716-720.
133. Mathur, S., Mathur, R., Kohli, G. K. (2017.): Therapeutic use of wheat grass juice for the treatment of anemia in young women of Ajmer city (Rajasthan, India). Internat. J. Nutrit. Sci. 2(1): 1014.
134. McCabe, S. M., Zhao, N. (2021.): The Potential Roles of Blood–Brain Barrier and Blood–Cerebrospinal Fluid Barrier in Maintaining Brain Manganese Homeostasis. Nutrients. 13(6): 1833.
135. Medač, P. (2020.): Apsorpcija i biološka aktivnost enzimski tretiranih i netretiranih ekstrakata pšenične trave (Triticum aestivum Linn), diplomski rad, diplomski, Medicinski fakultet Osiijek, Osijek.
136. Mehdi, Y., Hornick, J. L., Istasse, L., Dufrasne, I. (2013.): Selenium in the environment, metabolism and involvement in body functions. Molecules. 18(3): 3292-3311.
137. Michalke, B., Halbach, S., Nischwitz, V. (2007.): Speciation and toxicological relevance of manganese in humans. Journal of Environmental Monitoring. 9(7): 650-656.
138. Mickisch, G., Fajta, S., Bier, H., Tschada, R., Alken, P. (1991.): Cross-resistance patterns related to glutathione metabolism in primary human renal cell carcinoma. Urological research. 19(2): 99-103.
139. Miller, G. D., Anderson, J. J. (1999.): The role of calcium in prevention of chronic diseases. Journal of the American College of Nutrition. 18(5): 371-372.
140. Miller, G. D., Jarvis, J. K., McBean, L. D. (2001.): The importance of meeting calcium needs with foods. Journal of the American College of Nutrition. 20(2): 168-185.
141. Minekus, M., Alminger, M., Alvito, P., Ballance, S., Bohn, Bourlieu, C., Carriere, F., Boutrou, R., Corredig, M., Dupont, D., Dufour, C., Egger, L., Golding, M., Karakaya, B., Le Feunteun, S., Lemes, U., Macierzanka, A., Mackie, A., Marze, S., McClements, D. J., Menard, O., Recio, I., Santos, C. N., Singh, R.P., Vegarud, G. E., Wickham, M. S. J., Weitschies, Brodkorb, A. (2014.): A standardised static in vitro digestion method suitable

for food–an international consensus. Food & function. 5(6): 1113-1124.

142. Mišković, K. (2012.): Biološki učinci novih monometinskih cijaninskih derivata. Doktorska disertacija.
143. Mousavi, S. R., Galavi, M., Rezaei, M. (2013.): Zinc (Zn) importance for crop production—a review. International Journal of Agronomy and Plant Production. 4(1): 64-68.
144. Mujoriya, R., Bodla, R. B. (2011.): A study on wheat grass and its nutritional value. Food Science and Quality Management. 2: 1-8.
145. Navarro-Alarcon, M., Cabrera-Vique, C. (2008.): Selenium in food and the human body: a review. Science of the total environment. 400(1-3): 115-141.
146. Nasiadek, M., Stragierowicz, J., Klimczak, M., Kilanowicz, A. (2020.): The role of zinc in selected female reproductive system disorders. Nutrients. 12(8): 2464.
147. Ortiz-Monasterio, J. I., Palacios-Rojas, N., Meng, E., Pixley, K., Trethowan, R., Pena, R. J. (2007.): Enhancing the mineral and vitamin content of wheat and maize through plant breeding. Journal of Cereal Science. 46(3): 293-307.
148. Ozturk, L., Yazici, M. A., Yucel, C., Torun, A., Cekic, C., Bagci, A., Ozkan, H., Braun, H. J., Sayers, Z., Cakmak, I. (2006.): Concentration and localization of zinc during seed development and germination in wheat. Physiologia Plantarum. 128(1): 144-152.
149. Padalia, S., Drabu, S., Raheja, I., Gupta, A., Dhamija, M. (2010.): Multitude potential of wheatgrass juice (Green Blood): An overview. Chronicles of young scientists. 1(2): 23-28.
150. Palacios, C. (2006.): The role of nutrients in bone health, from A to Z. Critical reviews in food science and nutrition. 46(8): 621-628.
151. Pandey, A., Khan, M. K., Hakki, E. E., Thomas, G., Hamurcu, M., Gezgin, S., Gizlenci, O., Akkaya, M. S. (2016.): Assessment of genetic variability for grain nutrients from diverse regions: potential for wheat improvement. SpringerPlus. 5(1): 1-11.
152. Papp, L. V., Lu, J., Holmgren, A., Khanna, K. K. (2007.): From selenium to selenoproteins: synthesis, identity, and their role in human health. Antioxidants & redox signaling. 9(7): 775-806.
153. Phattarakul, N., Rerkasem, B., Li, L. J., Wu, L. H., Zou, C. Q., Ram, H., Sohu, V. S., Kang, B. S., Surek, H., Kalayci, M., Yazici, A., Zhang, F. S., Cakmak, I. (2012). Biofortification of rice grain with zinc through zinc fertilization in different countries. Plant and Soil, 361(1): 131-141.

154. Philipp Schuchardt, J., Hahn, A. (2017.): Intestinal absorption and factors influencing bioavailability of magnesium-an update. Current Nutrition & Food Science. 13(4): 260-278.
155. Petek, M., Karažija, T., Fabek Uher, S., Vrankić, I., Herak Ćustić, M., Jajetić, A. (2018.): Količina kalcija u narančasto obojenom korijenu mrkve na tržištu Grada Zagreba. Agronomski glasnik: Glasilo Hrvatskog agronomskog društva. 80(6): 403-416.
156. Pilon-Smits, E. A., Quinn, C. F., Tapken, W., Malagoli, M., Schiavon, M. (2009.): Physiological functions of beneficial elements. Current opinion in plant biology. 12(3): 267-274.
157. Power, M. L., Heaney, R. P., Kalkwarf, H. J., Pitkin, R. M., Repke, J. T., Tsang, R. C., Schulkin, J. (1999.): The role of calcium in health and disease. American journal of obstetrics and gynecology. 181(6): 1560-1569.
158. Prajapati, K., Modi, H. A. (2012.): The importance of potassium in plant growth–a review. Indian Journal of Plant Sciences. 1(02-03): 177-186.
159. Prasad, A. S. (1996.): Zinc deficiency in women, infants and children. Journal of the American College of Nutrition. 15(2): 113-120.
160. Prasad, S. S., Prasad, S. B., Verma, K., Mishra, R. K., Kumar, V., Singh, S. (2021.): The role and significance of Magnesium in modern day research-A review. Journal of Magnesium and Alloys. 10(1): 1-61.
161. Pravina, P., Sayaji, D., Avinash, M. (2013.): Calcium and its role in human body. International Journal of Research in Pharmaceutical and Biomedical Sciences. 4(2): 659-668.
162. Quamme, G. A. (2008.): Recent developments in intestinal magnesium absorption. Current opinion in gastroenterology. 24(2): 230-235.
163. Rahman, R., Hiregoudar, S., Veeranagouda, M., Ramachandra, C. T., Nidoni, U., Roopa, R. S., Kowalski, R. J., Ganjyal, G. M. (2015.:. Effects of wheat grass powder incorporation on physiochemical properties of muffins. *International journal of food properties*. *18*(4): 785-795.
164. Rajoria, A., Mehta, A., Mehta, P., Ahirwal, L., Shukla, S., Bajpai, V. K. (2017.): Evaluation of antiproliferative and hepatoprotective effects of wheat grass (Triticum aestivum). Acta Biologica Hungarica. 68(2): 150-161.
165. Ramzan, Y., Hafeez, M. B., Khan, S., Nadeem, M., Batool, S., Ahmad, J. (2020.): Biofortification with zinc and iron improves the grain quality and yield of wheat crop.

International Journal of Plant Production. 14(3): 501-510.

166. Ramzani, P. M. A., Khalid, M., Anjum, S., Khan, W. U. D., Iqbal, M., Kausar, S. (2017.): Improving iron bioavailability and nutritional value of maize (Zea mays L.) in sulfur-treated calcareous soil. Archives of Agronomy and Soil Science. 63(9): 1255-1266.
167. Ratajczak, A. E., Rychter, A. M., Zawada, A., Dobrowolska, A., Krela-Kaźmierczak, I. (2021.): Do Only Calcium and Vitamin D Matter? Micronutrients in the Diet of Inflammatory Bowel Diseases Patients and the Risk of Osteoporosis. Nutrients. 13(2): 525.
168. Rawat, N., Tiwari, V. K., Singh, N., Randhawa, G. S., Singh, K., Chhuneja, P., Dhaliwal, H. S. (2009.): Evaluation and utilization of Aegilops and wild Triticum species for enhancing iron and zinc content in wheat. Genetic Resources and Crop Evolution. 56(1): 53-64.
169. Rayman, M. P. (2012.): Selenium and human health. The Lancet. 379(9822): 1256-1268.
170. Rayman, M. P. (2008.): Food-chain selenium and human health: emphasis on intake. British journal of nutrition. 100(2): 254-268.
171. Ricov, M., Salai, G., Sigur, V., Šerić, A., Bašić-Jukić, N. (2021): Poremećaj regulacije magnezija u bolesnika s kroničnom bubrežnom bolesti. Acta Medica Croatica: Časopis Akademije Medicinskih Znanosti Hrvatske. 75(1): 41-51.
172. Ritchie, H., Roser, M. (2017.): Micronutrient deficiency. Our World in data.
173. Roberfroid M.B. (2000). Defining functional foods. Functional foods Concept to product, Gibson G. R., Williams C. M (eds.), 9-25. Cambridge, Engkand: Woodhead Publishing Limited and CRC Press LLC
174. Roohani, N., Hurrell, R., Kelishadi, R., Schulin, R. (2013.): Zinc and its importance for human health: An integrative review. Journal of research in medical sciences: the official journal of Isfahan University of Medical Sciences. 18(2): 144-157.
175. Ross, A. C., Manson, J. E., Abrams, S. A., Aloia, J. F., Brannon, P. M., Clinton, S. K., Durazo-Arvizu, R. A., Gallagher, C., Gallo, R. L., Jones, G., Kovacs, C. S., Mayne, S. T., Rosen, C. J., Shapses, S. A. (2011.): The 2011 Dietary Reference Intakes for Calcium and Vitamin D: what dietetics practitioners need to know. Journal of the American Dietetic Association. 111(4): 524-527.
176. Russell, R., Beard, J. L., Cousins, R. J., Dunn, J. T., Ferland, G., Hambidge, K. M., Lynch, S., Penland, J. G., Ross, A. C., Stoeker, B. J., Suttie, J. W., Turnlund, J. R., West, K. P., Zlotkin, S. H. (2001.): Dietary reference intakes for vitamin A, vitamin K, arsenic,

boron, chromium, copper, iodine, iron, manganese, molybdenum, nickel, silicon, vanadium, and zinc. A Report of the Panel on Micronutrients, Subcommittees on Upper Reference Levels of Nutrients and of Interpretation and Uses of Dietary Reference Intakes, and the Standing Committee on the Scientific Evaluation of Dietary Reference Intakes Food and Nutrition Board Institute of Medicine. 1-28.

177. Saltzman, A., Birol, E., Bouis, H. E., Boy, E., De Moura, F. F., Islam, Y., Pfeiffer, W. H. (2013.): Biofortification: progress toward a more nourishing future. Global Food Security. 2(1): 9-17.
178. Salwen, M. J. (2017.): Vitamins and trace elements. Henry's clinical diagnosis management by laboratory methods. Clinical Chemistry. McPherson, R. A., Pincus, M. R. Elsevier Health Sciences. 416-427.
179. Sambuy, Y., De Angelis, I., Ranaldi, G., Scarino, M. L., Stammati, A., Zucco, F. (2005.): The Caco-2 cell line as a model of the intestinal barrier: influence of cell and culture-related factors on Caco-2 cell functional characteristics. Cell biology and toxicology. 21(1): 1-26.
180. Sandberg, A. S. (2005.): Methods and options for in vitro dialyzability; benefits and limitations. International journal for vitamin and nutrition research. 75(6): 395-404.
181. Save, S., Chander, H., Patil, M., Singh, S., Satti, N. K., Chaturbhuj, G., Clement, B. (2019.): In-vitro anti-cancer and in-vivo immunomodulatory activity of two new compounds isolated from wheatgrass (Triticum aestivum L.). Indian Journal of Natural Products and Resources. 10(1): 9-22.
182. Schmidt, S. B., Husted, S. (2019.): The biochemical properties of manganese in plants. Plants. 8(10): 381.
183. Schmidt, S. B., Pedas, P., Laursen, K. H., Schjoerring, J. K., Husted, S. (2013.): Latent manganese deficiency in barley can be diagnosed and remediated on the basis of chlorophyll a fluorescence measurements. Plant and Soil. 372(1): 417-429.
184. Schomburg, L., Köhrle, J. (2008.): On the importance of selenium and iodine metabolism for thyroid hormone biosynthesis and human health. Molecular nutrition & food research. 52(11): 1235-1246.
185. Seim, G. L., Ahn, C. I., Bodis, M. S., Luwedde, F., Miller, D. D., Hillier, S., Tako, E., Glahn, R. P., Young, S. L. (2013.): Bioavailability of iron in geophagic earths and clay minerals, and their effect on dietary iron absorption using an in vitro digestion/Caco-2 cell model. Food & function. 4(8): 1263-1270.

186. Shah, K. V., Thumber, B. L., Desai, T. R. (2011.): Investigation into therapeutic role of Triticum aestivum (wheat) grass in busulfan induce thrombocytopenia. Internationa Journal of Universal Pharmacy and Life Sciences. 1 (1): 85 – 97.
187. Shakya, G., Balasubramanian, S., Hoda, M., Rajagopalan, R. (2018.): Inhibition of metastasis and angiogenesis in Hep-2 cells by wheatgrass extract–an in vitro and in silico approach. Toxicology Mechanisms and Methods. 28(3): 205-218.
188. Sharma, S., Shrivastav, V. K., Shrivastav, A., Shrivastav, B. R. (2013.): Therapeutic potential of wheat grass (Triticum aestivum L.) for the treatmentof chronic diseases. South Asian J Exp Biol. 3(6): 308-13.
189. Singh, K., Pannu, M. S., Singh, P., Singh, J. (2010.): Effect of wheat grass tablets on the frequency of blood transfusions in thalassemia major. The Indian Journal of Pediatrics. 77(1): 90-91.
190. Soetan, K. O., Olaiya, C. O., Oyewole, O. E. (2010.): The importance of mineral elements for humans, domestic animals and plants-A review. African journal of food science. 4(5): 200-222.
191. Srinivasan, B., Kolli, A. R., Esch, M. B., Abaci, H. E., Shuler, M. L., Hickman, J. J. (2015.): TEER measurement techniques for in vitro barrier model systems. Journal of laboratory automation. 20(2): 107-126.
192. Sturikova, H., Krystofova, O., Huska, D., Adam, V. (2018.): Zinc, zinc nanoparticles and plants. Journal of hazardous materials. 349: 101-110.
193. Subramaniam, G., Girish, M. (2015.): Iron deficiency anemia in children. The Indian Journal of Pediatrics. 82(6): 558-564.
194. Sun, H., Chow, E. C., Liu, S., Du, Y., Pang, K. S. (2008.): The Caco-2 cell monolayer: usefulness and limitations. Expert opinion on drug metabolism & toxicology. 4(4): 395-411.
195. Tandon, S., Arora, A., Singh, S., Monga, J., Arora, S. (2011.): Antioxidant profiling of Triticum aestivum (wheatgrass) and its antiproliferative activity in MCF-7 breast cancer cell line. Journal of Pharmacy Research. 4(12): 4601-4604.
196. Terry, N., Zayed, A. M., De Souza, M. P., Tarun, A. S. (2000.): Selenium in higher plants. Annual review of plant biology. 51(1): 401-432.
197. Thakur, N., Raigond, P., Singh, Y., Mishra, T., Singh, B., Lal, M. K., Dutt, S. (2020.): Recent updates on bioaccessibility of phytonutrients. Trends in Food Science & Technology. 97: 366-380.

198. Thuenemann, E. C. (2015.): Dynamic digestion models: General introduction. The impact of food bioactives on health. 33-36.
199. Tian, X. Y., He, D. D., Bai, S., Zeng, W. Z., Wang, Z., Wang, M., Wu, L. Q., Chen, Z. C. (2021.): Physiological and molecular advances in magnesium nutrition of plants. Plant and Soil. 468(1): 1-17.
200. Tuteja, N., Mahajan, S. (2007.): Calcium signaling network in plants: an overview. Plant signaling & behavior. 2(2): 79-85.
201. Ulukan, H. (2011.): The use of plant genetic resources and biodiversity in classical plant breeding. Acta Agriculturae Scandinavica Section B–Soil and Plant Science. 61(2): 97-104.
202. UNSCN 2005.: https://www.unscn.org/files/Publications/RWNS6/report/SCN_report.pdf
203. Van der Velde, R. Y., Brouwers, J. R., Geusens, P. P., Lems, W. F., van den Bergh, J. P. (2014.): Calcium and vitamin D supplementation: state of the art for daily practice. Food & nutrition research. 58(1): 21796.
204. Verbruggen, N., Hermans, C. (2013.): Physiological and molecular responses to magnesium nutritional imbalance in plants. Plant and soil. 368(1): 87-99.
205. Vigneshwaran, M., Saud, R. K., Borah, K., Sekhar, S. (2020.): Bio fortification in cereals is a promising approach to improve nutrition. Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry. 9(2): 1222-1229.
206. Volpe, S. L. (2013.): Magnesium in disease prevention and overall health. Advances in nutrition. 4(3): 378S-383S.
207. Vukadinović, V., Jug, I., Đurđević, B. (2014.): Ekofiziologija bilja. Sveučilišni udžbenik. Neformalna savjetodavna služba, Osijek.
208. Vukadinović, V., Lončarić, Z. (1998.): Ishrana bilja. Poljoprivredni fakultet u Osijeku, Osijek.
209. Vukadinović, V., Vukadinović, V. (2011.): Ishrana bilja. Poljoprivredni fakultet, Osijek.
210. Walker, E. L., Connolly, E. L. (2008.): Time to pump iron: iron-deficiency-signaling mechanisms of higher plants. Current opinion in plant biology. 11(5): 530-535.
211. Wang, J., Wang, Z., Mao, H., Zhao, H., Huang, D. (2013.): Increasing Se concentration in maize grain with soil-or foliar-applied selenite on the Loess Plateau in China. *Field Crops Research*. *150*: 83-90.
212. Wang, Y. H., Zou, C. Q., Mirza, Z., Li, H., Zhang, Z. Z., Li, D. P., Xu, C. L., Zhou, X.

B., Shi, X. J., Xie, D. T., He, X. H., Zhang, Y. Q. (2016.): Cost of agronomic biofortification of wheat with zinc in China. Agronomy for Sustainable Development. 36(3): 1-7.

213. Wang, Y., Xie, D., Li, J., Long, H., Wu, J., Wu, Z., He, H., Wang, H., Yang, T., Wang, Y. (2019.): Association between dietary selenium intake and the prevalence of osteoporosis: a cross-sectional study. BMC musculoskeletal disorders. 20(1): 1-8.
214. Whanger, P. D. (2004.): Selenium and its relationship to cancer: an update. British journal of nutrition. 91(1): 11-28.
215. White, P. J. (2016.): Selenium accumulation by plants. Annals of botany. 117(2): 217-235.
216. White, P. J., Broadley, M. R. (2003.): Calcium in plants. Annals of botany. 92(4): 487-511.
217. World Health Organization. (2001). Vitamin A deficiency and iodine deficiency disorders: prevalence estimates for the global burden of disease. Micronutrient Deficiency Information System (MDIS).
218. World Health Organization. (2020). (a). WHO report on cancer: setting priorities, investing wisely and providing care for all.
219. World Health Organization. (2020). (b). The state of food security and nutrition in the world 2020: transforming food systems for affordable healthy diets (Vol. 2020). Food & Agriculture Org. (link: https://www.who.int/news/item/13-07-2020-as-more-go-hungry-and-malnutrition-persists-achieving-zero-hunger-by-2030-in-doubt-un-report-warns).
220. Xia, Q., Yang, Z. P., Xue, N. W., Dai, X. J., Zhang, X., Gao, Z. Q. (2019.): Effect of foliar application of selenium on nutrient concentration and yield of colored-grain wheat in China. *Appl. Ecol. Environ. Res. 17*(2): 2187-2202.
221. Xia, X. J., Zhou, Y. H., Shi, K., Zhou, J., Foyer, C. H., Yu, J. Q. (2015.): Interplay between reactive oxygen species and hormones in the control of plant development and stress tolerance. Journal of experimental botany. 66(10): 2839-2856.
222. Yamada, S., Inaba, M. (2021.): Potassium Metabolism and Management in Patients with CKD. Nutrients. 13(6): 1751.
223. Young, D. B. (2012.): Role of potassium in preventive cardiovascular medicine (Vol. 8). Springer Science & Business Media.
224. Yuniarti, E., Achyar, A., Amimi, S. (2020.): Effect of Planting Media and Different Concentration of Wheat Grass Juice (Triticum aestivum L.) on Anemic Male Mice (Mus

musculus L.) Leukocytes. In International Conference on Biology, Sciences and Education (ICoBioSE 2019) Atlantis Press. 5-9.

225. Zafar, M. U., Ping, Q., Matloob, A., Zahoor, T. (2018.): Analysis of economic burden and cost benefit of food fortification in relation to malnutrition in Pakistan. Pakistan Journal of Agricultural Sciences. 55(3): 583-588.
226. Zeng, H., Cao, J. J., Combs, G. F. (2013.): Selenium in bone health: roles in antioxidant protection and cell proliferation. Nutrients. 5(1): 97-110.
227. Zhang, B., Cakmak, I., Feng, J., Yu, C., Chen, X., Xie, D., Wu, L., Song, Z., Cao, J., He, Y. (2020.): Magnesium deficiency reduced the yield and seed germination in wax gourd by affecting the carbohydrate translocation. Frontiers in Plant Science. 11: 797.
228. Zhang, H., Mittal, N., Leamy, L. J., Barazani, O., Song, B. H. (2017.): Back into the wild—Apply untapped genetic diversity of wild relatives for crop improvement. *Evolutionary Applications*. *10*(1): 5-24.
229. Zhang, Y. Q., Sun, Y. X., Ye, Y. L., Karim, M. R., Xue, Y. F., Yan, P., Meng, Q. F., Cui, Z. L., Cakmak, I., Zhang, F. S., Zou, C. Q. (2012.): Zinc biofortification of wheat through fertilizer applications in different locations of China. Field Crops Research. 125: 1-7.
230. Zhao, A. Q., Tian, X. H., Cao, Y. X., Lu, X. C., Liu, T. (2014.): Comparison of soil and foliar zinc application for enhancing grain zinc content of wheat when grown on potentially zinc-deficient calcareous soils. Journal of the Science of Food and Agriculture. 94(10): 2016-2022.
231. Zhao, F. J., Su, Y. H., Dunham, S. J., Rakszegi, M., Bedo, Z., McGrath, S. P., Shewry, P. R. (2009.): Variation in mineral micronutrient concentrations in grain of wheat lines of diverse origin. Journal of cereal science. 49(2): 290-295.
232. Zheng, Y., Jia, A., Ning, T., Xu, J., Li, Z., Jiang, G. (2008.): Potassium nitrate application alleviates sodium chloride stress in winter wheat cultivars differing in salt tolerance. Journal of plant physiology. 165(14): 1455-1465.
233. Zimmermann, M. B. (2009.): Iodine deficiency. Endocrine reviews. 30(4): 376-408.
234. Zou, C., Du, Y., Rashid, A., Ram, H., Savasli, E., Pieterse, P. J., Ortiz-Monasterio, I., Yazici, A., Kaur, C., Mahmood, K., Singh, S., LeRoux, M. R.., Kuang, W., Onder, O., Kalayci, M., Cakmak, I. (2019.): Simultaneous biofortification of wheat with zinc, iodine, selenium, and iron through foliar treatment of a micronutrient cocktail in six countries. Journal of agricultural and food chemistry. 67(29): 8096-8106.
235. Zou, C. Q., Zhang, Y. Q., Rashid, A., Ram, H., Savasli, E., Arisoy, R. Z., Ortiz-

Monasterio, I., Simunji, S., Wang, Z. H., Sohu, V., Hassan, M., Kaya, Y., Onder, O., Lungu, O., Yaqub Mujahid, M., Joshi, A. K., Zelenskiy, Y., Zhang, F. S., Cakmak, I. (2012.): Biofortification of wheat with zinc through zinc fertilization in seven countries. *Plant and soil*. *361*(1): 119-130.

7. SAŽETAK

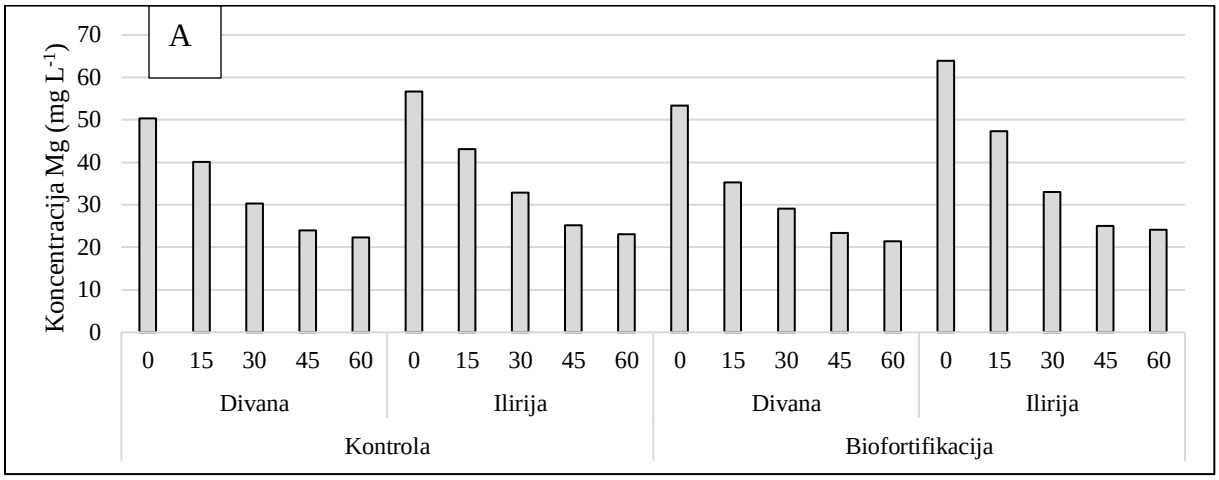
Cilj ovog istraživanja je ispitati varijabilnost genotipova pšenice na temelju ukupnih i *in vitro* bioraspoloživih koncentracija K, Ca, Mg, Mn, Fe, Zn i Se u soku pšenične trave. Zatim, ispitivao se utjecaj biofortifikacije cinkom i selenom te utjecaj različitih termina žetve na ukupne in vitro bioraspoložive koncentracije K, Ca, Mg, Mn, Fe, Zn i Se u soku i prahu pšenične trave izabranih genotipova pšenice. Provedenim istraživanjem izdvojiti će se genotipovi pšenice koji su s obzirom na mineralni sastav prikladni za uzgoj pšenične trave. Preliminarnim istraživanjem ispitana je genetska varijabilnost s obzirom na ukupne i *in vitro* bioraspoložive koncentracije K, Ca, Mg, Mn, Fe, Zn i Se na ukupno 98 sorti pšenice i 5 divljih srodnika. Na temelju preliminarnog istraživanja izabrano je 10 genotipova pšenice za poljski pokus u kojem su tijekom vegetacijskog uzgoja bili izloženi folijarnoj aplikaciji cinka i selena, a iz biofortificiranog zrna uzgajala se pšenična trava za daljnji tijek istraživanja. Ukupne koncentracije ispitivanih elemenatata određene su standardnom metodom razaranja, a za određivanje bioraspoloživih koncentracija provedena je simulacija probave *in vitro*. Provedenim istraživanjem utvrđena je velika varijabilnost između ispitivanih genotipova s obzirom na ukupne i *in vitro* bioraspoložive koncentracije ispitivanih elemenata. Također, najveća varijabilnost kod ukupnih koncentracija utvrđena je za K, a kod *in vitro* bioraspoloživih koncentracija za Zn, K i Fe. Analizom varijance utvrđeno je da primjenjena biofortifikacija Zn i Se ima statistički značajan utjecaj ($p < 0,001$) na ukupne koncentracije K, Mn, Fe, Zn i Se i *in vitro* bioraspoložive koncentracije Ca, Mg, Mn, Fe, Zn i Se u soku pšenične trave. Nadalje, biofortifikacija Zn i Se imala je i statistički značajan utjecaj ($p < 0,001$) na ukupne koncentracije K, Mn, Zn i Se i *in vitro* bioraspoložive koncentracije Ca, Mg, Mn, Fe, Zn i Se u prahu pšenične trave. Statistički značajan utjecaj ($p < 0,001$) na ukupne koncentracije Ca, Mg, K, Mn, Fe, Zn i Se i *in vitro* bioraspoložive koncentracije Ca, Mg, Mn, Fe i Zn u soku pšenične trave utvrđen je i kod različitog termina žetve. Provedenim istraživanjem utvrđena je veća *in vitro* bioraspoloživost svih ispitanih elemenata u svježem soku u odnosu na prah pšenične trave.

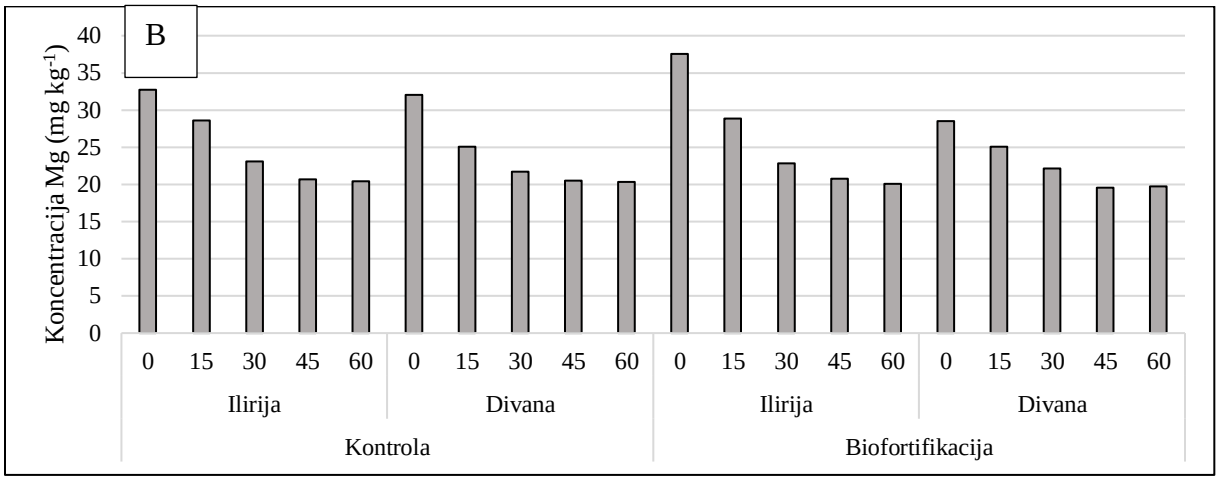
8. SUMMARY

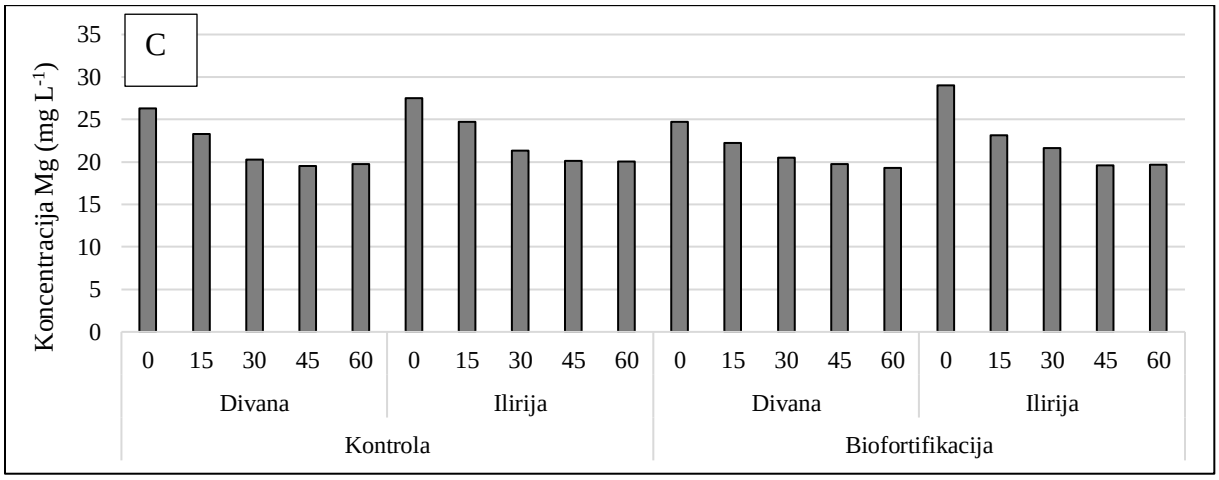
The aim of this research is to examine the variability of wheat genotypes based on total and *in vitro* bioavailable concentrations of K, Ca, Mg, Mn, Fe, Zn and Se in wheatgrass juice. In addition, the impact of biofortification with zinc and selenium and the impact of different harvest dates on the total *in vitro* bioavailable concentrations of K, Ca, Mg, Mn, Fe, Zn and Se in the juice and powder of wheatgrass of selected wheat genotypes were examined. The conducted research will identify wheat genotypes that are suitable for the cultivation of wheat grass due to their mineral composition. Preliminary research examined genetic variability with regard to total and *in vitro* bioavailable concentrations of K, Ca, Mg, Mn, Fe, Zn and Se on a total of 98 wheat cultivars and 5 wild relatives. On the basis of preliminary research, 10 wheat genotypes were chosen for the field experiment in which they were exposed to foliar application of zinc and selenium during vegetation cultivation, and from biofortified grain wheatgras was grown for futher research. The total concentrations of the tested elements were determined by the standard destruction method, and to determine the bioavailable concentrations, and *in vitro* verification simulation was carried out. The conducted research revealed a large variability between the tested genotypes with regard to the total and *in vitro* bioavailable concentrations of the tested elements. Also, the greatest variability in total concentrations was determined for K, and *in vitro* bioavailable concentrations for Zn, K and Fe. Analysis of variance revealed that applied biofortification of Zn and Se has a statistically significant effect ($p < 0.001$) on total concentrations of K, Mn, Fe, Zn and Se and *in vitro* bioavailable concentrations of Ca, Mg, Mn, Fe, Zn and Se in wheatgrass juice. Furthermore, biofortification of Zn and Se had a statistically significant effect ($p < 0.001$) on the total concentrations of K, Mn, Zn and Se and *in vitro* bioavailable concentrations of Ca, Mg, Mn, Fe, Zn and Se in wheatgrass powder. A statistically significant influence ($p < 0.001$) on the total concentrations of Ca, Mg, K, Mn, Fe, Zn and Se and *in vitro* bioavailable concentrations of Ca, Mg, Mn, Fe and Zn in wheatgrass juice was also determined at different harvest dates. The conducted research determined a higher *in vitro* bioavailability of all tested elements in fresh juice compared to wheatgrass powder.

9. PRILOG

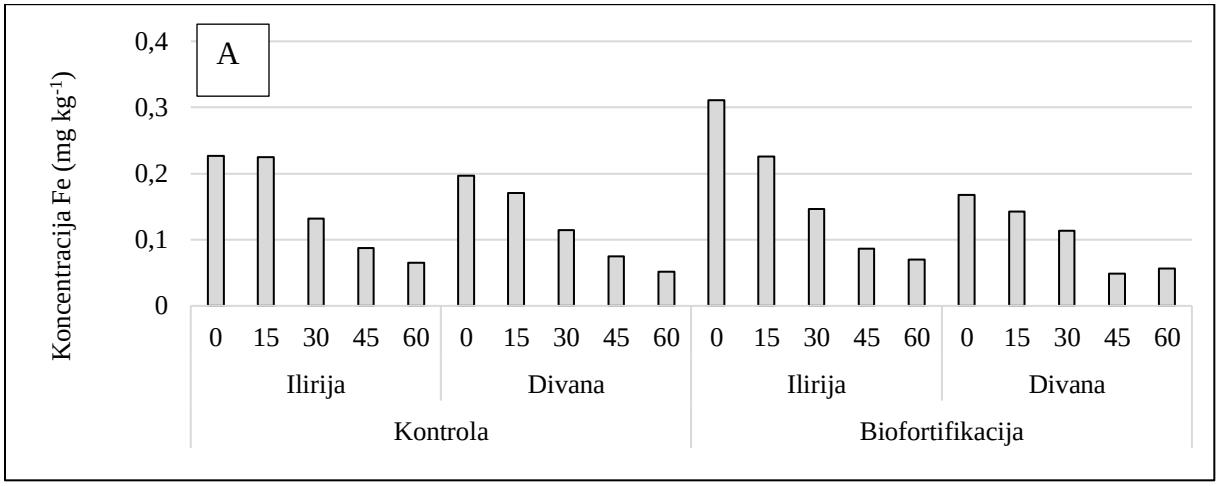
Grafikon 7. Dinamika apsorpcije Mg nakon 0, 15, 30, 45 i 60 min u Caco-2 staničnu liniju iz praha (A), svježeg soka (B) i soka pšenične trave nakon simulacije probave *in vitro* (C)

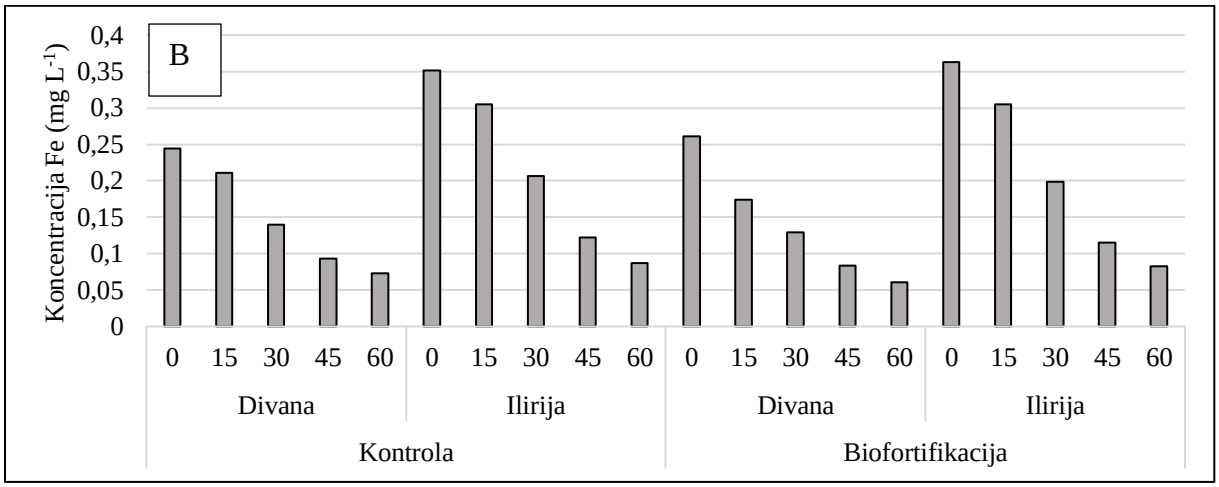


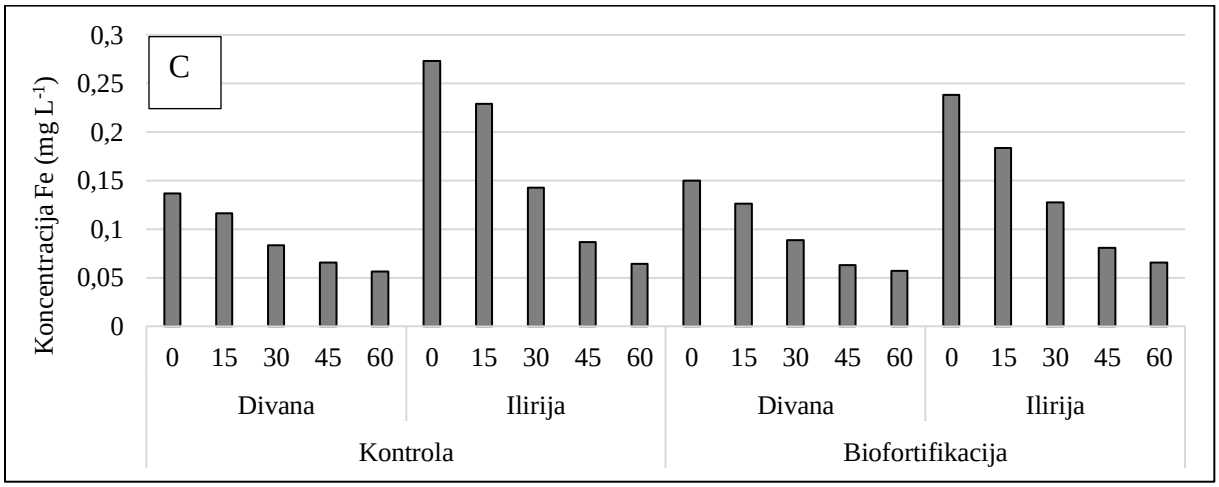




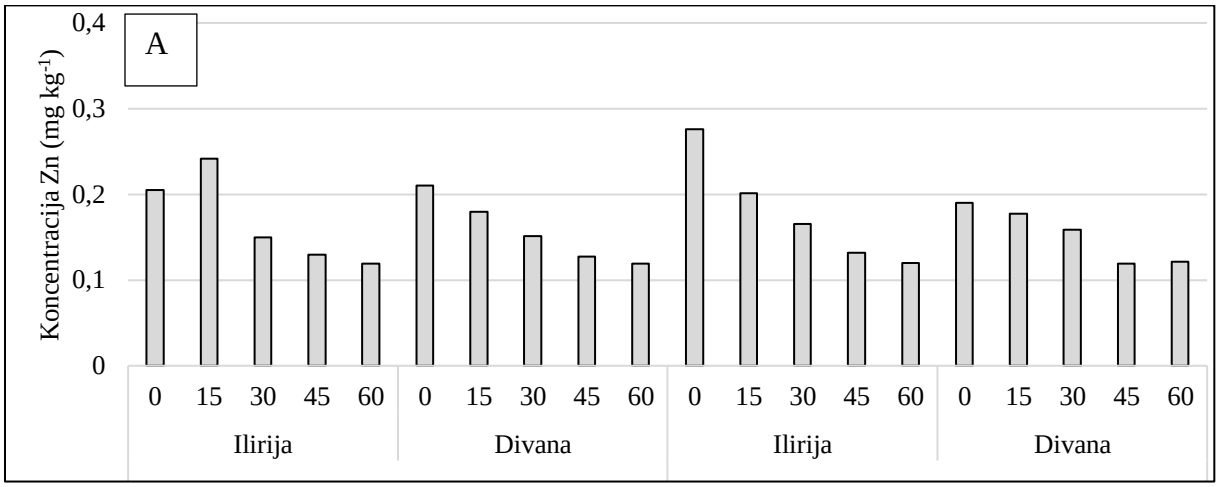
Grafikon 8. Dinamika apsorpcije Fe nakon 0, 15, 30, 45 i 60 min u Caco-2 staničnu liniju iz praha (A), svježeg soka (B) i soka pšenične trave nakon simulacije probave *in vitro* (C)

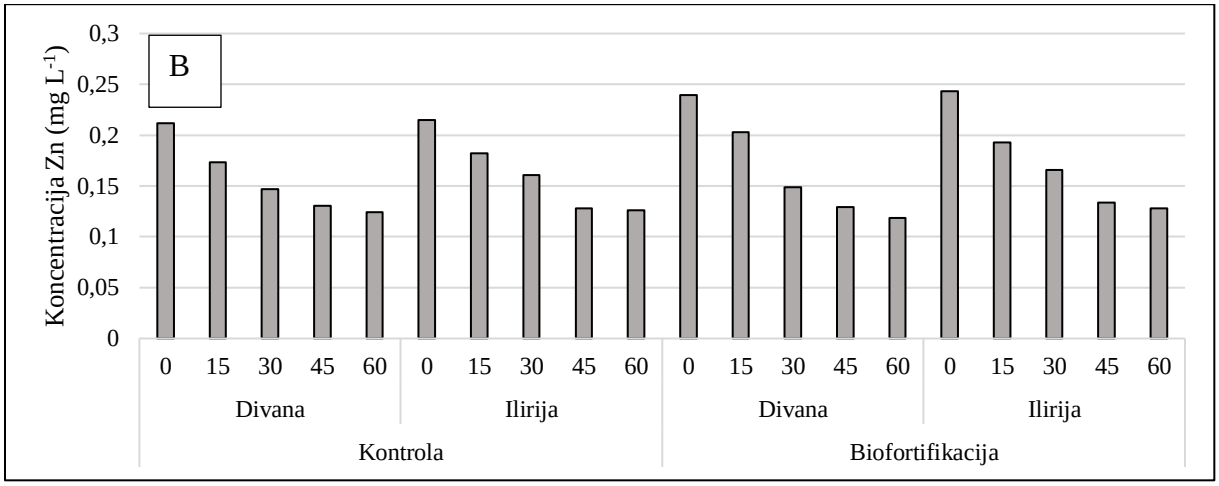


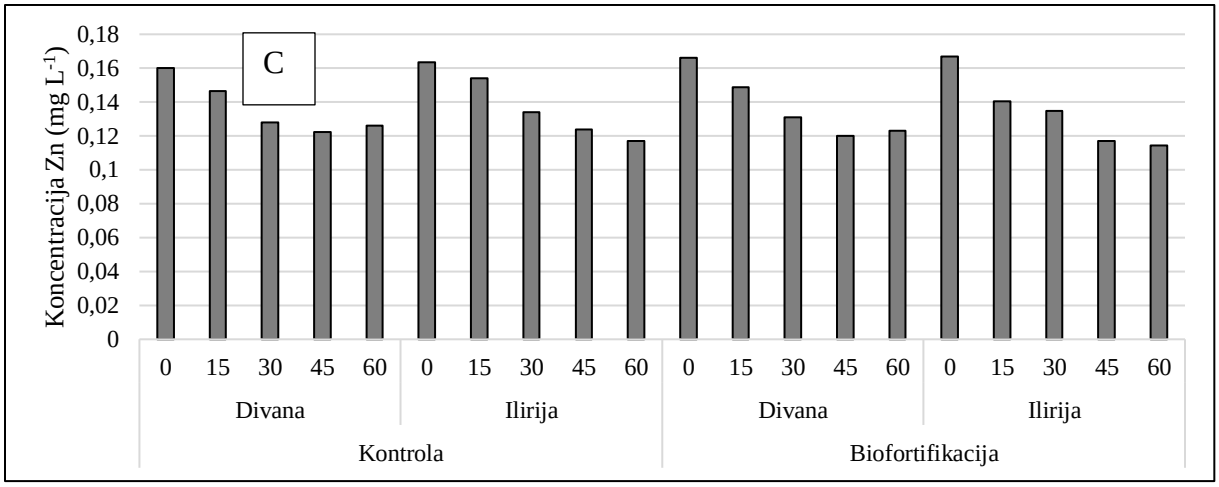




Grafikon 9. Dinamika apsorpcije Zn nakon 0, 15, 30, 45 i 60 min u Caco-2 staničnu liniju iz praha (A), svježeg soka (B) i soka pšenične trave nakon simulacije probave *in vitro* (C)







Tablica 63. Interakcija tretmana i dana žetve na ukupnu koncentraciju Zn u soku pšenične trave 6., 8. i 10. dan

Tretman x dan žetve	n	1	2	3	4	5
8 dan x K	27	1,86 ± 0,04				
6 dan x K	27	1,93 ± 0,06	1,93 ± 0,06			
10 dan x K	27	1,93 ± 0,07	1,93 ± 0,07	1,93 ± 0,07		
8 dan x B1	27		2,14 ± 0,07	2,14 ± 0,07	2,14 ± 0,07	
10 dan x B1	27			2,19 ± 0,07	2,19 ± 0,07	
10 dan x B2	27				2,22 ± 0,09	2,22 ± 0,09
8 dan x B2	27				2,25 ± 0,08	2,25 ± 0,08
6 dan x B1	27				2,35 ± 0,10	2,35 ± 0,10
6 dan x B2	27					2,47 ± 0,11

Tablica 64. Interakcija tretmana i dana žetve na ukupnu koncentraciju Se u soku pšenične trave 6., 8. i 10. dan

Tretman x dan žetve	n	1	2	3
10 dan x K	27	5,80 ± 0,43		
6 dan x K	27	5,89 ± 0,45		
8 dan x K	27	6,26 ± 0,67		
8 dan x B2	27		15,18 ± 0,76	
10 dan x B2	27		15,27 ± 1,01	
6 dan x B2	27		17,13 ± 1,26	
10 dan x B1	27		17,27 ± 0,72	
8 dan x B1	27			20,54 ± 0,61
6 dan x B1	27			21,55 ± 0,71

Tablica 65. Interakcija tretmana i dana žetve na bioraspoloživu koncentraciju Se u soku pšenične trave 6., 8. i 10. dan

Tretman x dan žetve	n	1	2	3	4
10 dan x K	27	2,47 ± 0,28			
6 dan x K	27	2,50 ± 0,29			
8 dan x K	27	2,59 ± 0,33			
6 dan x B2	27		8,17 ± 0,79		
8 dan x B2	27		8,48 ± 0,76	8,48 ± 0,76	
10 dan x B2	27		8,76 ± 1,02	8,76 ± 1,02	
10 dan x B1	27			10,48 ± 0,60	10,48 ± 0,60
8 dan x B1	27				11,61 ± 0,71
6 dan x B1	27				11,71 ± 0,93

ŽIVOTOPIS

Sanja Grubišić Šestanj rođena je 15. veljače 1992. godine u Osijeku. III gimnaziju u Osijeku završila je 2011. godine. Iste godine upisuje preddiplomski studij smjer Hortikultura na Fakultetu agrobiotehničkih znanosti Osijek kojega završava u rujnu 2014. godine. Nakon preddiplomskog studija na istom fakultetu upisuje diplomski studij smjer Biljna proizvodnja. Na drugoj godini diplomskog studija Biljne proizvodnje zbog visokog prosjeka, Fakultetsko vijeće joj odobrava upis još jednog diplomskog studija, te u rujnu 2015. godine počinje paralelno studirati na smjeru Povrćarstvo i cvjećarstvo. Prvi diplomski studij završava u listopadu 2015.godine te tada i stječe zvanje magistra inženjera agronomije. Za akademsku godinu 2015./2016. godine izabrana je za najboljeg studenta generacije na Fakultetu agrobiotehničkih znanosti Osijek. Zbog iznimnog uspjeha u studiranju tijekom 2016./2017. godine dobitnica je stipendije Grada Osijeka za darovite studente. Nakon završenog drugog diplomskog studija u srpnju 2017. godine zapošljava se na stručno osposobljavanje na Fakultetu agrobiotehničkih znanosti Osijek u laboratoriju za Agroekologiju. Od svibnja 2018. godine zaposlena je u zvanju asistentice na projektu financiranom od Hrvatske zaklade za znanost pod nazivom „Genotipska specifičnost pšenične trave (*Triticum aestivum* L.) visokonutritivnog prirodnog dodatka prehrani“ pod vodstvom izv. prof. dr. sc. Andrijane Rebekić. U sklopu projekta upisuje poslijediplomski doktorski studij smjer Oplemenjivanje bilja i sjemenarstvo na Fakultetu agrobiotehničkih znanosti Osijek. U sklopu Erasmus + mobilnosti boravila je 2 tjedna na University of Natural Resources and Life Science, Vienna (BOKU). Dosada je kao autorica i koautorica objavila devet znanstvenih radova i šesnaest sažetaka te je sudjelovala na sedam međunarodnih simpozija usmenim prezentiranjem radova. Bila je suradnica na bilateralnom projektu Ministarstva znanosti i obrazovanja Republike Hrvatske pod vodstvom izv. prof. dr. sc. Miroslava Lisjaka pod nazivom “Bioraspoloživost beneficijalnih elemenata i antioksidativni potencijal klijanaca soje (*Glycine max* (L.) Merill)”. Udana je.