

UNIVERZITET U BEOGRADU  
POLJOPRIVREDNI FAKULTET

Jaćimović Ž. Simona

NUTRITIVNI KVALITET SEMENA SIRKA  
(*SORGHUM BICOLOR* L. MOENCH) I  
POTENCIJAL PRIMENE U PREHRAMBENOJ  
INDUSTRIJI

doktorska disertacija

Beograd, 2025.

UNIVERSITY OF BELGRADE  
FACULTY OF AGRICULTURE

Jaćimović Ž. Simona

NUTRITIONAL QUALITY OF GRAIN SORGHUM  
(*SORGHUM BICOLOR* L. MOENCH) AND THE  
POTENTIAL OF ITS APPLICATION IN THE  
FOOD INDUSTRY

Doctoral Dissertation

Belgrade, 2025.

Mentori

**Dr Nebojša Pantelić, vanredni profesor**

Univerzitet u Beogradu - Poljoprivredni fakultet

**Dr Biljana Kiprovska, naučni savetnik**

Institut za ratarstvo i povrtarstvo, Novi Sad

Članovi komisije

**Dr Mirjana Demin, redovni profesor**

Univerzitet u Beogradu - Poljoprivredni fakultet

**Dr Saša Despotović, vanredni profesor**

Univerzitet u Beogradu - Poljoprivredni fakultet

**Dr Vladimir Sikora, naučni savetnik**

Institut za ratarstvo i povrtarstvo, Novi Sad

**Datum odbrane doktorske disertacije:** \_\_\_\_\_

## Zahvalnica

*Koristim priliku da izrazim neizmernu zahvalnost mentorima dr Biljani Kiprovske i dr Nebojši Panteliću na velikoj podršci pri izvođenju doktorske disertacije. Hvala na razumevanju, nesebičnom angažovanju i korisnim savetima kad god je to bilo potrebno.*

*Ogromnu zahvalnost na saradnji, konstruktivnim savetima i podršci dugujem dr Saši Despotović, vanrednom profesoru Poljoprivrednog fakulteta Univerziteta u Beogradu. Dr Jeleni Tomić, i dr Mladenki Pestorić sa Naučnog Instituta za prehrambene tehnologije u Novom Sadu dugujem zahvalnost na saradnji, konsultacijama i pomoći pri izradi dela doktorske disertacije u laboratorijama Instituta. Hvala kolegi dr Vladimiru Sikori na biljnom materijalnu i pomoći u razumevanju agronomskih zakonitosti pri uzgajanju sirka. Hvala profesorki dr Mirjani Demin na korisnim savetima i predlozima koji su doprineli poboljšanju kvaliteta finalnog rada. Hvala Mariji i Milici, kolegicama iz Laboratorije za ispitivanje biljnih materijala i proizvoda na Odeljenju za povrtarske i alternativne biljne vrste Instituta za ratarstvo i povrtarstvo, na pomoći pri mnogobrojnim analizama. Hvala svim ostalim kolegama, koji su pomogli pri analizama i učestvovali u realizaciji ove doktorske disertacije.*

*Hvala mojim prijateljima, koji su bili bezrezervna podrška sve vreme tokom izrade ove disertacije, nije bilo lako ispratiti moju ambicioznost i pružati vetar u leđa uvek kada mi je bilo preko potrebno. Hvala mojoj porodici za nesebičnu podršku, optimističan stav, razumevanje i ljubav na ovom izazovnom putu ka ostvarenju još jednog od mojih ciljeva. Ovim putem bilo je daleko lakše koračati uz vašu ljubav, oslonac i podršku, neizmerno vam hvala!*

Simona

# NUTRITIVNI KVALITET SEMENA SIRKA (*SORGHUM BICOLOR* L. MOENCH) I POTENCIJAL PRIMENE U PREHRAMBENOJ INDUSTRIJI

## SAŽETAK

Uzimajući u obzir globalni trend zdravog načina života, koji podrazumeva povećanu potrošnju prirodnih proizvoda, neophodno je konstantno uvođenje novih sirovina za proizvodnju visokokvalitetne hrane. Zbog sve češće pojave zdravstvenih problema povezanih sa intolerancijom na gluten, raste interesovanje za žitima koja ne sadrže gluten. Ujedno, veliki izazov za prehrambenu industriju predstavlja unapređenje bezglutenskih proizvoda i proizvoda sa smanjenim sadržajem glutena, pa je broj studija na ovu temu u neprestanom porastu. Jedan od načina da se poveća upotreba sirka i svest o značajnosti uvođenja ovog bezglutenskog žita u ishranu ljudi je detaljno ispitivanje nutritivnog kvaliteta i kreiranje novih prehrambenih proizvoda.

Prvi cilj istraživanja u okviru ove doktorske disertacije bio je biohemijska karakterizacija jedinjenja primarnog i sekundarnog metabolizma semena 172 genotipa sirka (*Sorghum bicolor* L. Moench) i analiza nutritivnog kvaliteta semena radi odabira superiornih genotipova za primenu u proizvodnji visokokvalitetnih prehrambenih proizvoda. Karakterizacija glavnih parametara nutritivnog kvaliteta, koji karakterišu biološku vrednost zrna sirka, sprovedena je standardnim procedurama analize. Rezultati ispitivanja i dobijene vrednosti su upoređene sa međunarodno priznatim standardnim vrednostima (CXS 172-1989, CERSOR010, 2020) u cilju izdvajanja i dalje analize genotipova pogodnih za ishranu ljudi. Na ovaj način, izdvojeno je šesnaest genotipova u kojima je utvrđen polifenolni, aminokiselinski i masnokiselinski sastav, sadržaj makro- i mikro- elemenata i antioksidativna aktivnost. Takođe, izvršena je teorijska procena nutritivne vrednosti radi utvrđivanja potencijala ovih genotipova kao izvora makro- i mikro- elemenata kroz ishranu. Istraživanja su pokazala da je seme sirka dobar izvor makro- i mikro- elemenata koji su od vitalnog značaja za pravilan rad metabolizma, dok ga prisutne bioaktivne komponente čine jednim od perspektivnih sirovina za proizvodnju hrane sa dodatom vrednošću.

Broj dostupnih bezglutenskih proizvoda sa poboljšanim svojstvima na tržištu je mali, što ostavlja prostora za uvođenje novih sirovina i kreiranje novih proizvoda. Tako, poslednju celinu ove disertacije predstavljala je priprema bezglutenskog čajnog peciva. Premium bezglutenska smeša predstavljala je osnovu kreiranog proizvoda, dok je bezglutensko brašno sirka korišćeno kao funkcionalni dodatak u nivou supstitucije 20% i 40%. Valorizacija potencijala brašna sirka kao sastojka u proizvodnji bezglutenskih proizvoda izvršena je kroz analizu senzornog profila, utvrđivanjem uticaja dodatka brašna sirka na senzorne karakteristike bezglutenskog čajnog peciva. Na osnovu analize podataka dobijenih senzornom ocenom, dodatak integralnog brašna sirka poboljšava teksturna i aromatska svojstva kontrolnog proizvoda. Uzorci koji sadrže integralno brašno sirka pokazali su izbalansirane karakteristike u pogledu vizuelnog kvaliteta, teksture i arome što naglašava potencijal primene sirka kao vredne sirovine za prehrambenu industriju.

Ključne reči: sirak, *Sorghum bicolor* L. Moench, nutritivni kvalitet, prehrambena industrija, bezglutensko čajno pecivo, senzorna analiza

Naučna oblast: Biotehničke nauke

Uža naučna oblast: Tehnologija ratarskih proizvoda

UDK: 641.1:633.17(043.3)

# NUTRITIONAL QUALITY OF GRAIN SORGHUM (*SORGHUM BICOLOR* L. MOENCH) AND THE POTENTIAL OF APPLICATION IN THE FOOD INDUSTRY

## ABSTRACT

Considering the widespread trend towards a healthy lifestyle, which implies increased consumption of natural products, it is necessary to introduce new raw materials to produce high-quality food constantly. Due to the increasing occurrence of health issues related to gluten intolerance, there is a growing interest in cereals that do not contain gluten. At the same time, a big challenge for the food industry is the improvement of gluten-free products and products with reduced gluten content, which is why there are a rising number of studies on this subject. One way to increase the use of sorghum and awareness of the importance of introducing this gluten-free grain into the human diet is to examine its nutritional quality and create new food products thoroughly.

The first goal of the research within this doctoral dissertation was the biochemical characterization of compounds of primary and secondary metabolism of 172 sorghum genotypes (*Sorghum bicolor* L. Moench) as well as the comparison of seed nutritional quality parameters, intending to select the most potent genotypes for use in the production of high-quality food products. The main nutritional quality parameters, which characterize the biological value of sorghum grains, were characterized using standard analysis procedures. The test results and obtained values were compared with internationally recognized standard values (CXS 172-1989, CERSOR010, 2020) in order to isolate and further analyze genotypes suitable for human consumption. In this way, sixteen genotypes were isolated in which the polyphenolic, amino acid, and fatty acid composition, the content of macro- and micro-elements, and antioxidant activity were determined. Also, a theoretical evaluation of the nutritional value was carried out to determine the potential of these genotypes as a source of macro- and micro-elements through nutrition. Research has shown that sorghum seeds are a good source of macro- and micro-elements that are vital for the proper functioning of metabolism, while the bioactive components present make it one of the promising raw materials for food production with added value.

The number of gluten-free products with improved properties available on the market is small, which leaves space for the introduction of new raw materials and the creation of new products. Thus, the last part of this dissertation was the preparation of gluten-free tea pastry. The premium gluten-free mixture was the basis of the created product, while the gluten-free sorghum bran was used as a functional supplement at the substitution level of 20% and 40%. Valorization of the potential of sorghum flour as an ingredient in the production of gluten-free products was carried out through the analysis of the sensory profile, by determining the influence of the addition of sorghum flour on the sensory characteristics of the tea pastry. Based on the analysis of the data obtained by sensory evaluation, the addition of integral sorghum flour improves the textural and aromatic properties of the control product. Samples containing whole sorghum flour showed balanced characteristics in terms of visual quality, texture, and aroma, emphasizing sorghum application's potential as a valuable raw material for the food industry.

Keywords: sorghum, *Sorghum bicolor* L. Moench, nutritional quality, food industry, gluten-free biscuits, sensory evaluation

Scientific field: Biotechnical sciences

Scientific subfield: Technology of agricultural products

UDK: 641.1:633.17(043.3)

# SADRŽAJ

|                                                                                                                                      |    |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 1. UVOD.....                                                                                                                         | 1  |
| 2. PREGLED LITERATURE.....                                                                                                           | 2  |
| 2.1. Nutritivni kvalitet zrna sirka .....                                                                                            | 3  |
| 2.2. Bioaktivna jedinjenja i antioksidativni potencijal sirka .....                                                                  | 5  |
| 2.3. Elementalni sastav.....                                                                                                         | 7  |
| 2.4. Zdravstveni efekti sirka.....                                                                                                   | 7  |
| 2.5. Genetika sirka i restorer linije .....                                                                                          | 8  |
| 2.6. Sirak kao sirovina za prehrambenu industriju.....                                                                               | 9  |
| 3. CILJ I ZNAČAJ ISTRAŽIVANJA .....                                                                                                  | 10 |
| 4. MATERIJAL I METODE .....                                                                                                          | 11 |
| A. Analiza parametara kvaliteta semena sirka iz IFVCNS kolekcije .....                                                               | 12 |
| 4.1. Određivanje parametara boje semena sirka .....                                                                                  | 12 |
| 4.2. Standardne analize za utvrđivanje kvaliteta semena sirka .....                                                                  | 12 |
| 4.3. Određivanje sadržaja vlage, skroba i proteina u semenu sirka .....                                                              | 13 |
| 4.4. Priprema ekstrakata sirka .....                                                                                                 | 13 |
| 4.5. Određivanje sadržaja ukupnih polifenola u ekstraktima sirka .....                                                               | 13 |
| 4.6. Određivanje sadržaja ukupnih tanina u ekstraktima sirka .....                                                                   | 13 |
| 4.6.1. Sadržaj ukupnih tanina / taložna reakcija sa PVPP .....                                                                       | 14 |
| 4.6.2. Određivanje sadržaja kondenzovanih tanina (proantocijanidina) / butanol-HCl.....                                              | 14 |
| 4.7. Određivanje sadržaja ukupnih flavonoida u ekstraktima sirka .....                                                               | 14 |
| 4.8. Određivanje sadržaja ukupnih antocijanina u ekstraktima sirka.....                                                              | 14 |
| 4.9. Antioksidativna aktivnost - sposobnost uklanjanja DPPH radikala.....                                                            | 15 |
| B. Procena nutritivnog kvaliteta semena sirka izabranih genotipova.....                                                              | 15 |
| 4.10. Određivanje sadržaja 3-deoksiantocijanina .....                                                                                | 16 |
| 4.11. Antioksidativna aktivnost odabranih genotipova sirka.....                                                                      | 16 |
| 4.11.1. Određivanje sposobnosti neutralizacije DPPH radikala .....                                                                   | 16 |
| 4.11.2. Određivanje sposobnosti neutralizacije ABTS radikala .....                                                                   | 17 |
| 4.11.3. Određivanje redukcijske sposobnosti ekstrakta FRAP testom .....                                                              | 17 |
| 4.11.4. Elektronska paramagnetna rezonancija (EPR).....                                                                              | 17 |
| 4.11.5. Određivanje termodinamički najpogodnijeg mehanizma antioksidativne aktivnosti.....                                           | 18 |
| 4.12. Određivanje sadržaja makro- i mikro- elemenata u semenu sirka spektroskopijom sa indukovano-spregnutom plazmom (ICP-OES) ..... | 19 |
| 4.13. Određivanje aminokiselinskog sastava u semenu sirka .....                                                                      | 20 |
| 4.14. Određivanje masnokiselinskog sastava u semenu sirka.....                                                                       | 21 |
| C. Proizvodnja i analiza bezglutenskog čajnog peciva.....                                                                            | 21 |
| 4.15. Proizvodnja bezglutenskog čajnog peciva .....                                                                                  | 21 |
| 4.16. Određivanje fizičkih osobina bezglutenskog čajnog peciva .....                                                                 | 22 |

|       |                                                                                                                 |     |
|-------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| 4.17. | Određivanje teksturnih svojstava bezglutenskog čajnog peciva .....                                              | 22  |
| 4.18. | Određivanje hemijskog sastava bezglutenskog čajnog peciva .....                                                 | 23  |
| 4.19. | Senzorna analiza bezglutenskog čajnog peciva .....                                                              | 23  |
| 4.20. | Statistička analiza podataka .....                                                                              | 25  |
| 4.21. | Veštačke neuronske mreže .....                                                                                  | 26  |
| 4.22. | Analiza globalne osetljivosti .....                                                                             | 26  |
| 5.    | REZULTATI I DISKUSIJA .....                                                                                     | 27  |
| A.    | Rezultati analize parametara kvaliteta semena sirka iz IFVCNS kolekcije .....                                   | 27  |
| 5.1.  | Određivanje parametara boje .....                                                                               | 27  |
| 5.2.  | Standardne analize kvaliteta semena sirka .....                                                                 | 28  |
| 5.3.  | Sadržaj bioaktivnih jedinjenja i antioksidativna aktivnost zrna sirka .....                                     | 30  |
| 5.4.  | Predviđanje antioksidativne aktivnosti primenom ANN modela .....                                                | 34  |
| B.    | Rezultati procene nutritivnog kvaliteta semena sirka izabranih genotipova .....                                 | 35  |
| 5.5.  | Određivanje sadržaja 3-deoksiantocijana u semenu odabranih genotipova sirka .....                               | 36  |
| 5.6.  | Antioksidativna aktivnost ekstrakata odabranih genotipova sirka .....                                           | 38  |
| 5.7.  | Sadržaj makro- i mikro- elemenata .....                                                                         | 42  |
| 5.8.  | Procena teorijskog unosa nutrijenata .....                                                                      | 46  |
| 5.9.  | Aminokiselinski sastav .....                                                                                    | 48  |
| 5.10. | Masnokiselinski sastav .....                                                                                    | 51  |
| C.    | Razultati analize bezglutenskog čajnog peciva .....                                                             | 54  |
| 5.11. | Određivanje fizičkih osobina bezglutenskog čajnog peciva .....                                                  | 55  |
| 5.12. | Određivanje teksturnih svojstava bezglutenskog čajnog peciva .....                                              | 55  |
| 5.14. | Određivanje hemijskog sastava bezglutenskog čajnog peciva .....                                                 | 56  |
| 5.15. | Kvalitativno i kvantitativno ispitivanje polifenolnih jedinjenja i aminokiselinskog sastava čajnih peciva ..... | 56  |
| 5.15. | Senzorna analiza bezglutenskog čajnog peciva .....                                                              | 58  |
| 6.    | ZAKLJUČAK .....                                                                                                 | 65  |
| 7.    | REFERENCE .....                                                                                                 | 67  |
|       | PRILOZI .....                                                                                                   | 75  |
|       | BIOGRAFIJA .....                                                                                                | 100 |
|       | IZJAVA O AUTORSTVU .....                                                                                        | 102 |
|       | Izjava o istovetnosti štampane i elektronske verzije doktorskog rada .....                                      | 103 |
|       | Izjava o korišćenju .....                                                                                       | 104 |



## LISTA SKRAĆENICA

**IFVCNS** Institut za ratarstvo i povrtarstvo u Novom Sadu  
**ANN** veštačke neuronske mreže (engl. *Artificial Neural Networks*)  
**DPPH** 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil radikal  
**TP MeOH** ukupni sadržaj fenola u metanolnom ekstraktu  
**TT MeOH** ukupni sadržaj tanina u metanolnom ekstraktu  
**TF MeOH** ukupni sadržaj flavonoida u metanolnom ekstraktu  
**TA MeOH** ukupni sadržaj antocijanina u metanolnom ekstraktu  
**TP A** ukupni sadržaj fenola u acetonskom ekstraktu  
**TT A** ukupni sadržaj tanina u acetonskom ekstraktu  
**Pro A** sadržaj proantocijanidina (kondenzovani tanini)  
**PCA** analiza glavnih komponenti (engl. *Principal Component Analysis*)  
**HCA** hijerarhijska klaster analiza  
**L\*** svetloća boje  
**a\*** udeo crvene boje (+a\*) ili zelene boje (-a\*)  
**b\*** udeo žute boje (+b\*) ili plave boje (-b\*)  
**SFA** sadržaj zasićenih masnih kiselina (engl. *Saturated Fatty Acids*)  
**MUFA** sadržaj mononezasićenih masnih kiselina (engl. *Monounsaturated Fatty Acids*)  
**PUFA** sadržaj polinezasićenih masnih kiselina (engl. *Polyunsaturated Fatty Acids*)  
**MLP** višeslojni model perceptrona (engl. *Multi Layer Perceptron*)  
**W** težinski koeficijenti (engl. *Weights*)  
**B** nulti članovi (engl. *Biases*)  
**PVPP** polivinilpolipirolidon (engl. *polyvinylpolypyrrolidone*)  
**HAT** prenos atoma vodonika (engl. *hydrogen atom transfer*)  
**SET** prenos elektrona (engl. *single electron transfer*)  
**ROS** reaktivne kiseonične vrste (engl. *reactive oxygen species*)  
**RNS** reaktivne azotne vrste (engl. *reactive nitrogen species*)  
**3-DXA** 3-deoksiantocijanidini (engl. *3-Deoxyanthocyanidins*)  
**GAE** ekvivalenti galne kiseline (engl. *Gallic Acid Equivalents*)  
**AAE** ekvivalenti askorbinske kiseline (engl. *Ascorbic Acid Equivalents*)  
**TE** ekvivalenti troloksa (engl. *Trolox Equivalents*)  
**FRAP** engl. *ferric reducing antioxidant power*  
**ABTS** 2,2'-Azino-bis(3-etilbenzotiazolin-6-sulfonska kiselina  
**ICP-OES** indukovano kuplovana plazma sa optičkom emisijom spektrometrijom (engl. *Inductively Coupled Plasma - Optical Emission Spectrometry*)  
**EPR** elektronska paramagnetna rezonancija

# 1. UVOD

Proizvesti dovoljno hrane za rastuću svetsku populaciju na održiv i inkluzivan način, istovremeno odgovarajući na povećanu potražnju za obnovljivim sirovinama, jačanje otpornosti na klimatske promene i poštovanje planetarnih granica glavni je društveni izazov 21. veka.

Posmatrajući obradive površine i globalnu proizvodnju ratarskih kultura, može se smatrati da je sirak (*Sorghum bicolor* L. Moench, *Poaceae*) jedna od najznačajnijih kultivisanih žitarica na svetu. Kao peta najznačajnija kultivisana žitarica na globalnom nivou, doprinosi diverzifikaciji poljoprivrednih sistema i unapređenju ukupne održivosti poljoprivrede i prehrambene industrije. Uvođenje sirka u plodorede predstavlja validnu strategiju za povećanje otpornosti poljoprivrednih sistema na nepovoljne vremenske uslove, koji postaju sve učestaliji usled klimatskih promena, pa je tolerantnost sirka prema suši i visokim temperaturama posebno važna u ovom kontekstu. Uzgoj sirka je ekonomski održiv, jer zahteva manje resursa poput vode i hemijskih sredstava, što doprinosi smanjenju negativnih uticaja poljoprivredne prakse na životnu sredinu.

U Evropi, sirak se u najvećoj meri koristi kao stočna hrana, dok je njegova uloga u ljudskoj ishrani manje istaknuta. Iako ima značajan, ali nedovoljno prepoznat nutritivni potencijal, sirak tek u poslednje vreme dobija veću pažnju prehrambene industrije. Povećanje svetske populacije i efekti klimatskih promena na poljoprivrednu proizvodnju nameću ispitivanje ove biljne kulture sa fokusom na biohemijski sastav semena i potencijal njegove upotrebe u prehrambenoj industriji.

Sirovine koje obiluju biološki aktivnim jedinjenjima su sve češće tema istraživanja u naučnim publikacijama. Seme sirka predstavlja značajnu sirovinu u smislu zadovoljavanja globalnih trendova potreba potrošača, koji traže visokokvalitetne proizvode i alternative tradicionalnim glutenskim proizvodima. Bioaktivna jedinjenja, prisutna u semenu sirka, čine ga jednom od perspektivnih sirovina za proizvodnju hrane sa dodatom vrednošću (Rao et al., 2018; Xiong et al., 2019b). Brojne studije su pokazale da zrno sirka ima jedinstveni polifenolni sastav koji mu daje belu, žutu, crvenu ili crnu boju (Rao et al., 2018; Xiong et al., 2019a). Pored toga, seme sirka je dobar izvor makro- i mikro-elemenata koji su od vitalnog značaja za pravilan rad metabolizma ljudskog organizma (Gerrano et al., 2016). Interesovanje za žitima koja ne sadrže gluten neprestano raste, zbog sve češće pojave intolerancije na gluten, što otvara nove mogućnosti za korišćenje sirka u prehrambenoj industriji. Broj studija na temu unapređenja bezglutenskih i proizvoda sa smanjenim sadržajem glutena u neprestanom je porastu (Chavez et al., 2018; Rashwan et al., 2021; de Oliveira et al., 2022), čemu svedoči oko 200 radova u Scopus bazi u poslednjih pet godina.

Utvrđivanjem nutritivnog potencijala semena sirka i podizanjem svesti o značajnosti upotrebe ove biljne vrste, stvaraju se uslovi za maksimalnu poljoprivrednu, tehnološku i ekonomsku eksploataciju ove alternativne žitarice. Ova doktorska disertacija ima za cilj ispitivanje mogućnosti primene semena sirka, kao sirovine u proizvodnji prehrambenih proizvoda, kroz detaljno ispitivanje nutritivnih karakteristika semena i primenu u formulaciji novog prehrambenog proizvoda.

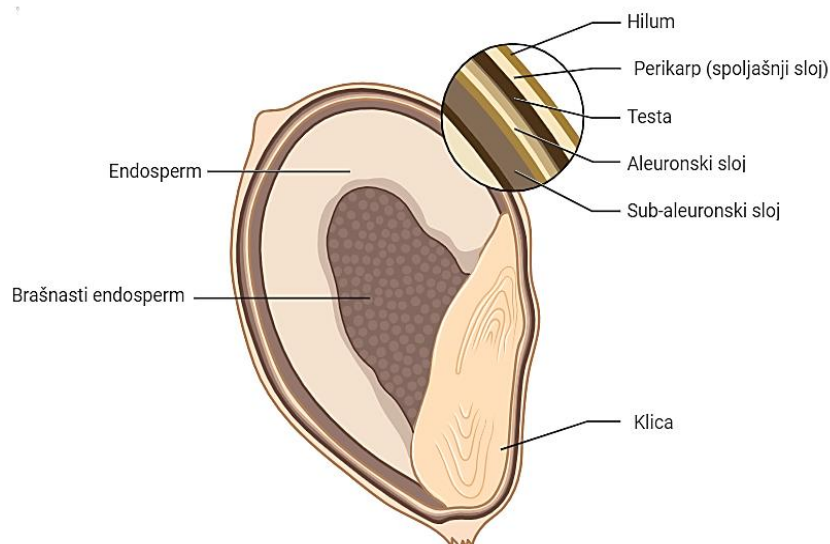
## 2. PREGLED LITERATURE

Sirak je jednogodišnja biljka iz porodice *Poaceae*, roda *Sorghum* L. koju karakteriše velika raznolikost. U okviru ovog roda postoji veći broj vrsta, različitih po morfologiji, primeni i ekonomskom značaju, ali su u gajenju najzastupljeniji *Sorghum bicolor* L. Moench (običan sirak; Slika 1) i *Sorghum sudanense* Stapf. (sudanska trava). U ratarskoj proizvodnji, uobičajeno je da se pojedini varijeteti nazivaju prema krajnjoj primeni: sirak za proizvodnju zrna, stočni sirak, sirak šećerac, sirak metlaš, dekorativni sirak, itd.



**Slika 1.** Fotografije zrna sirka (*Sorghum bicolor* L. Moench) iz kolekcije Instituta za ratarstvo i povrtarstvo u Novom Sadu (Orig.).

Suprotno ostalim varijetetima, genotipovi sirka namenjenih za proizvodnju zrna imaju ograničen rast stabla, najčešće do 100 cm. Cvast sirka je zbijena metlica, kraćih bočnih grana, sa loptasto-spljoštenim plodovima različitih boja. Zrno sirka obično se javlja u različitim veličinama i bojama, u rasponu od bele, preko narandžaste do crne. Zrno svetlije boje (belo, žuto, narandžasto) karakteriše niži sadržaj taninskih jedinjenja i češće se koristi u ishrani ljudi, dok se genotipovi sa tamnijim zrnom češće koriste kao stočna hrana. Seme je obično oko 4 mm dužine, 2 mm širine i 2,5 mm debljine. Struktura zrna sirka je prikazana na Slici 2. Perikarp (spoljašnji omotač semena), klica (embrion) i endosperm (hranljivo tkivo) su osnovne anatomske komponente zrna. Ove komponente su različito raspoređene u zavisnosti od sorte i uslova gajenja. U proseku, perikarp, endosperm i klica zauzimaju 8%, 82%, odnosno 10% semena, respektivno (Hubbard et al., 1950). Perikarp se sastoji od tri sloja: epikarp, mezokarp i endokarp, i njegova debljina je najčešće u rasponu od 8  $\mu$ m do 160  $\mu$ m (Earp et Rooney, 1982). Sloj poznat kao pigmentisani omotač semena, ili testa, nalazi se direktno ispod perikarpa. Debljina teste se kreće od 8  $\mu$ m do 40  $\mu$ m, slično kao kod perikarpa (Earp et Rooney, 1982). Kod određenih genotipova sirka, tanini i pigmenti se u najvećoj meri nalaze upravo u ovom sloju. Tanini su polifenolne komponente koje vezuju i talože proteine, čineći ih nesvarljivim, što negativno utiče na nutritivni kvalitet semena sirka (Butler et al., 1984). Primarno rezervno tkivo, endosperm, sastoji se od brašnatog endosperma, staklastog (tvrđog) endosperma, perifernog endosperma i aleuronskog sloja. Minerali, lipidi, kompleksi vitamina B, proteini i enzimi su u izobilju u ovom sloju, te oni imaju najznačajniju ulogu u hranljivoj vrednosti zrna.



**Slika 2.** Struktura zrna sirka (adaptirana slika, BioRender).

Ova žitarica, po proizvodnim površinama, zauzima peto mesto u svetu, posle pirinča, pšenice, kukuruza i ječma (Bakari et al., 2022). Mesto sirka u biljnoj proizvodnji određeno je njegovom tolerancijom i prilagodljivošću različitim uslovima životne sredine (Mundia et al., 2019; Bazie et al., 2023). Budući da je sirak žitarica koja potiče iz sušnih regiona Afrike, ova biljna vrsta ima veliku prilagodljivost ekstremnim uslovima gajenja zbog visoke tolerantnosti prema suši i mogućnosti gajenja na marginalnom zemljištu (Kolozsvári et al., 2022; Tovignan et al., 2023).

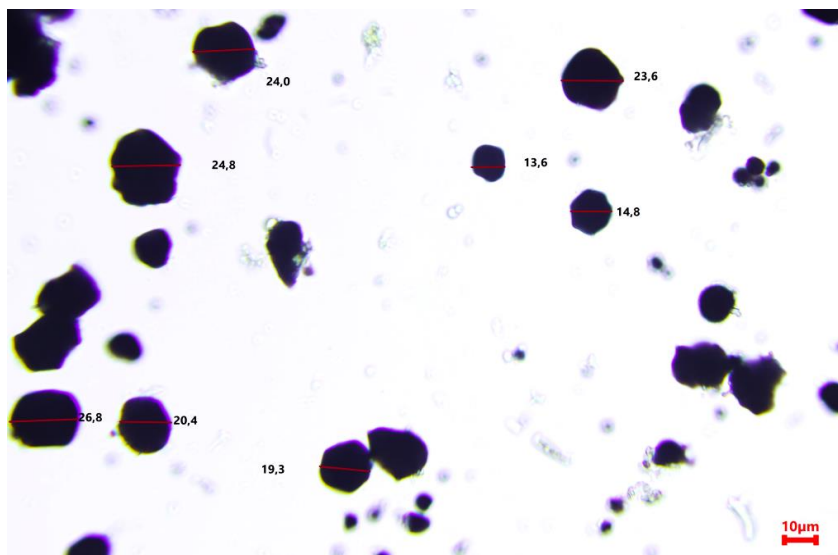
Bez obzira na kontinuirani porast proizvodnih površina pod žitaricama, kao i težnju ka diverzifikaciji i transformaciji poljoprivrednih sistema u skladu sa klimatskim promenama, evropski udeo u proizvodnji sirka je najniži u svetu, sa svega 1,4% (u proseku, u periodu 1994-2020, FAOSTAT 2022). Ipak, budući da obojeno zrno sirka u poslednje vreme postaje atraktivna sirovina u proizvodnji hrane, znanje o varijaciji nutritivnog i funkcionalnog kvaliteta različitih genotipova je od suštinskog značaja kako bi se podržali programi oplemenjivanja za razvoj visoko hranljivih sorti žitarica za ljudsku ishranu.

## 2.1. Nutritivni kvalitet zrna sirka

Nutritivni sastav zrna sirka je uporediv sa kukuruzom i pirinčem po sadržaju proteina, skroba i minerala (Hossain et al., 2022); sadrži 1,3% do 3,5% minerala, 2,1% do 7,6% masti, 1,0% do 3,4% vlakana i 57,0% do 80,6% ukupnih ugljenih hidrata (Palacios et al., 2021; Khalid et al., 2022).

Skrob je najzastupljeniji ugljeni hidrat u zrnu sirka i čini preko 70% ukupne mase zrna (Hassan, 2023). Neskrobni polisaharidi (arabinoksilani i rastvorljiva vlakna) smanjuju dostupnost skroba digestivnim enzimima, što posledično smanjuje glikemijski indeks sirka. Na sadržaj i sastav skroba, koji je glavni polisaharid sirka, utiču uslovi gajenja i genetske karakteristike (Ratnavathi, 2016). Skrob se sastoji se od dve komponente polimera glukoze: amiloze i amilopektina koji najčešće zauzimaju 25%, odnosno 75% molekula skroba, respektivno (Ratnavathi, 2016). Skrob sirka (Slika 3) je sličan kukuruznom skrobu po obliku i veličini (4  $\mu\text{m}$  do 25  $\mu\text{m}$ ). Granule skroba inkorporirane su u proteinski matriks unutar endosperma, a odnos amiloze i amilopektina u velikoj meri utiče na njegovu svarljivost i reološka svojstva (Sang et al., 2008). U više istraživanja pokazano je da su sorte sirka sa brašnastim endospermom lakše svarljive od onih sa staklastim endospermom (Miller et al., 1972). Međutim, i dalje nije u potpunosti razjašnjeno koja komponenta endosperma je odgovorna za smanjenu svarljivost skroba. Jedna od hipoteza sugerise da raspored, sastav i svarljivost proteina oko granula skroba igraju glavnu ulogu u svarljivosti skroba (Rooney i Pflugfelder, 1986). Budući da su granule skroba sirka okružene proteinskim matriksom, Rooney i Pflugfelder (1986) su sugerisali da su delovi endosperma sa gustim pakovanjem manje dostupni enzimima koji razgrađuju skrob.

Digestija skroba sirka teža je u odnosu na digestiju kukuruznog skroba, a kao čest razlog navodi se njegova interakcija sa taninima i flavonoidima (Espitia-Hernández et al., 2020). Budući da pojedini genotipovi sirka sadrže značajnu količinu tanina u odnosu na druga žita, može se objasniti niža svarljivost skroba u genotipovima sa visokim sadržajem tanina. Ipak, iako je negativan efekat tanina na svarljivost neupitan, ispitivanja sirka sa veoma niskim sadržajem tanina takođe pokazuju značajne varijacije u svarljivosti. Ovo sugerise da tanini nisu jedini odgovorni za negativan uticaj na svarljivost, te osnovni uzrok niske svarljivosti skroba u sirku ostaje nejasan.



**Slika 3.** Izgled skrobnih zrna sirka (obojenih Lugolovim rastvorom) pod mikroskopom (Orig.).

Uočeno je da je sadržaj proteina u negativnoj korelaciji sa sadržajem skroba u semenu. Sadržaj proteina u semenu sirka značajno varira između različitih genotipova i kreće se u rasponu od 4% do 21% (Ratnavathi, 2016). Proteini sirka sastoje se u najvećoj meri iz prolamina i glutelina, koji su uglavnom prisutni u endospermu (Widowati i Luna, 2022). Prolamini sirka (kafirini) čine oko 80% ukupnog sadržaja proteina sirka prisutnih u endospermu i sadrže tri glavne klase:  $\alpha$ -kafirin (66% do 84%),  $\beta$ -kafirin (8% do 13%) i  $\gamma$ -kafirin (9% do 21%) (Hassan, 2023). Treba napomenuti da su proteini sirka superiorniji od proteina pšenice po biološkoj vrednosti, budući da analiza aminokiselina različitih proteinskih frakcija pokazuje da postoji bolja distribucija esencijalnih aminokiselina u globulinima nego u prolaminima (Ratnavathi, 2016). Ipak, sa nutritivne tačke gledišta, vrednost zrna sirka se može smatrati inferiornijom u poređenju sa drugim žitima budući da ga karakterišu teško svarljivi proteini i nedostatak esencijalne aminokiseline lizina (Khan et al., 2023). Usled formiranja intramolekularnih disulfidnih veza, kafirini sirka su otporni na peptidazu, što predstavlja jedan od osnovnih razloga za nižu svarljivost. U poslednje vreme se poklanja pažnja kreiranju novih genotipova, gde se proces oplemenjivanja usmerava na smanjenje sadržaja kafirina, i povećanje udela glutelina i albumina u svrhu povećanja svarljivosti. Pored toga, kod genotipova sa visokim sadržajem tanina, interakcija kafirina sa ovim fenolnim jedinjenjima može smanjiti svarljivost proteina i do 50% (Taylor et al., 2006).

Sadržaj masti u sirku se kreće od 2% do 8%, što predstavlja nešto viši sadržaj u poređenju sa drugim žitima: pšenicom, pirinčem i kukuruzom. Lipidi sirka se uglavnom sastoje od triglicerida, koji su bogati nezasićenim masnim kiselinama. U najvećem broju genotipova, linolna i oleinska kiselina zauzimaju preko 80% ukupnog sadržaja masnih kiselina. Pored ove dve masne kiseline, zastupljene su i palmitinska (od 12,4% do 16,0%) i linoleinska kiselina (od 1,4% do 2,8%).

Značajni sadržaj nutrijenta, zajedno sa činjenicom da zrno sirka nema gluten, čine ga atraktivnom alternativom drugim žitaricama, poput pšenice, raži i ječma. Intolerancija na gluten, poznata kao celijakija, je autoimuna bolest koja se javlja kod osoba preosetljivih na ovaj protein.



Imuni sistem ovih osoba napada sluznicu creva kada se u organizam unese čak i mala količina glutena, što se manifestuje različitim simptomima. Jedini efikasan tretman je ishrana koja zahteva pažljivo biranje namirnica koje ne sadrže gluten. Pored toga što je žito koje ne sadrži gluten (Pontieri et al., 2013; Palavecino et al., 2019; Cuevas et al., 2023), sirak je veoma bogat izvor jedinstvenih polifenolnih jedinjenja i dijetnih vlakana (Rao et al., 2018; Xiong et al., 2019b; Li et al., 2021; Nagy et al., 2021). Zbog svega navedenog sirak može biti rešenje problema u ishrani osoba sa celijaklijom. Budući da postoji sve veća potražnja za hranom sa dodatkom vrednošću, sirak ima potencijal da se koristi kao nova sirovina u proizvodnji visokokvalitetnih bezglutenskih proizvoda.

## 2.2. Bioaktivna jedinjenja i antioksidativni potencijal sirka

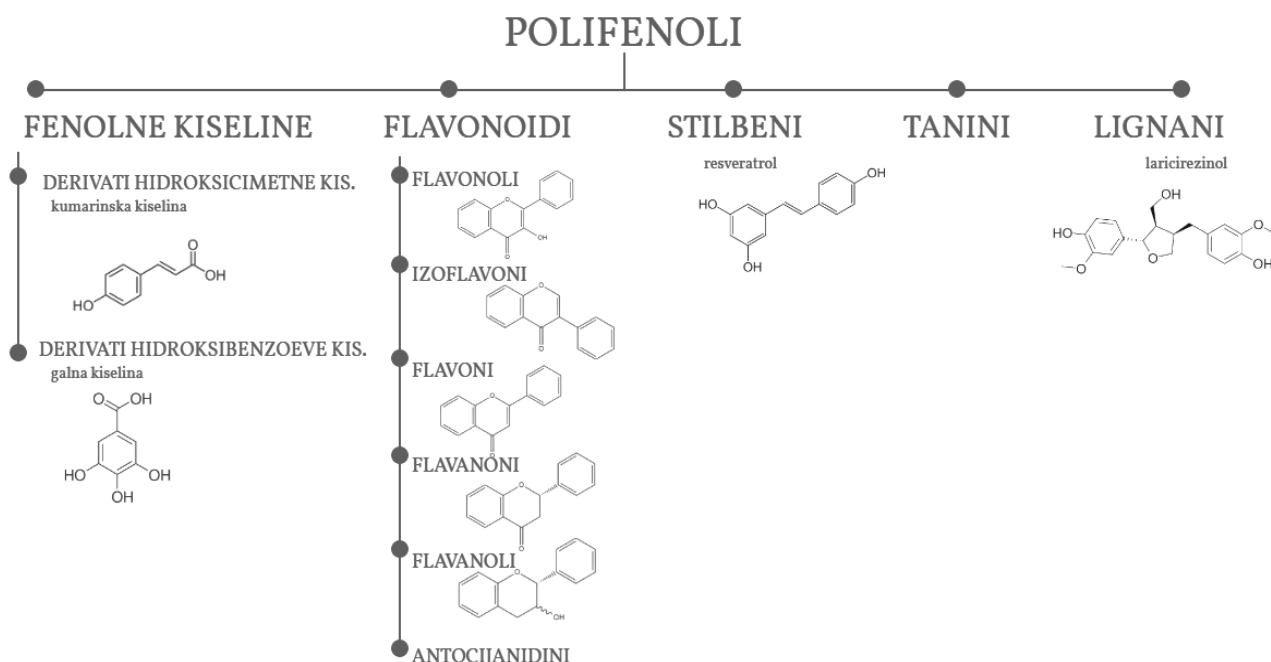
Sirak privlači sve veću pažnju, ne samo zbog mogućnosti gajenja u sušnim regionima pri visokim temperaturama, već i zbog svojih brojnih bioaktivnih jedinjenja (de Moraes Cardoso et al., 2017). Brojne studije pokazuju da zrno sirka ima značajne zdravstvene benefite zbog jedinstvenog polifenolnog sastava (Rao et al., 2018; Xiong et al., 2019a). Ova jedinjenja imaju raznovrsne funkcije u rastu, razvoju i odbrani biljke, ali i značajnu antioksidativnu ulogu u čovekovom organizmu, jer inhibiraju i sprečavaju štetno delovanje slobodnih radikala.

Antioksidansi su bioaktivna jedinjenja koja inhibiraju, odlažu ili kontrolišu slobodnoradikalske lančane reakcije oksidacije. Mogu se podeliti na enzimске i neenzimске antioksidanse, a u zavisnosti od mehanizma delovanja, na primarne i sekundarne. Primarni antioksidansi neutrališu slobodne radikale: doniranjem vodonikovog atoma (prenos atoma vodonika; *hydrogen atom transfer* - HAT), mehanizmom prenosa elektrona (*single electron transfer* - SET) i mešovitim mehanizmom (Zeb, 2020). Sekundarni antioksidansi sprečavaju razlaganje lipidnih hidroperoksida na slobodne radikale, tj. redukuju brzinu reakcije inicijacije kod lančanih reakcija, pri čemu sekundarni antioksidansi ne transformišu slobodne radikale u stabilnije produkte. Polifenoli, kao jedinjenja sekundarnog metabolizma biljaka spadaju u neenzimске antioksidanse i svoju antioksidativnu aktivnost najčešće ispoljavaju doniranjem atoma vodonika iz svoje fenolne grupe (OH grupa vezana za benzenov prsten), nakon čega nastaju manje reaktivni fenoksi radikali (hemijska reakcija 1) (Halliwell, 1994).



Slobodni radikali su veoma reaktivne hemijske vrste (molekuli, atomi ili joni) sa minimum jednim nesparenim elektronom u spoljašnjoj orbitali. Nastaju tokom metaboličke aktivnosti ćelija (Zeb, 2018) i karakteriše ih velika nestabilnost i visoka reaktivnost. Lančane reakcije slobodnih radikala počinju formiranjem slobodnog radikala koji se propagira napadom na druge molekule (Ahmadinejad et al., 2017). U reakciji sa supstratom, slobodni radikali se redukuju i gube slobodno radikalski karakter, dok se supstrat oksiduje, pri čemu nastaje sekundarni slobodni radikal koji započinje lanac radikalskih reakcija. U zavisnosti od toga da li se nespareni elektron nalazi na kiseoniku ili azotu, razlikujemo reaktivne kiseonične vrste (*reactive oxygen species* - ROS) i reaktivne azotne vrste (*reactive nitrogen species* - RNS).

Zbog velike raznorodnosti, podela polifenolnih jedinjenja prema strukturi je veoma složena (Slika 4), ali se obično naglašava postojanje dve osnovne klase: neflavonoidnih polifenola i flavonoida. U neflavonoidne polifenole spadaju fenolne kiseline, stilbeni, tanini i lignani. Fenolne kiseline su široko rasprostranjene, heterogena grupa organskih kiselina, koje se na osnovu svog ugljenikovog skeleta mogu podeliti na dve podklase: derivate hidroksibenzojeve (C6-C1 skelet) i hidroksicimetne kiseline (C6-C3 skelet). Varijabilnost u okviru podklasa se ogleda u broju, tipu i poziciji bočnih ostataka, dok ugljenikov skelet ostaje isti.



**Slika 4.** Klasifikacija polifenolnih jedinjenja sa najznačajnijim predstavnicima (Orig.).

Polifenolni sastav zrna sirka varira u zavisnosti od genotipa i uslova spoljašnje sredine (Wu et al., 2017a; b; c). Glavna fenolna jedinjenja prisutna u zrnu sirka su: flavonoidi - antocijanini (3-deoksiantocijanidini), flavoni i flavanoni; tanini (kondenzovani tanini ili proantocijanidini); kao i fenolne kiseline (vanilinska, galna, cimetna, protokatehinska, *para*-kumarinska, siringinska, *para*-hidroksibenzoeva, kafeinska, ferulinska i sinapinska kiselina) (Khalid et al., 2022).

Flavonoidi su najzastupljenija fenolna jedinjenja u zrnu sirka, odgovorna su za boju perikarpa (spoljašnji sloj omotača semena) i teste (unutrašnji sloj omotača semena) (Palacios et al., 2021). Ova jedinjenja ispoljavaju snažan antioksidativni potencijal i dele se na: flavonole, izoflavone, flavone, flavanone, flavanole i antocijanidine (Slika 4).

Antocijanidini predstavljaju najbrojniju grupu flavonoida. U biljkama se mogu naći u slobodnom obliku (aglikon), ali se mnogo češće nalaze u obliku glikozida, tj. antocijanina. Antocijanini koji se nalaze u nekim sortama sirka, od velikog su interesa zbog svoje biološke aktivnosti, jer su jedinstveni za zrno sirka i potencijalno ispoljavaju snažan antioksidativni potencijal (Istrati et al., 2019; Xu et al., 2021; Wu et al., 2023). Sirak je redak prirodni izvor posebne vrste antocijanidina, 3-deoksiantocijanidina (3-DXA). Pripisuju mu se mnogi potencijalni zdravstveni benefiti (Xiong et al., 2019b), a njihov sadržaj u sirku je povezan sa bojom perikarpa (Xiong et al., 2019a). Pored svojih antioksidativnih i antimikrobnih svojstava, dominantno prisutni 3-deoksiantocijanidini, apigeninidin i luteolinidin, daju atraktivnu boju različitim genotipovima sirka (Istrati et al., 2019). Za razliku od antocijanina, nedostatak hidroksilne grupe na poziciji C-3 ima za posledicu povećanu stabilnost 3-deoksiantocijanidina na visokim pH vrednostima i temperaturama. Ova specifičnost ih čini pogodnim prirodnim sirovinama za proizvodnju boja za prehrambenu industriju (Awika, 2017). S obzirom da su 3-deoksiantocijanidini retki u višim biljkama, sirak se smatra glavnim i najznačajnijim izvorom ovih jedinjenja (Davis et al., 2019).

Polifenolni profil zrna sirka je raznovrsniji od onih uočenih u drugim žitima, kao što su pšenica, ječam, pirinač, kukuruz, raž i ovas. Fenolne kiseline, flavonoidi i kondenzovani tanini sirka imaju najveću biološku aktivnost, i u *in vitro* analizama su ispoljile visoku antioksidativnu aktivnost. Fenolne kiseline u zrnu sirka, najčešće se nalaze u ukupnoj koncentraciji od 445 do 2850 mg g<sup>-1</sup> (Girard i Awika, 2018). Javljaju se u konjugovanom (rastvorljivom) i vezanom (nerastvorljivom) obliku (u formi polimera ćelijskog zida). Međutim, kako su fenolne kiseline sirka u najvećoj meri prisutne u mekinjama, u vezanom obliku, bioraspoloživost ovih jedinjenja je bitno smanjena.

Zrno sirka sadrži tanine (proantocijanine) velike molekularne mase. Ovo su fenolna jedinjenja sa adstringentnim svojstvima, široko prepoznata kao hemijska barijera protiv patogena. Koncentracija

tanina u genotipovima sirka, u odnosu na njihovu boju, značajno varira. Crveni i smeđi sirak sadrže daleko veću količinu tanina, u odnosu na sirak svetlo obojenog zrna. Ipak, sadržaj tanina u zrnu sirka izaziva zabrinutost, zbog svoje sposobnosti da smanjuje svarljivost hrane (Espitia-Hernandez et al., 2020). Ovaj fenomen je posledica ireverzibilne denaturacije enzima koji učestvuju u varenju hrane i sposobnosti umrežavanja sa proteinima i polisaharidima. Zbog navedenih razloga svrstani su u grupu antinutritivnih. S druge strane, ova svojstva se mogu smatrati i potencijalno korisnim jer molekularna interakcija tanina sa skrobom, proteinima i enzimima smanjuje njihovu svarljivost, što za posledicu ima smanjeni kalorijski unos (Pinheiro et al., 2021). Uprkos antinutritivnom efektu, tanini su opsežno proučavani kao jedinjenja za unapređenje ljudskog zdravlja, jer su daleko efikasniji, od fenola jednostavnije građe, u sposobnosti uklanjanja slobodnih radikala. Funkcionalne prednosti sirka se uglavnom pripisuju oligomerima, koji u hrani doprinose i do 19% antioksidativnog kapaciteta, što je dobro za ljudsko zdravlje i promoviše prevenciju bolesti (Kumari et al., 2021).

Fenolna jedinjenja sirka pokazuju visoku antioksidativnu aktivnost kroz sposobnost uklanjanja slobodnih radikala, a stepen antioksidativne aktivnosti u korelaciji je sa sadržajem ovih fitohemikalija. Antioksidativna aktivnost bioaktivnih jedinjenja sirka povezana je sa mnogim korisnim svojstvima za ljudsko zdravlje kao što su smanjenje oksidativnog stresa, antikancerogena, antidijabetska i antiinflamatorna aktivnost, kao i potencijal modulacije imunog odgovora, i benefitno delovanje na crevnu mikrofloru (Lee et al., 2020; Shakoore et al., 2021; Pontieri et al., 2022).

### **2.3. Elementalni sastav**

Zbog visokog dnevnog unosa, žita mogu biti važan izvor esencijalnih hranljivih jedinjenja, stoga je poznavanje njihovog sastava od velike važnosti. Mineralni nutrijenti igraju osnovnu ulogu u pravilnom funkcionisanju svakog živog organizma. Sirak sadrži značajnu količinu različitih minerala, čija se bioraspoloživost kreće od niske (manje od 1%) do visoke od 90% za Na i K (Pontieri et al., 2014; Nazari et al., 2022), čime može obezbedi značajnu količinu minerala za potrošača. Fosfor i kalijum su nutrijenti zastupljeni u najvećoj količini u semenu sirka, i najčešće čine čak preko 65% ukupne količine mineralnih materija, dok se natrijum najčešće nalazi u malim količinama. Zrno se smatra i dobrim izvorom gvožđa i cinka, koji su od velike važnosti za pravilno funkcionisanje organizma. Međutim, elementarni sastav zrna sirka značajno varira i u velikoj meri zavisi od uslova uzgoja, geografskog porekla i boje (Pontieri et al., 2022).

### **2.4. Zdravstveni efekti sirka**

Sirak poseduje najveću količinu fenolnih jedinjenja od svih žitarica, pa mu se pripisuje širok spektar zdravstvenih benefita (Meena et al., 2022). Upravo iz ovih razloga, potražnja za ovim bezglutenskim žitom neprestano raste. Kao što je ranije pomenuto, po nutritivnoj vrednosti zrno sirka je veoma slično kukuruzu, koji je široko rasprostranjen. Ipak, kao rezultat adaptibilnosti na uslove suše i visoke dostupnosti bioaktivnih komponenata, sirak će verovatno postati jedno od osnovnih zrna u ljudskoj ishrani širom sveta. U novijim studijama, prijavljeno je da sirak pokazuje antioksidativne, antikancerogene i antiinflamatorne efekte, i da postoji veza između sadržaja tanina, antioksidativne aktivnosti i antiinflamatornog potencijala (Hong et al., 2020a; b).

Bioaktivne komponente prisutne u žitima imaju značajnu ulogu u prevenciji raka (Lee et al., 2020). Park et al. (2012) sugerisali su da konzumacija sirka može biti efikasan tretman protiv raka, budući da su ekstrakti sirka značajno efikasniji od ekstrakata drugih žitarica kao što su pšenica i proso. Antocijanini, fenoli i tanini prisutni u semenu sirka, povezani su sa zdravstvenim benefitima u ljudskom organizmu. Takođe, Shih et al. (2007) objavili su dokaze o boljim efektima 3-deoksiantocijanidina sirka na ćelije raka u odnosu na druge antocijanidine.



Gojaznost i prekomerna težina, globalni su problemi savremene populacije, što dovodi do ozbiljnih zdravstvenih problema (Verma and Hussain, 2017). Budući da sirak poseduje teško svarljive polisaharide i proteine, ovo žito može biti od velike koristi (Barros et al., 2012), pružajući duži efekat sitosti i manji kalorijski unos. Takođe, postepeni porast nivoa šećera pogotovu je važan kod ljudi koji boluju od dijabetesa.

## 2.5. Genetika sirka i restorer linije

Oplemenjivanje biljnih vrsta za potrebe krajnjeg korisnika počelo je pripitomljavanjem malog broja divljih vrsta, nakon čega je usledila planirana selekcija u cilju dobijanja superiornih biljnih vrsta. Glavni cilj oplemenjivanja jeste dobijanje (ili kreiranje) sorti sa većim prinosom, boljim adaptivnim karakteristikama/osobinama, povećanom otpornošću prema različitim spoljašnjim uticajima i dobrim nutritivnim kvalitetom. Kako je globalna težnja ka većom produktivnošću na zemljištu lošeg kvaliteta, sirak se istakao kao veoma pogodan i održiv usev za budućnost poljoprivredne proizvodnje. Oplemenjivanje na veću toleranciju na abiotički i biotički stres je veoma važan cilj i iziskuje kontinuirani proces pronalaženja odgovarajućih genotipova i njihove upotrebe kao roditelja donora u programu poboljšanja useva. Konvencionalne metode oplemenjivanja daju veliku uspešnost u unapređenju sorti, a metode ukrštanja se koriste za prenošenje jednostavnih naslednih osobina. Samooplodni usevi se poboljšavaju masovnom selekcijom ili selekcijom čiste linije i koriste se za razvoj homozigotnih linija sa visokim nivoom uniformnosti (Rakshit i Bellundagi, 2019). Uprkos pojavi genomske selekcije uz pomoć markera, konvencionalne metode oplemenjivanja igraju značajnu ulogu u kreiranju novih sorti.

Restorer linije se koriste za obnavljanje plodnosti kod hibrida i imaju ključnu ulogu u programima oplemenjivanja (Rakshit i Bellundagi, 2019). Geni za obnavljanje plodnosti blokiraju ili kompenzuju specifične mitohondrijalne disfunkcije koje su fenotipski izražene tokom razvoja polena. Različiti geni za obnavljanje plodnosti, zajedno sa njihovim molekularnim mehanizmima u obnavljanju plodnosti, su identifikovani i mapirani na različitim hromozomima. Geni za obnavljanje plodnosti mapirani na hromozomu kodiraju protein za promenu gena za mušku sterilnost i obnavljaju (restauriraju) plodnost polena, pa restorer linije mora karakterisati dobra mogućnost kombinovanja i prilagodljivost različitim agroekološkim uslovima da bi se koristile kao oprašivač u programu oplemenjivanja (Rakshit i Bellundagi, 2019).

U zrnu sirka prisutan je širok spektar flavonoida uključujući flavone, flavanone i posebne vrste antocijanidina (3-deoksiantocijanidine) čija je povišena akumulacija karakteristična za genotipove tamnijeg perikarpa. Sinteza ovih bioaktivnih komponenata kontrolisana je aktivnošću specifičnih enzima u fenilpropanoidnom putu. Aktivnost fenilalanin amonijak lijaze i 4-hidroksilaze cimetne kiseline na putu biosinteze flavonoida dovodi do proizvodnje naringenina, koji se delovanjem flavonoid 3'-hidroksilaze može prevesti u eridiktiool. U zrnu sirka, dihidroflavonol 4-reduktaza, flavon sintaza II i flavanon 3-hidroksilaza mogu dovesti do stvaranja različitih flavonoida iz naringenina, skretanjem flavonoidnog puta za proizvodnju flavanola, flavona i antocijanidina.

Flavonoidni profil zrna uslovljen je genima odgovornim za boju perikarpa (*R* i *Y*). Iako zrno crvenog i crnog perikarpa poseduju iste genetske pozadine za boju perikarpa, postoje genetske razlike koje leže u flavonoidnom profilu između crvenog i crnog perikarpa. Proizvodnja 3-deoksiantocijanidina u tkivu lista je dominantna i uobičajena karakteristika, bez obzira na boju zrna, za razliku od akumulacije ovih jedinjenja u tkivu perikarpa. Ipak, s obzirom na sve veće interesovanje za uočene zdravstvene prednosti obojenog zrna, postoji prilika da sirak tamnog zrna pomogne u ispunjavanju nutritivnih i zdravstvenih potreba u budućnosti. Da bi se poboljšalo oplemenjivanje sirka za zrno sa visokim nivoom 3-deoksiantocijanidina, ključno je razumeti ekološke i ćelijske signale koji kontrolišu akumulaciju ovih jedinjenja u tkivu perikarpa. Do sada su identifikovani i istraženi kritični svetlosni spektri koji dovode do akumulacije ovih jedinjenja u perikarpu crnog sirka, i predloženo je da zapravo ova jedinjenja pružaju zrnu epidermalnu zaštitu zrna u razvoju od UV svetlosti.

## 2.6. Sirak kao sirovina za prehrambenu industriju

Hrana biljnog porekla, kao što su žita, povrće i voće, obezbeđuju esencijalne hranljive komponente za pravilno funkcionisanje ljudskog organizma. Poznato je da sekundarni metaboliti biljaka igraju ključnu ulogu u prilagođavanju biljaka spoljašnjim uslovima, ali takođe predstavljaju važan izvor biološki aktivnih nutrijenata. Povećanjem svesti potrošača da hrana može doneti i zdravstvene benefite razvio se koncept hrane sa dodatom vrednošću, koja pored svog primarnog nutritivnog efekta treba da ispoljava i pozitivan uticaj na čovekov organizam (poboljšanje opšteg fizičkog stanja, smanjenje rizika od bolesti, itd.). Polifenoli, posebno njihovi glikozidi, su najvažniji biljni sekundarni metaboliti u ljudskoj ishrani kojima se pripisuje širok spektar zdravstvenih koristi. Iako se polifenoli prirodno nalaze u biljkama, ukupna koncentracija polifenola u ljudskoj ishrani može značajno da varira.

Sirak je žitarica koja se tradicionalno koristi kao stočna hrana, a ne kao žito za ljudsku ishranu, uprkos činjenici da je primarno žito koja se koristi u konvencionalnoj proizvodnji raznih proizvoda u delovima polusušnih tropskih područja Afrike i Azije (Rani et al., 2016; Taylor et al., 2006). U osnovi, sirak je održiviji od ostalih useva zbog tolerancije na sušu i visoke temperature (Medeiros et al., 2012; Taylor et al., 2006). Uprkos nižim troškovima i lakšoj proizvodnji, globalna potrošnja sirka je niska u poređenju sa pšenicom i kukuruzom (Anunciacao et al., 2017; Chavez et al., 2018). Nedavno je došlo do povećanog interesovanja za upotrebu sirka u proizvodnji premium prehrambenih proizvoda. Ovo se posebno odnosi na tržište zdrave hrane, u regionima sveta koji tradicionalno nisu koristili ovo zрно u ljudskoj ishrani. Otuda se otvaraju brojne mogućnosti za istraživanja, unapređenje sorti i promociju ovog žita kao važnog izvora hrane u svetu.

Zbog sve češće pojave zdravstvenih problema povezanih sa intolerancijom na gluten, raste interesovanje za bezglutenskim proizvodima, što otvara nove mogućnosti za korišćenje sirka kao sirovine u prehrambenoj industriji. Razvoj bezglutenskih proizvoda, pored savladavanja zahtevnih tehnoloških izazova u procesu proizvodnje, predstavlja i dodatni izazov u obezbeđivanju adekvatnog senzornog profila proizvoda, prihvatljivog za potrošača i njegov bolji plasman na tržištu.

Sagledavajući nedostatke komercijalno dostupnih bezglutenskih proizvoda, jedan od ciljeva istraživanja ove doktorske disertacije bio je usmeren ka razvoju i sagledavanju senzornog profila novokreiranog proizvoda. Dobar način inkorporacije sirka u prehrambene proizvode i dosezanje veće potrošnje može se postići kroz njegovu primenu u pekarskoj i konditorskoj industriji. Ovi proizvodi se konzumiraju od strane velikog broja potrošača različitog starosnog doba. Mešavine brašna sirka i drugih vrsta bezglutenskog brašna mogu se koristiti za proizvodnju pekarskih proizvoda koji ne sadrže gluten, uključujući kolače, pastu, keks, tortilje, itd. Nivo supstitucije sirka zavisi od većeg broja faktora vezanih za finalni proizvod. U studijama sprovedenim za dobijanje funkcionalnih prehrambenih proizvoda (poput hleba, kolača i grickalica) sa dodatkom sirka, pokazalo se da on daje privlačnu prirodnu boju bez negativnog uticaja na senzorna svojstva (Acosta et al., 2003).

Čajno pecivo je jedna od najčešće korišćenih namirnica u ljudskoj ishrani. Vrlo često se koristi kao užina, a neretko i kao zamena za obrok. U prilog globalnom trendu povećane potrošnje čajnog peciva stoji i činjenica da ovaj proizvod ima dug rok trajanja i nisku cenu. Kao osnova za proizvodnju čajnog peciva, najčešće se koristi pšenično brašno zbog glutena koji omogućava laku manipulaciju testom. Kako ovaj proizvod omogućava upotrebu različitih sirovina, sve češće se u čajna peciva inkorporiraju brašna bezglutenskih žita. S obzirom na stepen zastupljenosti čajnog peciva u svakodnevnoj ishrani ljudi na globalnom nivou, a istovremeno i zbog povećane svesti potrošača o značajnosti nutritivno vrednih prehrambenih proizvoda, pred industriju se stavlja ne tako lak zadatak. Činjenica da je čajno pecivo veoma zastupljeno na tržištu i lako dostupno, kao i da ga konzumiraju i najmlađi potrošači, nameće se važnost inkorporacije visoko vrednih sirovina koje bi ultimativno imale pozitivan uticaj na zdravlje potrošača. Trenutno, na tržištu postoji čitav niz konditorskih proizvoda obogaćenih bioaktivnim komponentama koje pozitivno utiču na zdravlje.

### 3. CILJ I ZNAČAJ ISTRAŽIVANJA

Oblikovan metaboličkim procesima koji nastaju u biljkama pod uticajem faktora sredine i genetskog potencijala, hemijski sastav zrna određuje njegov nutritivni kvalitet. Uzimajući u obzir sveprisutni trend zdravog načina života, koji podrazumeva povećanu potrošnju prirodnih proizvoda, neophodno je uvesti nove sirovine za proizvodnju visokokvalitetne hrane.

Sirak ima veliki potencijal za eksploataciju zbog superiornih agronomskih atributa (tolerantnost prema suši i patogenima) i nutritivne vrednosti zrna. Budući da obojeno zrno sirka u poslednje vreme postaje atraktivna sirovina za proizvodnju hrane, znanje o varijaciji nutritivnog i funkcionalnog kvaliteta različitih genotipova je od suštinskog značaja kako bi se podržali programi oplemenjivanja za razvoj visoko hranljivih sorti za ljudsku ishranu. S obzirom na varijabilnost, poreklo i obim analizirane kolekcije restorer linija, ova studija može se smatrati jednom od najvećih u regionu Južne i Jugoistočne Evrope sa ciljevima:

1. Analiza nutritivnog potencijala i biološke aktivnosti genotipova sirka svetskog porekla iz kolekcije Instituta za ratarstvo i povrtarstvo u Novom Sadu sa ciljem ispitivanja raznovrsnosti i potencijala primene.
2. Analiza osnovnih parametara nutritivnog kvaliteta (sadržaj pepela, proteina, ulja i skroba).
3. Analiza sadržaja polifenolnih jedinjenja (ukupne količine polifenola, tanina, flavonoida i antocijanina).
4. Analiza antioksidativnog kapaciteta zrna sirka iz kolekcije restorer linija i izgradnja veštačke neuronske mreže (ANN), u cilju predviđanja antioksidativne aktivnosti zrna sirka.
5. Odabir pogodnih genotipova za ljudsku ishranu.
6. Utvrđivanje i poređenje polifenolnog, aminokiselinskog i masnokiselinskog sastava, sadržaja makro- i mikro- elemenata i antioksidativne aktivnost odabranih genotipova zrna sirka (genotipovi visokog potencijala za upotrebu u proizvodnji hrane).
7. Analiza glavnih komponenti (PCA) i hijerarhijska klaster analiza (HCA) za sadržaj polifenola, aminokiselina, masnih kiselina i elemenata radi identifikacije grupa uzoraka sa najvišim sadržajem ispitivanih komponenata.
8. Teorijska procena nutritivne vrednosti proučavanih genotipova za ljudsku ishranu, radi utvrđivanja potencijala genotipova kao izvora makro- i mikro- elemenata kroz ishranu.
9. Istraživanje strukture, stabilnosti i termodinamičkog mehanizma antiradikalske aktivnosti luteolinidina i apigeninidina prema hidroksil ( $\text{HO}^{\bullet}$ ) i askorbil ( $\text{Asc}^{\bullet}$ ) radikalima, kroz teoriju funkcionalne gustine i orbitalne analize prirodne veze.
10. Odabir najpogodnijeg genotipa za razvijanje visokokvalitetnih pekarsko konditorskih proizvoda i kreiranje inovativnog pekarsko konditorskog proizvoda.
11. Senzorna analiza i kontrola kvaliteta dobijenog proizvoda.

## 4. MATERIJAL I METODE

U cilju izrade doktorske disertacije sprovedena je analiza semena 172 restorer (R) linije sirka iz kolekcije Instituta za ratarstvo i povrtarstvo u Novom Sadu (IFVCNS), Instituta od nacionalnog značaja za Republiku Srbiju (Prilog 1).

Analizirani uzorci proizvedeni su u Institutu za ratarstvo i povrtarstvo na Odeljenju za povrtarske i alternativne biljne vrste (Bački Petrovac, N 45°34'; E 19°67') u konvencionalnom sistemu gajenja za proizvodnju komercijalnih genotipova Instituta, 2020. godine (Slika 5). Ogledne parcele su se sastojale od 3 reda dužine 5 m, sa razmakom od 0,7 m između redova i 10 cm između biljaka u svakom redu. Tokom sezone primenjivana je tehnologija koja je preporučena za gajenje sirka za zrno. Da bi se izbeglo nekontrolisano unakrsno oplođenje, 10 metlica je izolovano papirnim kesama pre cvetanja. U vreme tehnološke zrelosti, izolovane metlice su ručno skidane, sušene u sušari, a seme odabranih metlica spajano je i čuvano u papirnim kesama.



**Slika 5.** Fotografije sirka (*Sorghum bicolor* L. Moench) iz kolekcije Instituta za ratarstvo i povrtarstvo u Novom Sadu (Orig.).

Kako bi se procenio nutritivni potencijal i biološka aktivnost semena sirka, primenjene su različite hemijske i instrumentalne metode u cilju što opsežnijeg profilisanja uzoraka. Stoga se istraživanja u okviru ove disertacije mogu podeliti u tri celine:

- A. Analiza parametara kvaliteta semena sirka koja je omogućila odabir pogodnih genotipova za ljudsku ishranu. Ispitivani parametri su obuhvatili određivanje boje semena, sadržaj pepela, proteina, ulja, skroba i tanina kao antinutrijenata. Pored navedenog utvrđen je i sadržaj ostalih polifenolnih jedinjenja: sadržaj ukupne količine polifenola, flavonoida i antocijanina, i antioksidativni kapacitet. Na celoj kolekciji restorer linija gajenih u agroekološkim uslovima Srbije, analize su izvršene u Laboratoriji za ispitivanje biljnih materijala i proizvoda na Odeljenju za povrtarske i alternativne biljne vrste Instituta za ratarstvo i povrtarstvo, Novi Sad.
- B. Odabrani genotipovi sa visokim proizvodnim potencijalom za upotrebu u prehrambenoj industriji predstavljali su osnovu za detaljnija istraživanja nutritivnog kvaliteta. Fokus je usmeren na elementalnu analizu, analizu polifenolnog, aminokiselinskog i masnokiselinskog sastava, što čini drugu tematsku celinu u okviru ispitivanja. Analize su izvršene u Laboratoriji u okviru Hemijskog fakulteta Univerziteta u Beogradu, Laboratoriji u okviru Naučnog instituta za prehrambene tehnologije, Univerziteta u Novom Sadu i Laboratoriji u okviru Poljoprivrednog fakulteta Univerziteta u Beogradu.

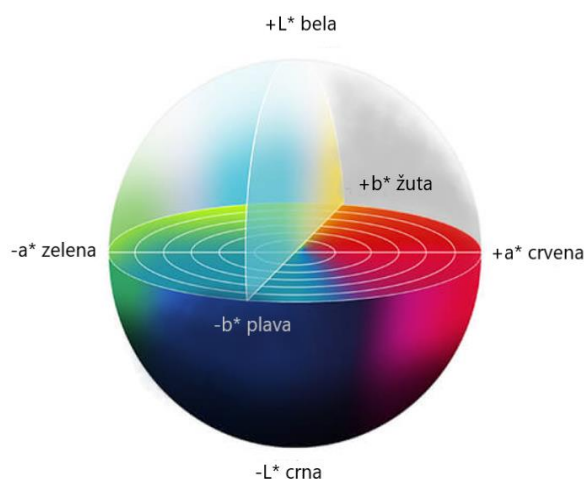
- C. Poslednja celina usmerena je na ispitivanja primene sirka u proizvodnji bezglutenskog čajnog peciva i analizu kreiranog proizvoda. Analize su izvršene u okviru Laboratorija Naučnog instituta za prehrambene tehnologije, Univerziteta u Novom Sadu

## A. Analiza parametara kvaliteta semena sirka iz IFVCNS kolekcije

### 4.1. Određivanje parametara boje semena sirka

Boja zrna sirka određena je kolorimetrijski (Minolta CR-400 Chroma Meter, Light Protection Tube sa staklenom zaštitnom pločom CR-A33a), i izražena kao  $L^*$ ,  $a^*$  i  $b^*$  (CIE, 1976):  $L^*$  vrednosti predstavljaju svetloću boje (0 crna, 100 bela),  $a^*$  vrednosti predstavljaju udeo crvene boje – od zelene do crvene ( $-a^*$  zelenila) i  $b^*$  vrednosti predstavljaju udeo žute boje – od plave do žute ( $-b^*$  plavetnila). Trodimenzionalni prostorni raspored boja prikazan je na Slici 6.

Pre analize izvršena je kalibracija upotrebom standardne bele ploče CR-A43 („Konica Minolta“, Japan), dok je za merenja korišćeno osvetljenje D-65, standardni ugao gledanja od  $2^\circ$  i prečnik kontaktne površine 8 mm. Sva merenja su obavljena u šest ponavljanja ( $n=6$ ) po uzorku.



**Slika 6.** CIELab trodimenzionalni prostorni raspored boja (adaptirana slika CIE, 1976).

### 4.2. Standardne analize za utvrđivanje kvaliteta semena sirka

Uzorci semena sirka očišćeni su od stranih primesa (organskog i neorganskog porekla, kao i polomljenih zrna), samleveni u mlinu (IKA A11 basic analytical mill) i prosejani kroz sito kvadratnih otvora veličine 0,5 mm. Samleveno seme je vakumirano i čuvano u frižideru do momenta analize.

Dobijene vrednosti za sadržaj vlage, pepela, skroba, proteina i ulja u semenu sirka izražene su kao % u odnosu na apsolutno suhu masu semena (s.m.) (Prilog 2). Navedene analize predstavljaju standardne analize kvaliteta semena sirka za ljudsku upotrebu koji su preporučeni prema zahtevima međunarodnih standarda za hranu (Codex alimentarius - CXS 172-1989 i Technical Specifications for SORGHUM GRAINS - CERSOR010, 2020). Prema istim zahtevima, granične vrednosti za pojedine parametre su: sadržaj vlage max. 13%, pepela max. 1,5%, proteina min 7,0%, ulja max. 5,0% i sadržaj tanina max. 0,5% (izraženo kao % u odnosu na apsolutno suhu masu semena).

### **4.3. Određivanje sadržaja vlage, skroba i proteina u semenu sirka**

Sadržaj vlage određen je gravimetrijski, sušenjem na 103 °C, 3h (SRPS EN ISO 712:2012). Sadržaj pepela određen je gravimetrijski, žarenjem samlevenog semena u porculanskim posudama prema metodi opisanoj u farmakopeji (Ph. Eur. 2.4.16, 2013).

Sadržaj skroba određen je polarimetrijski (ISO 10520:1997).

Određivanje sadržaja azota u semenu sirka je izvršeno metodom po Kjeldahl-u (Proizvođačka specifikacija Gerhardt, 2003), u tri ponavljanja (n=3), a sadržaj ukupnih proteina dobijen je računskim putem množenjem dobijene vrednosti za sadržaj azota faktorom za proteine sirka ( $N \times 6,25$ ). Vrednosti su izražene kao srednja vrednost  $\pm$  standardna devijacija.

Sadržaj ulja određen je metodom po Soxhlet-u, u tri ponavljanja (n=3), ekstrakcijom ulja 8 h na 70 °C (Službeni glasnik SFRJ, 1985). Vrednosti su izražene kao srednja vrednost  $\pm$  standardna devijacija.

### **4.4. Priprema ekstrakata sirka**

Ekstrakcija polifenola je izvršena na dva načina. U prvom slučaju je kao ekstrakciono sredstvo korišćen apsolutni metanol zakišljen sa 1% koncentrovane hlorovodonične kiseline (99/1, v/v), dok je u drugom slučaju upotrebljeni 70% vodeni rastvor acetona. Prema dostupnim literaturnim podacima, navedena ekstrakciona sredstva su najčešće korišćena za ekstrakciju polifenola iz semena sirka (Barros et al., 2013; Dykes, 2019; Wang et al., 2020). Odnos biljnog materijala i ekstrakcionog sredstva bio je 1:10 (m/V). Samlevni i prosejani uzorci su odmereni ( $1,0000 \text{ g} \pm 0,0001 \text{ g}$ ) na analitičkoj vagi i nakon dodavanja ekstrakcionog sredstva (10 mL) izvršena je ekstrakcija u ultrazvučnom kupatilu 45 min, uz dodatak leda kako ne bi došlo do zagrevanja uzoraka. Nakon ekstrakcije izvršeno je centrifugiranje ekstrakata (10 min, 4000 obrtaja/min;  $1960 \times g$ ), a dobijeni supernatanti su automatskom pipetom odliveni u posebne epruvete i korišćeni u daljem radu. Ekstrakcija polifenola izvršena je u tri ponavljanja (n=3) po uzorku.

U dobijenim ekstraktima određen je sadržaj ukupnih polifenola, tanina, flavonoida, antocijanina, i skrining antioksidativnog kapaciteta. Sve metode su urađene spektrofotometrijski (Perkin Elmer, UV–VIS Lambda Bio 20) u tri ponavljanja po ekstraktu (n=3), a rezultati su izraženi kao % u odnosu na apsolutno suhu masu semena (s.m.).

### **4.5. Određivanje sadržaja ukupnih polifenola u ekstraktima sirka**

Količina ukupnih polifenola određena je po metodi Folin-Ciocalteu (Makkar et al., 2003) koja se bazira na činjenici da su fenolna jedinjenja redukujuća sredstva. U epruvete je dodato 5 mL H<sub>2</sub>O, 0,5 mL 33% rastvora Folin-Ciocalteu i 0,2 mL ekstrakta (izuzev u slepu probu). Rastvori su homogenizovani upotrebom vorteksa i nakon 3 do 6 min dodato je po 1 mL 20% Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>.

Nakon 60 minuta, na  $\lambda=756 \text{ nm}$  očitane je apsorbanca. Izračunavanje sledi iz kalibracione krive zavisnosti apsorbance i standarda galne kiseline različitih koncentracija (između 0,1 i 11  $\mu\text{g}$  galne kiseline mL<sup>-1</sup>).

### **4.6. Određivanje sadržaja ukupnih tanina u ekstraktima sirka**

Za određivanje sadržaja tanina u semenu sirka, pored hromatografskih metoda, može se koristiti veći broj metoda: Feri-amonijum citrat (SRPS ISO 9648:2013), butanol-HCl (Makkar, 2003), vanilin HCl/H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> metoda (Dykes, 2019), kao i metode taloženjem (Makkar et al., 2003).

U okviru disertacije, sadržaj tanina određen je metodom taloženja sa polivinilpolipirrolidonom (PVPP), a sadržaj kondenzovanih tanina (proantocijanidina) određen je butanol-HCl metodom. Korišćena ekstrakciona sredstva (MeOH i aceton) su izabrana, jer su pokazala najveći sadržaj tanina po standardnoj Feri-amonijum citrat metodi (Wang et al., 2020).

#### **4.6.1. Sadržaja ukupnih tanina / taložna reakcija sa PVPP**

Za određivanje količine tanina taloženjem, primenjena je metoda za određivanje ukupnih fenola (Makkar, 2003), s tim što je kao uzorak korišćen supernatant dobijen centrifugiranjem ( $1960 \times g$  10 min) reakcione smeše koju je činilo 0,1 g polivinilpolipirrolidona (PVPP), 1 mL H<sub>2</sub>O i 1 mL ekstrakta semena sirka. PVPP vezuje tanine, čime dolazi do njihovog taloženja, pa se zapravo određuje sadržaj prostih, netaninskih fenola u supernatantu, a sadržaj tanina u uzorku dobija se iz razlike sadržaja ukupnih fenola i sadržaja netaninskih fenola.

#### **4.6.2. Određivanje sadržaja kondenzovanih tanina (proantocijanidina) / butanol-HCl**

Korišćena metoda (Makkar, 2003) zasniva se na oksidativnoj depolimerizaciji kondenzovanih tanina sa butanol-HCl reagensom. Reakcionu smešu slepe i radne probe čine 3 mL butanol-HCl reagensa (95/5, v/v), 0,1 mL feri reagensa (2% feri-amonijum sulfat u 2M HCl) i 0,5 mL acetonskog ekstrakta semena sirka (po potrebi razblaženog sa butanol-HCl reagensom). Epruvete su nakon mešanja/homogenizacije pokrivene staklenim klikerima i stavljene na ključalo vođeno kupatilo 60 min (osim epruvete slepe probe koje nisu zagrevane).

Nakon hlađenja, apsorbance su očitane na  $\lambda=550$  nm. Sadržaj kondenzovanih tanina (proantocijanidina) izračunat je kao ekvivalent leukocijanidina formulom:  $A_{550 \text{ nm}} \times 78,26 \times \text{faktor razblaženja}$  (koristeći molarni ekstinkcioni koeficijent leukocijanidina,  $E^{1\%, 1\text{cm}, 550\text{nm}}, 460$ ).

### **4.7. Određivanje sadržaja ukupnih flavonoida u ekstraktima sirka**

Flavonoidi sa metalnim jonima grade odgovarajuće metalo-komplekse. Naročito je značajan Al<sup>3+</sup> jon koji se vezuje za ukupne flavonoide, gradeći kompleks, pa je sumarni apsorpcioni maksimum određen po metodi Pękal i Pyrzynska (2014). Reakcioni medijum radne probe čine 0,5 mL uzorka (metanolni ekstrakt semena sirka) i 2 mL 10% rastvora AlCl<sub>3</sub> (osim slepe probe gde se umesto ekstrakta dodaje H<sub>2</sub>O). Nakon mešanja i centrifugiranja 15 min. na 4000 obrtaja/min ( $1960 \times g$ ), apsorbance je očitana na  $\lambda=440$  nm.

Izračunavanje sadržaja ukupnih flavonoida sledi iz kalibracione krive zavisnosti apsorbance i različitih koncentracija standarda rutina (između 2 i 20  $\mu\text{g}$  rutina mL<sup>-1</sup>).

### **4.8. Određivanje sadržaja ukupnih antocijanina u ekstraktima sirka**

Određivanje sadržaja ukupnih antocijanina urađeno je primenom pH diferencijalne metode (Lee et al., 2005). Princip ove metode zasniva se na osobini antocijanina da menjaju svoju strukturu pri promeni pH sredine. Tom prilikom dolazi do promene njihovog apsorpcionog spektra. Pri pH vrednosti 1,0 ova jedinjenja daju crvenu boju (tada su u obliku oksonijum jona), a pri pH 4,5 rastvor antocijanina je bezbojan (poluketalni oblik). Metanolni ekstrakt semena sirka (0,5 mL) postavljen je u reakcione medijume sa po 3 mL: 0,025 mol L<sup>-1</sup> kalijum hlorida (pH = 1,0) i 0,4 mol L<sup>-1</sup> natrijum acetata (pH = 4,5). Nakon 20 min inkubacije, apsorbance su izmerene na 520 nm i 700 nm (poslednja talasna dužina očitava se zbog korekcije zamućenja).

Sadržaj ukupnih antocijanina izračunat je kao mg ekvivalenata cijanidin-3-glukozida po gramu apsolutno suve mase semena (mg g<sup>-1</sup> s.m.) i izražen kao % apsolutno suve mase.

$$\text{Sadržaj ukupnih antocijanina} = (A \times MW \times DF \times 10^3) / e \times 1 \quad (2)$$

gde su:  $A = (A_{520\text{nm}} - A_{700\text{nm}})_{\text{pH } 1,0} - (A_{520\text{nm}} - A_{700\text{nm}})_{\text{pH } 4,5}$ ;  $MW = 449,2 \text{ g mol}^{-1}$  cijanidin-3-glukozida;  $DF$  – faktor razblaženja;  $10^3$  – faktor za konverziju g u mg;  $e = 26\,900$  molarni koeficijent ekstinkcije, izražen u  $\text{L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ;  $l$  – putanja u cm.

#### 4.9. Antioksidativna aktivnost - sposobnost uklanjanja DPPH radikala

Ukupna ne-enzimska, antioksidativna aktivnost ispitivanih uzoraka određena je spektrofotometrijski, po metodi opisanoj u literaturi (Panda, 2012) koja se zasniva na razlici u aktivnosti uklanjanja 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil radikala (DPPH\*) između kontrolnog uzorka i radne probe. Metanolnim ekstraktima semena sirka (0,2 mL) dodato je 0,3 mL DPPH etanolnog rastvora (90  $\mu\text{M}$ ) i 2,5 mL metanola, dok je u kontrolni uzorak umesto uzorka dodato 0,2 mL metanola. Nakon 30 min očitana je apsorbanca na  $\lambda=517 \text{ nm}$ .

Aktivnost uklanjanja DPPH radikala cele kolekcije uzoraka sirka izražena je kao % u odnosu na slepu probu u koju nije dodat uzorak.

$$\text{Inhibicija (\%)} = [(A_{\text{kontrola}} - A_{\text{uzorak}}) / A_{\text{kontrola}}] \times 100 \quad (3)$$

## B. Procena nutritivnog kvaliteta semena sirka izabranih genotipova

Nakon ispitivanja osnovnih parametara nutritivnog kvaliteta, dobijene vrednosti upoređene su sa međunarodno priznatim standardnim vrednostima (CXS 172-1989, CERSOR10, 2020) u cilju izdvajanja najpogodnijih genotipova za upotrebu u ljudskoj ishrani. Kao rezultat istraživanja odabrano je šesnaest genotipova sirka (Tabela 1) sa najvećim nutritivnim potencijalom, u smislu njegove dalje prerade i eksploatacije za razvoj visokokvalitetnih prehrambenih proizvoda. Na izabranim genotipovima izvršene su detaljnije analize kvaliteta.

**Tabela 1.** Lista odabranih genotipova sirka iz kolekcije Instituta za ratarstvo i povrtarstvo, pogodnih za ljudsku ishranu.

| Oznaka | Uzorak | Genotip             | Poreklo kolekcije                            |
|--------|--------|---------------------|----------------------------------------------|
| S1     | Re2    | AK 3001             | Gabonatermesztesi Kutato Intezet Szeged, HUN |
| S2     | Re31   | ROKY 78             | Oklahoma State University Stillwater, USA    |
| S3     | Re45   | NK R 310            | Gabonatermesztesi Kutato Intezet Szeged, HUN |
| S4     | Re161  | ROKY 27             | Oklahoma State University Stillwater, USA    |
| S5     | Re168  | ROKY 78             | Oklahoma State University Stillwater, USA    |
| S6     | Re169  | ROKY 78             | Oklahoma State University Stillwater, USA    |
| S7     | Re187  | IA 14               | Iowa State University Ames, USA              |
| S8     | Re192  | IA 19               | Iowa State University Ames, USA              |
| S9     | Re218  | RTx 434             | Texas A&M University College Station, USA    |
| S10    | Re230  | RTx 2744            | Texas Agric. Experiment Station Lubbock, USA |
| S11    | Re248  | 32612 T             | Nepoznato                                    |
| S12    | Re258  | NK 115 978/90       | Northrup King, USA                           |
| S13    | Re261  | NK 90 970/90        | Northrup King, USA                           |
| S14    | Re262  | Pioneer 8910 968/90 | Pioneer, USA                                 |
| S15    | Re279  | Tx 2834             | Texas A&M University College Station, USA    |
| S16    | Re284  | Tx 2839             | Texas A&M University College Station, USA    |



#### 4.10. Određivanje sadržaja 3-deoksiantocijanina

Za kvantitativno određivanje polifenolnih jedinjenja korišćeni su metanolni ekstrakti sirka dobijeni ultrazvučnom ekstrakcijom (Barros et al., 2013; Dykes et al., 2019; Wang et al., 2020). Ukratko, uzorci su izmereni ( $0,5000 \text{ g} \pm 0,0001 \text{ g}$ ) na analitičkoj vagi i ekstrahovani sa 10 mL MeOH, kao agensa za ekstrakciju ( $2 \times 5 \text{ mL}$ ). Ekstrakcija je izvedena u ultrazvučnom kupatilu 45 min uz dodatak leda da bi se sprečilo zagrevanje uzoraka. Zatim su ekstrakti centrifugirani na  $1960 \times g$  tokom 10 min, a dobijeni supernatanti su automatskom pipetom prebačeni u odvojene epruvete i korišćeni za dalji rad. Ekstrakcija je izvedena u tri ponavljanja ( $n=3$ ) po uzorku.

Sadržaj 3-deoksiantocijanina je određen prema modifikovanoj metodi koju su objavili Xiong et al. (2020). Ukratko, prethodno pripremljeni ekstrakti su upareni u atmosferi  $\text{N}_2$ , rekonstituisani sa metanolom i filtrirani kroz regenerisani celulozni špric filter ( $0,45 \text{ }\mu\text{m}$ ). Pripremljeni uzorci su ubrizgani u HPLC/DAD sistem (1200 serija, Agilent, Santa Clara, Kalifornija, SAD) sa Zorbax Eclipse KSDB-C18 ( $4,6 \text{ mm} \times 50 \text{ mm}$ ;  $1,8 \text{ }\mu\text{m}$ ) analitičkom kolonom.

Odvajanje 3-deoksiantocijanina izvršeno je korišćenjem 1% vodenog rastvora mravlje kiseline kao mobilne faze A i acetonitrila kao mobilne faze B. Gradijent za mobilnu fazu A je podešen na sledeći način: 95% (0 min), 95–92% (5 min), 92–79% (35 min), 79–65% (40 min), 65–95% (45 min) i 95% (49 min). Ostali parametri, kao što su brzina protoka, DAD talasna dužina i zapremina ubrizgavanja, postavljeni su kako su opisali Xiong et al. (2020). Kalibracione krive luteolinidina ( $R^2 = 1$ ) i apigeninidina ( $R^2 = 0,9997$ ) su konstruisane sa 5 kalibracionih tačaka analitičkih standarda u opsegu koncentracija  $0,75\text{--}15 \text{ }\mu\text{g mL}^{-1}$ . Rezultati su izraženi kao  $\mu\text{g}$  odgovarajućeg standarda po gramu suve mase uzorka ( $\mu\text{g g}^{-1}$ ).

#### 4.11. Antioksidativna aktivnost odabranih genotipova sirka

Antioksidativna aktivnost metanolnih ekstrakata šesnaest izabranih genotipova sirka ispitana je UV/VIS spektrofotometrijom (primenom DPPH, ABTS i FRAP metode), pomoću elektronske paramagnetne rezonancije (primenom testova neutralizacije hidroksil i askorbil radikala) i dodatno je izvršeno određivanje termodinamički najpogodnijeg mehanizma antioksidativne aktivnosti.

Samlevni uzorci su izmereni ( $0,5000 \text{ g} \pm 0,0001 \text{ g}$ ) na analitičkoj vagi i ekstrahovani sa 10 mL ekstrakcionog sredstva (MeOH). Ekstrakcija je izvršena u ultrazvučnom kupatilu u trajanju od 45 min, uz dodatak leda da bi se sprečilo zagrevanje uzoraka. Ekstrakti su centrifugirani na  $1960 \times g$  tokom 10 min, a dobijeni supernatanti su korišćeni za dalji rad. Ekstrakcija je izvedena u tri ponavljanja po uzorku ( $n=3$ ).

##### 4.11.1. Određivanje sposobnosti neutralizacije DPPH radikala

Antioksidativna aktivnost ispitivanih MeOH ekstrakata određena je korišćenjem slobodnog radikala 2,2-difenil-1-pikrilhidrazila (DPPH $^{\bullet}$ ) prema metodi koju su opisali Brand-Williams et al. (1995). Koncentracija radnih rastvora bila je  $0,05 \text{ g mL}^{-1}$ . Ukratko,  $100 \text{ }\mu\text{L}$  uzoraka je pomešano sa  $4 \text{ mL}$  metanolnog rastvora DPPH radikala ( $150 \text{ }\mu\text{M}$ ). Epruvete su inkubirane u mraku 30 min. Nakon toga, apsorbanca je merena na  $515 \text{ nm}$  na UV-VIS spektrofotometru (Du-8200 Single Beam UV/VIS spektrofotometar, Šangaj, Kina).

Sposobnost uklanjanja DPPH radikala izražena je kao  $\mu\text{mol}$  Trolox ekvivalentni (TE) antioksidativni kapacitet po gramu suve mase uzorka ( $\mu\text{mol TE g}^{-1} \text{ s.m.}$ ). Kalibraciona kriva Trolox-a je konstruisana sa šest kalibracionih tačaka u opsegu koncentracija od  $0 \text{ }\mu\text{g mL}^{-1}$  do  $600 \text{ }\mu\text{g mL}^{-1}$ .

#### 4.11.2. Određivanje sposobnosti neutralizacije ABTS radikala

ABTS test je široko korišćena spektrofotometrijska metoda za procenu antioksidativnog kapaciteta, zasnovana na merenju sposobnosti inhibicije  $\text{ABTS}^{\bullet+}$  radikalskog katjona (2,2'-Azino-bis(3-etilbenzotiazolin-6-sulfonska kiselina) - ABTS). ABTS test je izveden po metodi koju su opisali Munteanu i saradnici, uz male modifikacije (Munteanu et al., 2022). Ukratko,  $\text{ABTS}^{\bullet+}$  reagens je pripremljen mešanjem jednakih zapremina 5 mM rastvora ABTS i 2,45 mM rastvora  $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ . Dobijena smeša je čuvana

na sobnoj temperaturi u mraku 24 h. Nakon toga je dobijeni rastvor razblažen etanolom sve dok izmerena apsorbanca na 734 nm nije bila blizu 0,8. Zapremina od 50  $\mu\text{L}$  rastvora ekstrakta je pomešana sa 4 mL  $\text{ABTS}^{\bullet+}$  reagensa, a apsorbanca svakog uzorka je izmerena nakon 30 minuta na 734 nm (Du-8200 Single Beam UV/Vis spektrofotometar, Šangaj, Kina).

Rezultati su izraženi kao  $\mu\text{mol}$  Trolox ekvivalentni antioksidativni kapacitet po gramu suve mase uzorka ( $\mu\text{mol TE g}^{-1}$  s.m.). Kalibraciona kriva Trolox-a je konstruisana sa šest kalibracionih tačaka u opsegu koncentracija od 0  $\mu\text{g mL}^{-1}$  do 600  $\mu\text{g mL}^{-1}$ .

#### 4.11.3. Određivanje redukcione sposobnosti ekstrakta FRAP testom

Analiza antioksidativne moći heliranja  $\text{Fe}^{2+}$  jona (*ferric reducing antioxidant power* - FRAP) izvedena je korišćenjem metode koju su opisali Mitevski et al. (2023). FRAP test je zasnovan na nespecifičnoj reakciji po kojoj svaki sistem koji ima manje pozitivan redoks potencijal od sistema  $\text{Fe}^{3+}$ -TPTZ/ $\text{Fe}^{2+}$ -TPTZ (2,4,6-tripiridil-s-triazina) dovodi do redukcije  $\text{Fe}^{3+}$ -TPTZ. Prilikom redukcije koordinaciono jedinjenje  $\text{Fe(II)}$  daje tamno plavo intenzivno obojenje sa apsorpcionim maksimumom na 593 nm. Ukratko, rastvor ekstrakta (100  $\mu\text{L}$ , 0,05  $\text{g mL}^{-1}$ ) je pomešan sa 300  $\mu\text{L}$  destilovane vode i 3 mL FRAP reagensa. FRAP reagens je pripremljen mešanjem 2,5 mL 10 mM TPTZ, 2,5 mL 20 mM  $\text{FeCl}_3 \times 6\text{H}_2\text{O}$  i 25 mL 300 mM acetatnog pufera (pH 3,6). Apsorbanca je izmerena nakon 40 minuta na 593 nm (Du-8200 Single Beam UV/VIS spektrofotometar, Šangaj, Kina).

Rezultati su izraženi kao  $\mu\text{mol}$  Trolox ekvivalentni antioksidativni kapacitet po gramu suve mase uzorka ( $\mu\text{mol TE g}^{-1}$  s.m.). Kalibraciona kriva Trolox-a je konstruisana sa šest kalibracionih tačaka u opsegu koncentracija od 0  $\mu\text{g mL}^{-1}$  do 600  $\mu\text{g mL}^{-1}$ .

#### 4.11.4. Elektronska paramagnetna rezonancija (EPR)

Elektronska paramagnetna rezonancija (EPR) je spektroskopska tehnika koja se koristi za detekciju rezonantne apsorpcije mikrotalasnog zračenja u homogenom magnetnom polju, a primenjuje se na sisteme koji sadrže barem jedan nespareni elektron. Ova tehnika daje mogućnost detekcije veoma niskih koncentracija slobodnih radikala.

##### 4.11.4.1. Ispitivanje neutralizacije hidroksil radikla ( $\text{HO}^\bullet$ )

Za ispitivanje antioksidativnog potencijala ekstrakta sirka prema hidroksil radikal (HO $^\bullet$ ), korišćen je rastvor koji se sastoji od MeOH ekstrakta sirka zajedno sa generatorskim sistemom za hidroksil radikal (Fentonov sistem) i DEPMPO spinskom zamkom (Savić et al., 2012; Nakarada et al., 2019). Ova spin zamka je odabrana zbog svoje dobre selektivnosti i dugog polu-života DEPMPO/OH $^\bullet$  adukta (Villamena et al. 2023). Uzorak ukupne zapremine od 29  $\mu\text{L}$  koji je sadržao 26  $\mu\text{L}$  dejonizovane vode, 2  $\mu\text{L}$   $\text{H}_2\text{O}_2$  (koncentracije 0,35 mM) i 1  $\mu\text{L}$  DEPMPO (koncentracije 3,5

mM) pomešan je sa 1  $\mu\text{L}$   $\text{FeSO}_4$  (koncentracije 0,15 mM), prebačen u gasnopropusnu teflonsku cevčicu koja je uneta u EPR rezonator (Bruker ELEKSSIS-II E540). EPR signal  $\text{DEPMPO/OH}^{\bullet}$  spin adukta je snimljen nakon 2 minuta, korišćenjem sledećih eksperimentalnih parametara: centralno polje 3500 G, mikrotalasna snaga 10 mW, frekvencija mikrotalasa 9,85 GHz, frekvencija modulacije 100 kHz, amplituda modulacije 1 G. Kontrolni snimci su napravljeni dodavanjem 1  $\mu\text{L}$  MeOH umesto ekstrakta sirka. Antioksidativna aktivnost ekstrakta sirka (AA) izračunata je pomoću formule:

$$\text{AA} = 100 \times (\text{Ic} - \text{Ia}) / \text{Ic} (\%) \quad (4)$$

gde se Ic i Ia odnose na prosečni intenzitet dva najintenzivnija signala u niskom polju (označeno plavim krugom u odeljku Rezultati) EPR spektra kontrolnih uzoraka i uzoraka sa dodatim MeOH ekstraktima sirka, respektivno.

#### 4.11.4.2. Ispitivanje neutralizacije askorbil radikala ( $\text{Asc}^{\bullet}$ )

Za određivanje antioksidativnog potencijala ekstrakta sirka prema askorbil radikalu ( $\text{Asc}^{\bullet}$ ), snimljen je EPR signal askorbil radikala u dimetilsulfoksid (DMSO) rastvoru koji sadrži MeOH ekstrakta sirka po prethodno razvijenoj proceduri (Nakarada et al., 2019; Buettner, 1990). Rastvor koji sadrži 10  $\mu\text{L}$  MeOH ekstrakta sirka, 5  $\mu\text{L}$  vodenog rastvora EDTA (koncentracije 0,2 mM) i 0,5  $\mu\text{L}$  vodenog rastvora  $\text{FeCl}_3$  (koncentracije 7  $\mu\text{M}$ ) pomešan je da bi se formirao kompleks  $\text{Fe(III)-EDTA}$ , nakon čega je dodato 42  $\mu\text{L}$  DMSO. U smešu je dodato 2,5  $\mu\text{L}$  DMSO rastvora askorbinske kiseline (koncentracije 0,2 mM), od čega je 30  $\mu\text{L}$  prebačeno u gasnopropusnu teflonsku cevčicu. Ova cevčica je postavljena u kvarcnu EPR kivetu, koja je uneta u EPR rezonator. EPR signal je snimljen nakon 2 minuta korišćenjem sledećih eksperimentalnih parametara: centralno polje 3500 G, snaga mikrotalasa 10 mW, frekvencija mikrotalasa 9,85 GHz, frekvencija modulacije 100 kHz, amplituda modulacije 1 G. Kontrolni snimci su napravljeni dodavanjem 10  $\mu\text{L}$  MeOH umesto ekstrakta sirka. Antioksidativna aktivnost ekstrakta sirka izračunata je korišćenjem formule broj 4.

#### 4.11.5. Određivanje termodinamički najpogodnijeg mehanizma antioksidativne aktivnosti

Strukture luteolinidina, apigeninidina i  $\text{HO}^{\bullet}$  optimizovane su u Gaussain 09 programskom paketu (Frisch i Trucks, 2009) na nivou teorije B3LYP/6-311++G(d,p), pošto je prethodno pokazano da ovaj nivo teorije daje rezultate uporedive sa eksperimentalnim za slična jedinjenja. Odsustvo imaginarnih frekvencija pokazalo je da su dobijeni minimumi na površi potencijalne energije. Strukture neutralnih molekula, odgovarajućih radikalskih katjona, anjona i radikala su optimizovane bez geometrijskih ograničenja. Eksperimentalno okruženje u okviru EPR eksperimenta je imitirano korišćenim modelom rastvarača – Conductor-like Polarizable Continuum (CPCM) (Marenich et al., 2009). Analiza prirodnih orbitala (Natural Bond Orbital, NBO) (Foster i Weinhold, 1980), koja je implementirana u Gaussian 09 programski paket, korišćena je za kvantifikaciju intramolekulskih interakcija u dobijenim radikalima i anjonima.

Reakcije između slobodnih radikala i antioksidanasa mogu se podeliti u dve glavne grupe – reakcije prenosa atoma vodonika i formiranje radikalskih adukata (RAF) (Alvarez-Diduk i Galano, 2015; Dimitrić et al., 2014; Dimić et al., 2021). Prva grupa obuhvata tri različita mehanizma u zavisnosti od broja koraka i relativnog redosleda prenosa elektrona i protona. Zbog složenosti jedinjenja, ispitana je samo prva grupa reakcija.

Mehanizam prenosa atoma vodonika (*hydrogen atom transfer* - HAT) označava brz prenos atoma vodonika sa molekula ( $\text{ArOH}$ ) na slobodni radikal (jednačine od 5 do 15). Doniranje atoma vodonika se objašnjava redukcionim potencijalom, i svako jedinjenje sa manjim redukcionim potencijalom od redukcionog potencijala slobodnog radikala, može donirati svoj atom vodonika

slobodnom radikalu. Jačinu antioksidativnog delovanja fenolnih jedinjenja diktira njihova struktura, posebno benzenski prsten i broj i položaj hidroksilne grupe (Zeb, 2020).



Prenos protona praćen prenosom elektrona (*Sequential Proton Loss Electron Transfer* - SPLET) je mehanizam u više koraka koji uključuje formiranje anjona iz molekula ArOH i u drugom koraku formiranje radikala (ArO<sup>•</sup>) i anjona iz radikala (R<sup>•</sup>), a u poslednjem koraku protonaciju anjona (RH):



Transfer elektrona praćen transferom protona (*Single Electron Transfer followed by Proton Transfer* - SET-PT) je mehanizam iz dva koraka koji se sastoji od prenosa elektrona sa molekula (ArOH) i formiranja radikal katjona (ArOH<sup>•+</sup>), a u drugom koraku proton se prenosi na anjon formiran od radikala:



Promena entalpije reakcije se koristi za određivanje termodinamički najpovoljnijeg mehanizma zajedno sa najreaktivnijim pozicijama u slučaju polifenolnih jedinjenja. Prethodno prikazane reakcione korake karakterišu određene promene entalpije, odnosno, entalpije disocijacije veze (bond dissociation enthalpy) ( $\Delta H_{\text{BDE}}$ ), afiniteta prema protonu (proton affinity) ( $\Delta H_{\text{PA}}$ ), entalpije prenosa elektrona (electron transfer enthalpy) ( $\Delta H_{\text{ETE}}$ ), potencijala jonizacije (ionization potential) ( $\Delta H_{\text{IP}}$ ) i entalpije disocijacije protona (proton dissociation enthalpy) ( $\Delta H_{\text{PDE}}$ ). Entalpije uključenih vrsta dobijene su iz optimizovanih struktura na nivou teorije M06-2X/6-311++G(d,p).

$$\Delta H_{\text{BDE}} = H(\text{ArO}^{\bullet}) + H(\text{RH}) - H(\text{ArOH}) - H(\text{R}^{\bullet}) \quad (11)$$

$$\Delta H_{\text{PA}} = H(\text{ArO}^{-}) + H(\text{RH}) - H(\text{ArOH}) - H(\text{R}^{-}) \quad (12)$$

$$\Delta H_{\text{ETE}} = H(\text{ArO}^{\bullet}) + H(\text{R}^{-}) - H(\text{ArO}^{-}) - H(\text{R}^{\bullet}) \quad (13)$$

$$\Delta H_{\text{IP}} = H(\text{ArOH}^{\bullet+}) + H(\text{R}^{-}) - H(\text{ArOH}) - H(\text{R}^{\bullet}) \quad (14)$$

$$\Delta H_{\text{PDE}} = H(\text{ArO}^{\bullet}) + H(\text{RH}) - H(\text{ArOH}^{\bullet+}) - H(\text{R}^{-}) \quad (15)$$

#### 4.12. Određivanje sadržaja makro- i mikro- elemenata u semenu sirka spektroskopijom sa indukovano-spregnutom plazmom (ICP-OES)

Totalna mineralizacija (digestija) uzoraka je urađena u mikrotalasnom digestoru (Advanced Microwave Digestion System, ETHOS 1, Italija) korišćenjem HPR-1000/10S segmentiranog rotora koji radi pod visokim pritiskom, prema proizvođačkoj specifikaciji. Uzorci su stavljeni u kvarcne kivete (QS-50 quartz inserts P/N 34042), koji predstavljaju najsofisticiraniji način za pripremu hrane,

bioloških i farmaceutskih uzoraka za merenje metala, gde je obezbeđena maksimalna zaštita od kontaminacije tokom pripreme. Uzorci su odmereni direktno u kvarcne kivete. Tačna masa je izmerena na analitičkoj vagi sa tačnošću od  $\pm 0,0001$  g (oko 0,5000 g uzorka). U uzorke su potom dodati oksidacioni reagensi. Kao oksidacioni reagensi za totalnu mineralizaciju su dodati: ultra-čista azotna kiselina, 4,5 mL  $\text{HNO}_3$  (65 wt.%, Suprapur®, Merck KGaA, Darmštadt, Nemačka) i vodonik-peroksid, 0,5 mL  $\text{H}_2\text{O}_2$  (30 wt.%, Suprapur®, Merck KGaA, Darmštadt, Nemačka). Kivete su složene u nosač kiveta i zatvorene po protokolu koji propisuje proizvođač. Digestija je izvedena tokom 20 min, pri konstantnoj temperaturi od 180 °C i pri pritisku oko 100 bar. Nakon digestije i hlađenja rastvora do sobne temperature, rastvor je razblažen do fiksne zapremine od 25 mL u volumetrijskom normalnom sudu. Za razblaženje je korišćena ultra-čista voda koja je imala električnu provodljivost do  $0,05 \mu\text{S cm}^{-1}$ . Ultra-čista voda je pripremljena u aparatu za Barnstead™ GenPure™ Pro (Thermo Scientific, Nemačka).

Koncentracije makro-, mikro- i toksičnih elemenata u dobijenim rastvorima su izmerene pomoću analitičke tehnike indukovano kuplovana plazma sa optičkom emisijom spektrometrijom (*Inductively Coupled Plasma - Optical Emission Spectrometry* - ICP-OES). ICP-OES merenje je urađeno na instrumentu model Thermo Scientific iCAP 6500 Duo ICP (Thermo Fisher Scientific, Kembridž, Engleska) sa iTEVA operacionim softverom. Uzorak je u plazmu uveden direktnom aspiracijom tečnog uzorka. Standardni rastvori za kalibraciju instrumenta u adekvatnom koncentracionom opsegu ( $1\text{--}50000 \mu\text{g L}^{-1}$ ), pripremljeni su od sertifikovanih standardnih rastvora: Multi-Element Plasma Standard Solution 4, Specpure®,  $1000 \mu\text{g mL}^{-1}$  (Alfa Aesar GmbH & Co KG, Nemačka); SS-Low Level Elements ICV Stock i ILM 05.2 ICS Stock 1 (oba od VHG Labs, Inc- Part of LGC Standards, Mančester, SAD). Koeficijent korelacije za sve elemente je bio veći od 0,99. Kvantifikacija je urađena na emisijom talasnim dužinama svetlosti koje su imale najbolje podudaranje standard-uzorak, po svim spektroskopskim kriterijumima. Za svaki uzorak ICP-OES merenje je vršeno u dva ponavljanja ( $n=2$ ). Relativna standardna devijacija ponovljenih merenja je bila  $\text{RSD} < 1\%$ . Limit detekcije (LOD) za sve elemente je bio u opsegu  $0,05 \mu\text{g L}^{-1}$  do  $1,5 \mu\text{g L}^{-1}$ , a limit kvantifikacije (LOQ) je bio u opsegu  $0,1 \mu\text{g L}^{-1}$  do  $5 \mu\text{g L}^{-1}$ . Na osnovu izmerenih koncentracija elemenata u rastvoru, izmerene mase uzorka i razblaženja, urađen je preračun i konačne koncentracije elemenata u uzorcima su date u Tabelama 7 i 8 u  $\text{mg kg}^{-1}$  uzorka (ppm).

Proces analitičke kontrole kvaliteta (*analytical process quality control*, QC) je urađen pomoću sertifikovanih referentnih materijala (*certified reference material*, CRM): fish protein for trace metals DORM 4 (NRCC, National Research Council Canada, Otava, Ontario Kanada) i EPA Method 200.7 LPC Solution (ULTRA Scientific, SAD). Postignuto poklapanje sa sertifikovanom vrednošću (*recovery*) za sve sertifikovane elemente je bilo u opsegu 98% do 103%.

#### 4.13. Određivanje aminokiselinskog sastava u semenu sirka

Analiza aminokiselina je određena jonoizmenjivačkom hromatografijom korišćenjem automatskog analizatora aminokiselina Biochrom 30+ (Biochrom, Kembridž, Engleska) u dva ponavljanja ( $n=2$ ) na Naučnom institutu za prehrambene tehnologije u Novom Sadu (FINS), po opisanoj metodi od Spackman et al. (1958).

Tehnika se zasniva na razdvajanju aminokiselina uz pomoć jake katjon izmenjivačke hromatografije, praćene reakcijom ninhidrina i fotometrijskom detekcijom na 570 nm (osim prolina, koji je detektovan na 440 nm). Uzorci su bili prvobitno hidrolizovani sa 6M HCl (Merck, Nemačka) na 110 °C tokom 24h. Slično, alkalna hidroliza sa 4 M NaOH je korišćena za određivanje triptofana. Nakon hidrolize, uzorci su ohlađeni na sobnoj temperaturi i rastvoreni u 25 mL pufera (*Sodium Loading Buffer*; pH 2,2) (Biochrom, Kembridž, Engleska). Uzorci su profiltrirani kroz PTFE špic filter veličine pora od  $0,22 \mu\text{m}$  (Plano, Teksas, SAD) i preneti u vijale (Agilent Technologies, SAD) i čuvani u frižideru pre analize. Aminokiseline su identifikovane poređenjem retencionog vremena identifikovanih aminokiselina sa retencionim vremenima standarda aminokiselina (standardni rastvor aminokiselina (Sigma-Aldrich, Sent Luis, SAD). Rezultati su izraženi kao g  $100 \text{ g}^{-1}$  proteina i kao g  $100 \text{ g}^{-1}$  semena (Tomičić et al., 2022).

#### 4.14. Određivanje masnokiselinskog sastava u semenu sirka

Samleveni i prosejani uzorci, pripremljeni na ranije objašnjen način, su odmereni ( $1,0000 \pm 0,0001$  g) na analitičkoj vagi i ekstrahovani sa 2 mL ekstrakcionog sredstva (*n*-heksana). Nakon toga, ekstrakti su filtrirani kroz PTFE filter veličine pora od  $0,22 \mu\text{m}$ , a rastvarač je uparen na sobnoj temperaturi. Analiza masnih kiselina je urađena kapilarnom gasnom hromatografijom (Agilent Technologies 6890, SAD) sa plameno jonizacionim detektorom (FID) i kolonom SPe2560 (dužina 100 m, i.d.  $0,25 \text{ mm}$ , debljina filma  $0,20 \mu\text{m}$ , Supelco, Belfont, SAD). Masne kiseline, prisutne u ispitivanim uzorcima određene su gasno-hromatografskom metodom na sledeći način: lipidni ekstrakt je rastvoren u 1 mL *n*-heksana i preveden u metilestar masnih kiselina upotrebom 1 mL 14%  $\text{BF}_3/\text{MeOH}$  reagensa. Smeša je zagrejana na  $100^\circ\text{C}$  tokom 1h, ohlađena do sobne temperature, a metil estri su ekstrahovani u heksanskoj fazi nakon dodavanja 1 mL  $\text{H}_2\text{O}$ . Uzorci su centrifugirani 1 min ( $1960 \times g$ ), a zatim je gornji, heksanski sloj, izdvojen i koncentrovan azotom. Temperature injektora i detektora su bile  $250^\circ\text{C}$  i  $260^\circ\text{C}$ , respektivno. Kao gas nosač korišćen je helijum, pri brzini protoka od  $5 \text{ mL min}^{-1}$ . Injekciona zapremina je bila  $1 \mu\text{L}$ , a zapremina koja je splitovana je podešena u odnosu 1:20. Temperatura kolone je programirana od početnih  $50^\circ\text{C}$  (5 min) do  $240^\circ\text{C}$  (20 min), sa promenom temperature od  $4^\circ\text{C min}^{-1}$ . Ukupno vreme analize je 72,5 min (Barać et al., 2018). Pikovi u uzorcima su identifikovani poređenjem retencionih vremena sa pikovima u analitičkom standardu Supelco 37 komponenti FAMES (Supelco, Belfont, SAD). Za svaki uzorak merenje je vršeno u tri ponavljanja ( $n=3$ ). Sadržaj masnih kiselina je izračunat kao relativna količina ukupnih masnih kiselina izraženih u %.

### C. Proizvodnja i analiza bezglutenskog čajnog peciva

#### 4.15. Proizvodnja bezglutenskog čajnog peciva

Bezglutensko čajno pecivo proizvedeno je dvofaznim postupkom dodavanja sirovina i njihovim mešanjem, uz supstituciju komercijalno dostupne bezglutenske smeše (Aleksandrija Premium univerzal mix za hlebove i peciva) brašnom od celog zrna sirka. Supstitucija u nivou 20% (BC20) i 40% (BC40) brašna. Kontrolni uzorak pripremljen je bez dodatka brašna sirka. Sve sirovine prikazane su u Tabeli 2, a finalna receptura usvojena je nakon niza probnih pečenja.

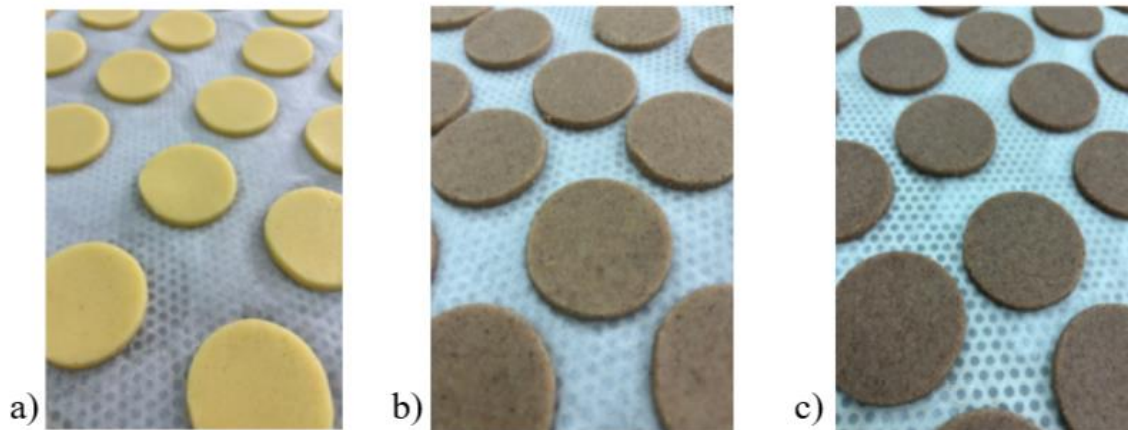
**Tabela 2.** Sastav sirovina u bezglutenskom čajnom pecivu u gramima (g).

| Sirovine           | Kontrola | BC20  | BC40  |
|--------------------|----------|-------|-------|
| Bezglutenska smeša | 150      | 120   | 90    |
| Brašno sirka       | /        | 30    | 60    |
| Trščani šećer      | 50       | 50    | 50    |
| Kokosovo ulje      | 52,50    | 52,50 | 52,50 |
| Prašak za pecivo   | 0,75     | 0,75  | 0,75  |
| Voda               | 55       | 55    | 55    |

Priprema testa po dvofaznom postupku obuhvatala je mešanje ekstra devičanskog kokosovog ulja sa trščanim šećerom i destilovanom vodom do dobijanja homogene mase. Bezglutenska smeša, brašno sirka i prašak za pecivo, pomešani u određenim razmerama i postepeno dodavani pripremljenoj homogenoj masi. Sve je dobro umešeno do dobijanja konzistentne mase. Testo je pripremljeno na laminatoru (Mignon, Rimini, Italija) postepenim istanjivanjem, propuštanjem između dva valjka, do debljine 4 mm. Oblikovanje testa izvedeno je utiskivanjem kalupa prečnika 45 mm (metoda izbadanja). Čajno pecivo poređano je na pleh, na koji je prethodno postavljen papir za

pečenje i odmah nakon toga pečeno u etažnoj peći (MIWE Gusto, Arnštajn, Nemačka) na 180 °C u toku 15 min i potom ohlađeno na sobnoj temperaturi u toku 2 sata.

Ohlađeno bezglutensko čajno pecivo, upakovano je u aluminijumsku foliju, potom stavljeno u PET posude sa poklopcem i skladišteno na suvom i tamnom mestu. Na Slici 7 prikazan je izgled bezglutenskog čajnog peciva sa različitim udelima brašna sirka i kontrolni uzorak bez dodatka brašna sirka.



**Slika 7.** Izgled nepečenog čajnog peciva sa različitim udelima brašna sirka: a) kontrola b) bezglutensko čajno pecivo sa 20% brašna sirka; c) bezglutensko čajno pecivo sa 40% brašna sirka (Orig.).

#### 4.16. Određivanje fizičkih osobina bezglutenskog čajnog peciva

Analize fizičkih pokazatelja kvaliteta čajnog peciva podrazumevale su određivanje boje, mase, prečnika ( $D1/D2$ ) i visine čajnog peciva ( $h_{ab}$ ).

Boja čajnog peciva određena je kolorimetrijski (Minolta CR-400 Chroma Meter, Light Protection Tube sa staklenom zaštitnom pločom CR-A33a), i izražena kao  $L^*$ ,  $a^*$  i  $b^*$  (CIE, 1976), po prethodno opisanoj proceduri, kao pri određivanju boje zrna sirka.

Dimenzije su određene pomoću pomičnog merila po Šubleru, na 5 nasumično uzetih uzoraka iz svake serije ( $n=5$ ). Izmeren je prečnik uzoraka po dve ose ( $D1$  i  $D2$ ) postavljene normalno jedna u odnosu na drugu, a na osnovu visine i prečnika izračunati su:

1. Ekscentričnost (engl. *eccentricity*) - odnos  $D1/D2$  koji je merilo odstupanja od idealno kružnog oblika
2. Faktor širenja (engl. *spread factor*) - odnos između srednje vrednosti prečnika i visine čajnog peciva

#### 4.17. Određivanje teksturnih svojstava bezglutenskog čajnog peciva

Tvrdoća i lomljivost čajnog peciva određene su na teksturometru TA.XT2 Texture Analyser (Stable Micro Systems, Velika Britanija), 24 sata nakon pečenja, metodom „*Hardness measurement of biscuits by cutting*”. Pre izvođenja analize definisani uslovi rada su podrazumevali odabir merne ćelije od 30 kg, kao i mernog pribora 3-Point Bending Rig HDP/3PB, kako bi se tokom merenja registrovala maksimalna sila presecanja uzorka postavljenog na metalnu platformu HDP/90.

Tvrdoća svakog uzorka, koja predstavlja silu pri kojoj dolazi do prvog loma čajnog peciva, merena je u pet ponavljanja ( $n=5$ ), pri brzini kretanja poluge do momenta sečenja  $1 \text{ mm s}^{-1}$ , brzini analize  $3 \text{ mm s}^{-1}$ , brzini vraćanja poluge nakon sečenja  $10 \text{ mm s}^{-1}$  i rastojanju 5 mm.

#### 4.18. Određivanje hemijskog sastava bezglutenskog čajnog peciva

Osnovni hemijski sastav čajnog peciva, koji podrazumeva analizu sadržaja proteina, masti, pepela i vlage, određen je primenom standardnih AOAC (2012) metoda. Sve analize urađene su u tri ponavljanja (n=3).

Sadržaj sirovih proteina određen je metodom po Kjeldahl-u (AOAC 920.87), a kao faktor konverzije azotnih materija korišćen je faktor 6,25. Sadržaj masti određen je metodom po Soxhlet-u (AOAC 922.06), sadržaj vlage metodom AOAC 925.09, a sadržaj pepela metodom AOAC 923.03. Sadržaj ukupnih ugljenih hidrata određen je računski (FSAI, 2010):

$$\text{sadržaj ugljenih hidrata (\%)} = 100\% - (\% \text{ vlage} + \% \text{ proteina} + \% \text{ masti} + \% \text{ pepela}) \quad (16)$$

Kvalitativno i kvantitativno ispitivanje polifenolnih jedinjenja u uzorcima čajnog peciva izvršeno je tečnom hromatografijom visoke rezolucije (HPLC) u tri ponavljanja (n=3), na uređaju Shimadzu Prominence (Shimadzu, Kjoto, Japan), opremljenom LC-20AT binarnom pumpom, CTO-20A termostatom, SIL-20A automatskim dozatorom i SPD-M20A detektorom na Naučnom institutu za prehrambene tehnologije u Novom Sadu (FINS).

Razdvajanje polifenolnih jedinjenja izvršeno je na Luna C18 RP koloni 250 mm × 4,6 mm; 5 μm (Phenomenex, „Torens”, Kalifornija, SAD), sa C18, 4 × 30 mm (Phenomenex, „Torens”, Kalifornija, SAD) zaštitnom pretkolonom. Kao mobilna faza korišten je sistem rastvarača: A (acetonitril) i B (1% mravlja kiselina), pri protoku od 1 mL min<sup>-1</sup>, primenom linearnog gradijenta: 0–10 min od 10 do 25% A; 10–20 min linearan porast do 60% A, od 20 do 30 min linearan porast do 70% A. Kolona je uravnotežena na početne uslove, 10% A, 10 min uz dodatnih 5 min za stabilizaciju. Hromatogrami su snimljeni u opsegu talasnih dužina od 190 nm do 800 nm. Za svako polifenolno jedinjenje, identifikacija i kvantifikacija je vršena na talasnoj dužini svog apsorpcionog maksimuma. Na osnovu dobijenih hromatograma i kalibracionih dijagrama standardnih rastvora polifenolnih jedinjenja, koncentracije identifikovanih jedinjenja su izražene kao mg 100 g<sup>-1</sup> čajnog peciva.

Kvalitativno i kvantitativno ispitivanje aminokiselinskog sastava čajnog peciva je obavljeno jonoizmenjivačkom hromatografijom korišćenjem automatskog analizatora aminokiselina Biochrom 30+ (Biochrom, Kembridž, Engleska), po već objašnjenoj proceduri. Rezultati su izraženi kao g 100 g<sup>-1</sup> proteina i kao g 100 g<sup>-1</sup> semena.

#### 4.19. Senzorna analiza bezglutenskog čajnog peciva

U okviru senzornog istraživanja ocenjeni su uzorci čajnog peciva različitih formulacija uključujući bezglutensku kontrolu, kao i varijante sa dodatkom integralnog brašna sirka. Takođe, analizirana su dva komercijalna proizvoda, čime je obuhvaćen tržišni prostor ove vrste čajnog peciva prisutne na domaćem tržištu (Tabela 3). Dodatak komercijalno dostupnih uzoraka ocenjivanju, značajno je doprineo dubljem razumevanju senzornih svojstava.

Istraživanjem uticaja različitih formulacija na senzorni profil gotovog proizvoda, stečene su dragocene informacije koje su poslužile kao osnova za budući razvoj i poboljšanje postojećih receptura.



**Tabela 3.** Uzorci bezglutenskog čajnog peciva analizirani u okviru senzorne analize.

| Šifra uzorka          | Opis uzorka                                                                         | Sastojci                                                                                                                                                                                                                                                      |
|-----------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Kontrola</b>       | Kontrola                                                                            | Tabela 2.                                                                                                                                                                                                                                                     |
| <b>BC20</b>           | Bezglutensko čajno pecivo sa 20% brašna sirka                                       | Tabela 2.                                                                                                                                                                                                                                                     |
| <b>Komercijalni 1</b> | Kakao keks PUSA od prosa bez glutena (bez laktoze, bez kazeina)                     | Brašno od prosa, brašno od pirinča, kukuruzno brašno, kukuruzni škrob, biljna mast, kakao prah sa redukovanim sadržajem masti (10%), šećer, emulgator (sojin lecitin), kuhinjska so, sredstvo za dizanje testa (amonijum bikarbonat), zgušnjivač (guar guma). |
|                       |    |                                                                                                                                                                                                                                                               |
| <b>BC40</b>           | Bezglutensko čajno pecivo sa 40% brašna sirka                                       | Tabela 2.                                                                                                                                                                                                                                                     |
| <b>Komercijalni 2</b> | Čajni kolutići sa heljdom (posno, bez laktoze, bez kazeina, bez konzervanasa)       | Pirinčano brašno, kukuruzni škrob, šećer, brašno od prosa, palmino ulje, brašno od heljde (6,5%), kukuruzno brašno, brašno guar pasulja, sirovi sojin lecitin, sredstvo za dizanje testa (amonijum bikarbonat), kuhinjska so.                                 |
|                       |  |                                                                                                                                                                                                                                                               |

Senzorna ocena čajnog peciva sprovedena je u Naučnom institutu za prehrambene tehnologije u Novom Sadu (FINS), uz primenu obučenog panela ocenjivača. Panelisti su prošli dodatnu obuku vezanu za senzornu analizu, odnosno specifične senzorne atribute čajnog peciva, kao i primenu RATA (*Rate-All-That-Apply*) metode.

U studiji je učestvovalo 15 ocenjivača, starosne dobi od 30 do 60 godina. Svi panelisti su dali pristanak za učešće u ocenjivanju, a senzorno ispitivanje odobreno je od strane Etičke komisije Naučnog instituta za prehrambene tehnologije u Novom Sadu, Univerziteta u Novom Sadu, prema odluci br. 24-53-3 (Prilog 7).

Primena RATA metode omogućava savremeno, efikasno i brzo senzorno profilisanje uzoraka, dopuštajući ocenjivačima da istovremeno vrednuju više senzornih atributa i dobiju sveobuhvatan uvid u njihova svojstva. Ovaj metod je izuzetno koristan u razvoju i optimizaciji receptura, budući da pruža povratne informacije koje pomažu u unapređenju kvaliteta proizvoda. RATA metod omogućava panelistima odabir relevantnih atributa koji se odnose na ispitivane uzorke, čime se pojednostavljuje postupak ocenjivanja i smanjuje mogućnost greške. Istovremeno, RATA podstiče diskusiju među ocenjivačima, što može dovesti do dubljih uvida i boljeg razumevanja senzornih atributa. Rezultati

dobijeni ovom metodom omogućavaju brzu identifikaciju prednosti ili nedostataka proizvoda, kao i razlike u senzornim profilima naizgled vrlo sličnih proizvoda.

Za uspešno sprovođenje RATA metode, neophodno je ispuniti nekoliko ključnih preduslova: definisanje liste senzornih atributa, odabir skale za ocenjivanje intenziteta, pravilnu prezentaciju uzoraka, kao i odgovarajuću statističku analizu podataka i njihovu interpretaciju. Prvi korak obuhvatao je prikupljanje i selekciju senzornih atributa korišćenih u naučnoj literaturi, sa ciljem obuhvatanja širokog spektra senzornih stimulusa izazvanih senzornim profilima čajnog peciva.

Tri eksperta iz oblasti senzornog ocenjivanja konditorskih i fino-pekarskih proizvoda, sastavilo je terminologiju i kreiralo leksikon od 47 atributa/deskriptora (Prilog 3). Ocenjivači su dobili uputstva da sa liste deskriptora odaberu sve attribute koji su karakterisali uzorke i da ocene njihov intenzitet na skali od 5 podeoka (pri čemu 0 označava da atribut nije prisutan u ispitivanom uzorku; 1 označava da je atribut veoma slabo primetan, a 5 da je izuzetno primetan).

Ocenjivanje je sprovedeno u individualnim kabinetima za senzorno ocenjivanje, u Laboratoriji za senzorno ocenjivanje u skladu sa SRPS EN ISO 8589 (2015).

Za prikupljanje podataka tokom ispitivanja korišćeni su *Excel* obrasci. Testiranje je sprovedeno u dve podsesije od po 45 minuta, realizovane u dva ponavljanja s randomizovanim redosledom uzoraka označenih nasumice odabranim trocifrenim brojevima. Uzorci su distribuirani ocenjivačima na sobnoj temperaturi ( $22\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) u providnim plastičnim posudicama s poklopcem, kako bi se osigurala optimalna senzorna percepcija. Nakon svake degustacije, ocenjivači su pravili pauzu od 60 sekundi, koristeći destilovanu vodu za osveženje čula i ispiranje usta.

## 4.20. Statistička analiza podataka

Kao pokazatelji varijabilnosti ispitivanih svojstava izračunati su: srednja vrednost ponavljanja urađenih za svaki pojedinačni metod ( $\bar{X}$ ) i standardna devijacija (SD) (Microsoft Excel, Microsoft 365). Za testiranje različitosti srednjih vrednosti korišćeni su jednofaktorska analiza varijanse (ANOVA) i Tukey HSD test (za nivo značajnosti  $p < 0,05$ ) primenom StatSoft Statistica 12 (StatSoft Inc., Tulsa, Oklahoma, SAD).

U delu A, za klasifikaciju genotipova iz cele kolekcije zrna sirka prema dobijenim rezultatima i grupisanje uzoraka sprovedena je analiza glavnih komponenti. Prikazani su rezultati korelacione analize (*Correlation analysis* - CA) i analize glavnih komponenti (*Principal Component Analysis* - PCA) 172 uzorka zrna sirka iz kolekcije prema dobijenim varijablama istraživanja, kao što su biohemijski parametri (nutritivni i funkcionalni kvalitet) i parametri boje. Ovi podaci su analizirani korišćenjem StatSoft Statistica 12 (StatSoft Inc., Tulsa, Oklahoma, SAD).

U delu B, za multivarijantne hemometrijske tehnike prepoznavanja obrazaca, kao što su analiza glavnih komponenti (PCA) i hierarhijska klaster analiza (HCA), izvedene su pomoću PLS ToolBok, v.6.2.1, za MATLAB 7.12.0 (R2011a), MathVorks, Natick, Massachusetts, SAD.

U delu C, svi podaci prikupljeni tokom RATA ocene analizirani su korišćenjem statističkog softvera XLSTAT software, verzija 2020 (XLSTAT, 2021). Ovaj proces uključivao je tumačenje rezultata analize RATA podataka:

- Izračunate su frekvencije pojavljivanja svakog atributa kroz brojanje navedenih, što je omogućilo identifikaciju najrelevantnijih senzornih karakteristika. Atributi koje je odabralo najmanje 30% panelista korišćeni su u daljoj analizi i obradi podataka.
- Rezultati su predstavljeni spider dijagramom za prikaz senzornih profila svih uzoraka čajnog peciva, kao i Vennovim dijagramima koji su ilustrovali zajedničke attribute i attribute razlike među analiziranim uzorcima čajnog peciva.
- Prikazan je odnos između različitih uzoraka čajnog peciva, ukazujući na suprotstavljene senzorne profile. Ostvaren visok nivo inercije kod prve dve faktorske ose ukazuje na to da je model dobro konstruisan i da obuhvata značajan deo varijabilnosti podataka. Ova analiza

pomaže u razumevanju odnosa između različitih atributa i uzoraka čajnog peciva, pružajući dragocene uvide koji mogu poslužiti kao osnova za dalju analizu i razvoj ove vrste proizvoda.

#### 4.21. Veštačke neuronske mreže

Višeslojni model perceptrona (*Multi Layer Perceptron* - MLP) sa tri sloja (ulaz, skriveni i izlani sloj), korišćen je za kreiranje veštačke neuronske mreže (*Artificial Neural Network* - ANN), za predviđanje antioksidativne aktivnosti uzoraka. Antioksidativna aktivnost, izražena je kao DPPH vrednost, naspram količine bioaktivnih jedinjenja u uzorcima (TP MeOH, TT MeOH, TF MeOH, TA MeOH, TP A, TT A i Pro A). Eksperimentalna baza podataka za veštačku neuronsku mrežu nasumično je podeljena na podatke za učenje, unakrsnu validaciju i testiranje (60%, 20% i 20% eksperimentalnih podataka, respektivno). Eksperimentalno dobijeni podaci su numerički transformisani primenom min-max pristupa normalizacije da bi se poboljšale performanse ANN. Korišćen je Broiden-Fletcher-Goldfarb-Shanno algoritam za rešavanje nelinearnih problema tokom modeliranja neuronske mreže (Basheer i Hajmeer, 2000). Serija različitih mrežnih topologija (približno 100.000) je testirana tokom modeliranja, uz optimizaciju broja neurona u skrivenom sloju (testirano je od 5 do 20) uz nasumično postavljanje težinskih koeficijenata i nultih članova (Prevolnik et al., 2014) da bi se dobila što bolja predikcija eksperimentalnih vrednosti DPPH vrednosti. Kao rezultat toga, model ANN bi mogao biti predstavljen u matričnom obliku (jednačina 17):

$$Y = f_1(W_2 \times f_2(W_1 \times X + B_1) + B_2) \quad (17)$$

Gde su:

$W_1$ ,  $B_1$ ,  $W_2$  i  $B_2$  - koeficijenti povezani sa skrivenim i izlaznim slojevima (težinski koeficijenti i nulti koeficijenti) u matrici, respektivno,  
 $Y$  - matrica izlaznih promenljivih,  
 $f_1$ ;  $f_2$  - aktivacione funkcije u skrivenom, odnosno izlaznom sloju, respektivno,  
 $X$  - matrica ulaznih promenljivih.

#### 4.22. Analiza globalne osetljivosti

Yoon-ova metoda interpretacije je korišćena za određivanje relativnog uticaja ulaznih promenljivih u uzorcima (TP MeOH, TT MeOH, TF MeOH, TA MeOH, TP A, TT A i Pro A) na antioksidativnu aktivnost (izraženu kao DPPH vrednost), na osnovu razvijenog ANN modela. Ovaj metod je korišćen za izračunavanje direktnog uticaja ulaznih parametara na izlazne promenljive, koji odgovaraju težinskim koeficijentima u okviru ANN modela (jednačina 18) (Yoon et al., 1993):

$$RI_{ij} (\%) = \frac{\sum_{k=0}^n (w_{ik} \times w_{kj})}{\sum_{i=0}^m |\sum_{k=0}^n (w_{ik} \times w_{kj})|} \times 100\% \quad (18)$$

Gde su:

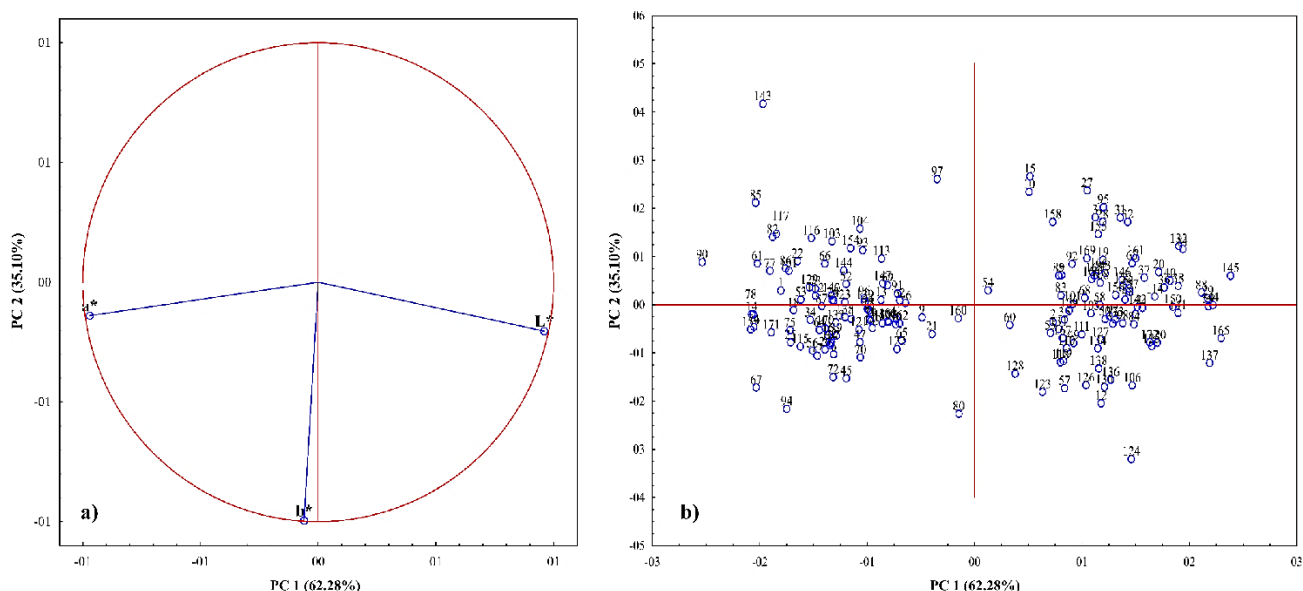
$w$  - težinski faktor u modelu ANN,  
 $i$  - ulazna promenljiva,  
 $j$  - izlazna promenljiva,  
 $k$  - skriveni neuron,  
 $n$  - broj skrivenih neurona,  
 $m$  - broj ulaza.

## 5. REZULTATI I DISKUSIJA

### A. Rezultati analize parametara kvaliteta semena sirka iz IFVCNS kolekcije

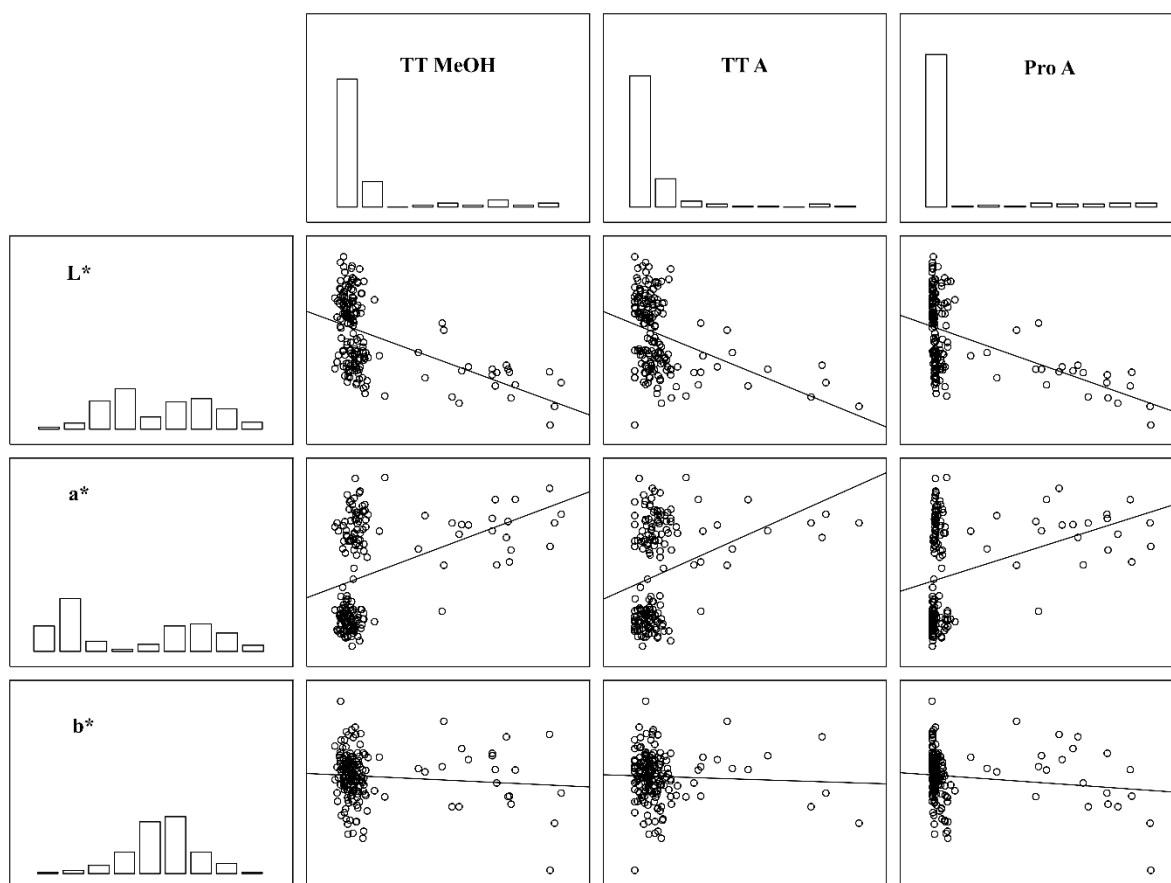
#### 5.1. Određivanje parametara boje

PCA klasifikuje uzorke zrna sirka na osnovu sličnosti/različitosti, određuje uzorke sa različitim svojstvima od drugih (izuzetnih vrednosti) i definiše važne varijable za klasifikaciju između uzoraka. PCA analiza boje u uzorcima zrna (Slika 8) objašnjava da prve dve glavne komponente sumiraju 97,4% ukupne varijanse u tri parametra ( $L^*$ ,  $a^*$  i  $b^*$ ). Koordinata boje  $L^*$  (49,3% ukupne varijanse) pokazala je pozitivan uticaj na PC1 koordinatu, dok je  $a^*$  (50,5%) pokazala negativan uticaj na izračunavanje PC1 koordinata. Koordinata boje  $b^*$  (94,2%) pokazala je pozitivan uticaj na izračunavanje PC2 koordinata.



**Slika 8.** Dvodimenzionalni dijagram rasipanja analize glavnih komponenti zasnovan na prve dve glavne komponente (faktor 1 i faktor 2) generisan za: a) testirane parametre boje zrna i b) testirane genotipove sirka za podatke o parametrima boje zrna.

Na boju zrna utiču pigmenti iz perikarpa (spoljni sloj omotača semena) i testa (unutrašnji sloj omotača semena). Genetika koja stoji iza formiranja boje sugerise da boja semena nije uvek u korelaciji sa sadržajem tanina (Bazie et al., 2023), što je potvrđeno analizom korelacije između parametara boje i sadržaja tanina (rezultati svih primenjenih metoda, utvrđene  $r$  vrednosti su ispod 0,5) (Slika 9; Tabela 4). S obzirom da tanini predstavljaju antinutritivna jedinjenja, od velikog je značaja utvrđivanje genotipova koji imaju nizak sadržaj tanina, ali veći sadržaj ostalih polifenolnih jedinjenja, pre svega 3-deoksiantocijanina, zbog antioksidativnog kapaciteta i diverziteta u ishrani koje takve sirovine pružaju.



**Slika 9.** Korelacija između parametara boje i sadržaja tanina određenog različitim metodama.

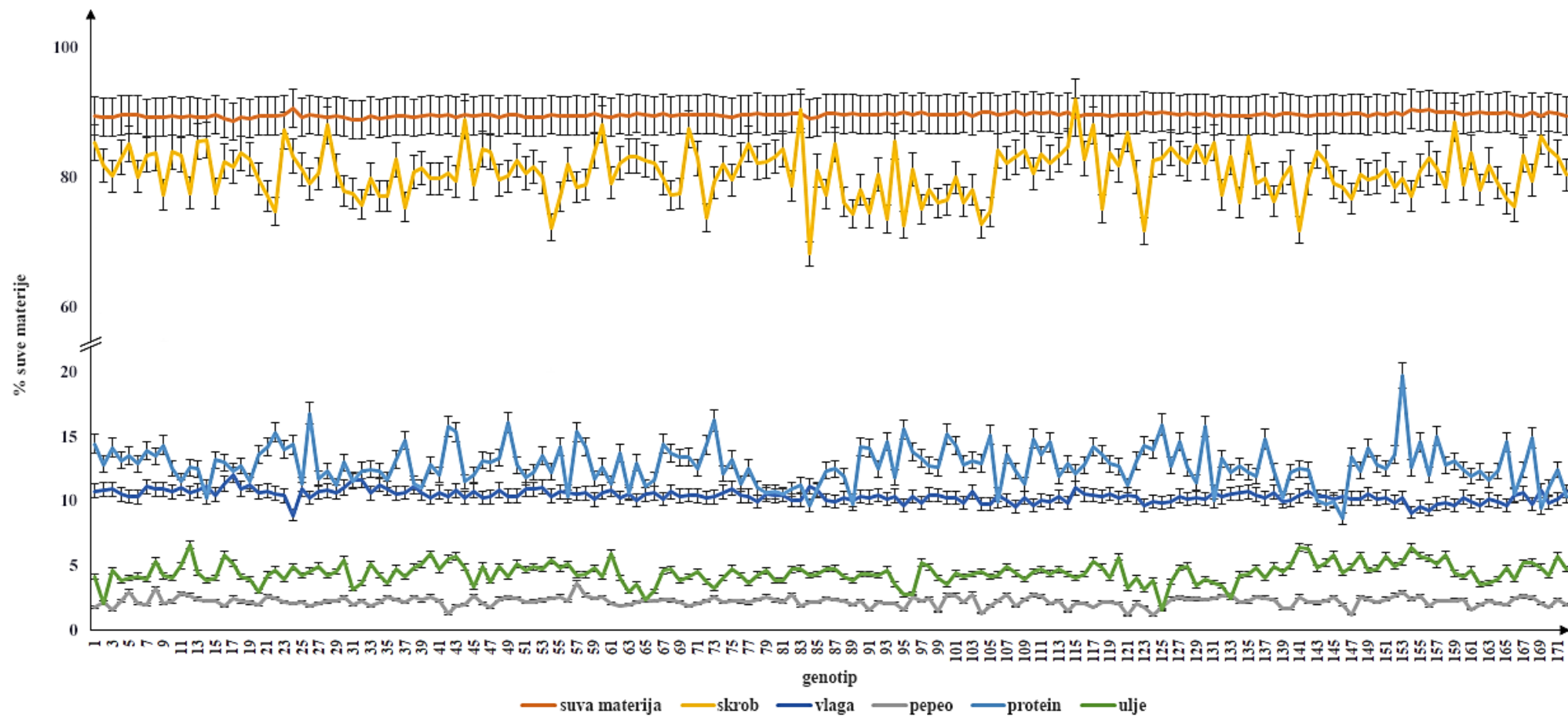
**Tabela 4.** Korelacija između parametara boje i sadržaja tanina u zrnju sirka.

| Parametri boje | <i>r</i> |       |       |
|----------------|----------|-------|-------|
|                | TT MeOH  | TT A  | ProA  |
| <i>L*</i>      | -0,49    | -0,37 | -0,47 |
| <i>a*</i>      | 0,37     | 0,30  | 0,32  |
| <i>b*</i>      | -0,10    | -0,04 | -0,14 |

## 5.2. Standardne analize kvaliteta semena sirka

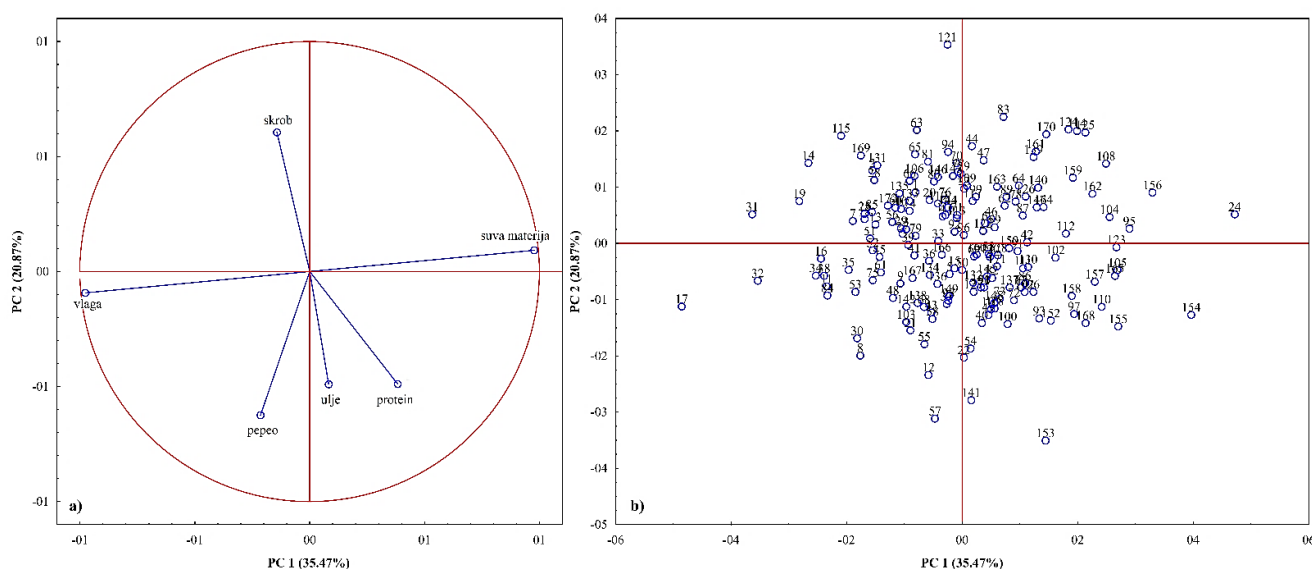
Pri analizi osnovnih parametara nutritivnog kvaliteta, zabeležena je velika raznolikost među genotipovima iz testirane kolekcije (Slika 10). Sadržaj ulja u ispitivanim uzorcima različitih genotipova kretao se u rasponu od 1,6% do 6,6%, a prosečni sadržaj proteina bio je 19,8% izraženo na apsolutno suvu masu. Rezultati su pokazali da se sadržaj pepela kretao od 1,2% do 3,6%, dok se sadržaj skroba kretao u rasponu od 57,1% do 93,3% na apsolutno suvu masu (Prilog 2a).

Eksperimentalno dobijeni rezultati podudaraju se sa podacima dostupnim u literaturnom pregledu (Ratnavathi, 2019), izuzev sadržaja skroba, koji je bio nešto viši od publikovanih podataka (2,1%–7,6% sadržaj ulja, 4,4%–21,1% proteina, 1,3%–3,3% pepela, 55,6%–75,2% skroba). Kovtunov et al. (2021) su u trogodišnjoj studiji genotipova svetskog porekla pokazali da se prosečan sadržaj proteina kretao od 9,0% do 13,5%, a prosečan sadržaj skroba od 70,2% do 77,5%. Lee et al. (2023) su, u okviru sveobuhvatne studije o nutritivnom kvalitetu 23 oplemenjivačke linije sirka, prikazali da se sadržaj proteina kretao u rasponu od 9,05% do 14,61%, dok je prikazani sadržaj ulja bio od 2,99% do 6,91%.



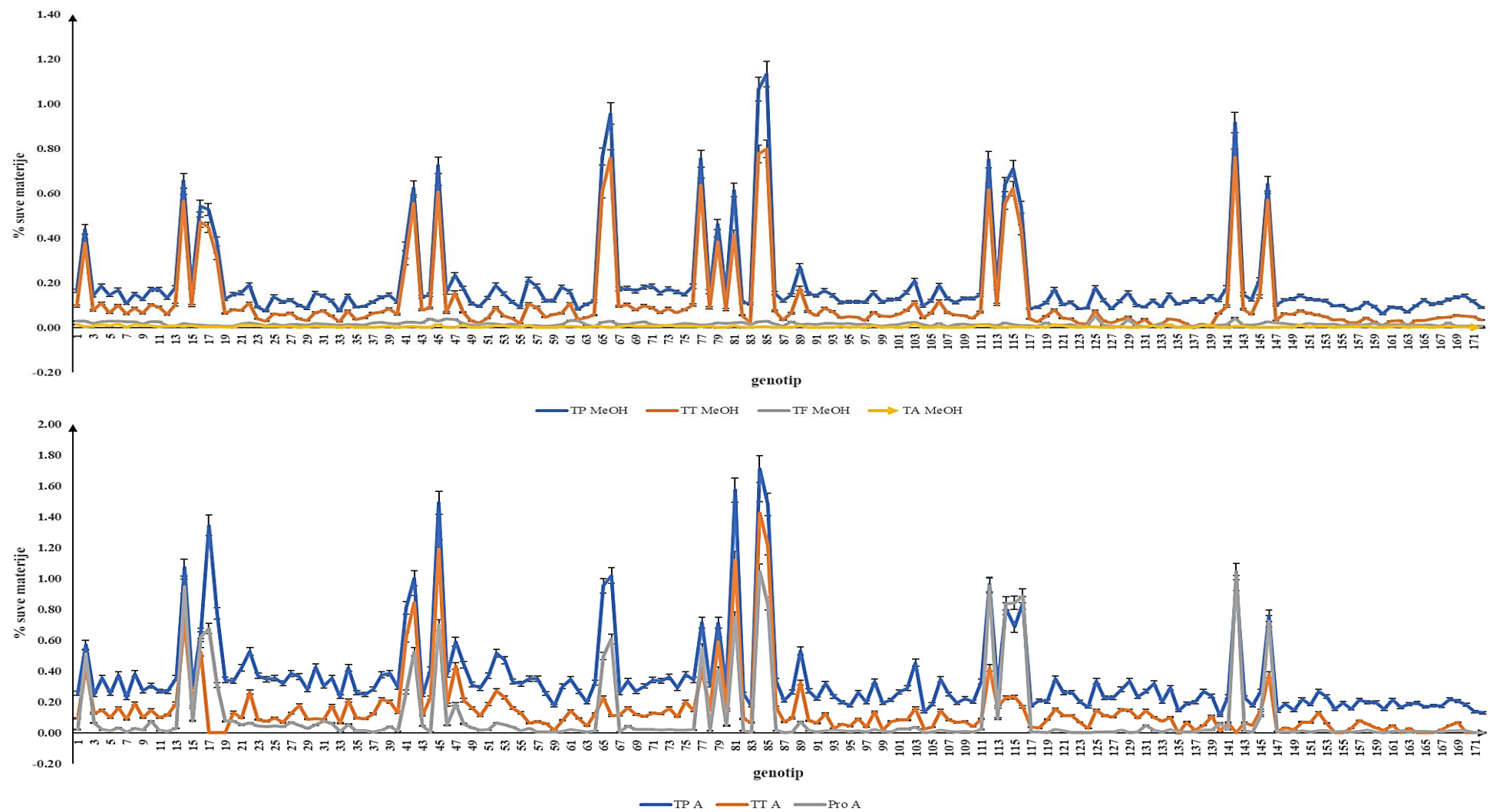
**Slika 10.** Sadržaj vlage, pepela, skroba, proteina i ulja u semenu sirka izražene kao % u odnosu na apsolutno suhu masu semena (s.m.).

PCA analiza osnovnih parametara nutritivnog kvaliteta u uzorcima pokazuje da prve dve glavne komponente predstavljaju 56,3% ukupne varijanse u šest parametara (sadržaj vlage, suve mase, pepela, skroba, proteina i ulja). Prema rezultatima PCA, sadržaj suve mase (koji je na osnovu korelacije učestvovao sa 44,8% ukupne varijanse) i sadržaj proteina (7,2%) su pokazali pozitivan uticaj na prvu glavnu komponentu (PC1), dok je sadržaj vlage (44,8%) negativno uticao na izračunavanje PC1. Sadržaj skroba (29,2% ukupne varijanse, na osnovu korelacija) je pokazao pozitivan uticaj na drugu glavnu komponentu (PC2), dok su sadržaj pepela (31,1%), proteina (19,1%) i ulja (19,2%) pokazali negativan uticaj na PC2 (Slika 11). Iz dobijenih podataka može se potvrditi da je ključni parametar za izbor odgovarajućih genotipova za oplemenjivanje sadržaj proteina ili sadržaj skroba.



Nivo tanina u semenu sirka je najvažniji faktor koji utiče na njegovu nutritivnu vrednost. Količina tanina utiče na stepen svarljivosti proteina, ali je i antioksidativna aktivnost sirka usko povezana sa ukupnim sadržajem kondenzovanih tanina (Istrati et al., 2019). Ukupan sadržaj tanina dobijen u ovoj studiji korišćenjem precipitacije sa PVPP kretao se od 0,0 g kg<sup>-1</sup> do 8,4 g kg<sup>-1</sup> (izražen kao GAE), dok su rezultati dobijeni testom butanol-HCl (Pro A) bili u rasponu od 0,0 g kg<sup>-1</sup> do 14,3 g kg<sup>-1</sup> (izraženo kao GAE). Rezultati izraženi kao % u odnosu na apsolutno suhu masu semena (s.m.) prikazani su u Prilogu 2b.



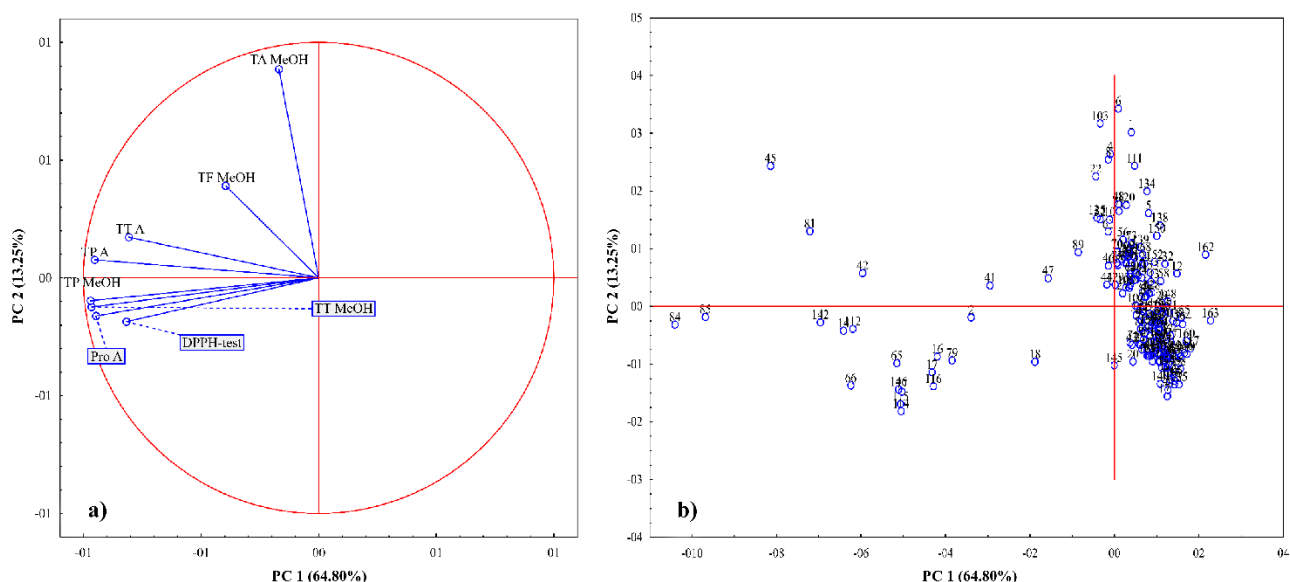


**Slika 12.** Sadržaj ukupnih polifenola (TP), tanina (TT), proantocijanidina (ProA), flavonoida (TF) i antocijana (TA) u metanolnom (MeOH) i acetonskom (A) ekstraktu sirka izraženi kao % u odnosu na apsolutno suhu masu semena (s.m.).

Kada se statistički uporede, rezultati iste metode dobijeni iz dva različita ekstrakciona rastvarača za ukupan sadržaj fenola pokazali su da je TP A u pozitivnoj korelaciji sa TP MeOH ( $r=0,903$ ,  $p\leq 0,001$ ). Rezultati testa butanol-HCl (Pro A, kao sadržaj tanina u ekstraktima acetona) pozitivno koreliraju sa rezultatima testova ukupnih tanina na osnovu precipitacije tanina sa PVPP (TT MeOH,  $r=0,950$ ,  $p\leq 0,001$ ) i ekstrakta acetona (TT A,  $r=0,686$ ,  $p\leq 0,001$ ), kao i sa sadržajem TP MeOH i TP A ( $r=0,938$ ,  $p\leq 0,001$ ;  $r=0,881$ ,  $p\leq 0,001$ , respektivno).

Antioksidativna aktivnost zrna sirka povezana je sa ukupnim sadržajem polifenolnih jedinjenja (Awika et al., 2005; Dykes et al., 2005), pa se može primetiti da je DPPH skrining cele kolekcije pokazao dobru korelaciju sa sadržajem ukupnih polifenola. Ipak, budući da postoji veći broj različitih metoda i načina iskazivanja antioksidativne aktivnosti, što doprinosi određenim odstupanjima među rezultatima, podatke o antioksidativnoj aktivnosti je teško uporediti (zbog različitih standardnih jedinjenja, modifikacija protokola za niz antioksidativnih testova, i dr.). Ovo je bio osnovni razlog da se u primarnom skriningu nutritivnog kvaliteta izvrši korelaciona analiza sa svim dobijenim podacima o sadržaju ukupnih polifenola. DPPH test je primarno iskorišćen za procenu antioksidativne aktivnosti uzoraka određivanjem njihovog kapaciteta za uklanjanje slobodnih radikala. Pri primenjenoj koncentraciji uzoraka, najmanja sposobnost uklanjanja slobodnih radikala DPPH primećena je sa 25,6% neutralizacije DPPH, dok je najveća otkrivena sposobnost bila 90,4% neutralizacije DPPH.

DPPH test je pozitivno korelirao sa sadržajem TP MeOH, TT MeOH, TP A, TT A i Pro A ( $r=0,775$ ,  $p\leq 0,001$ ;  $r=0,787$ ,  $p\leq 0,001$ ;  $r=0,720$ ,  $p\leq 0,001$ ;  $r=0,544$ ,  $p\leq 0,001$ ,  $r=0,783$ ,  $p\leq 0,001$ ). PCA analiza sadržaja fenolnih jedinjenja i antioksidativne aktivnosti u uzorcima (Slika 13) objašnjava da prve dve glavne komponente sumiraju 78,0% ukupne varijanse u osam parametara (TP MeOH, TT MeOH, TF MeOH, TA MeOH, TP A, TT A, Pro A i DPPH). Sadržaj TP MeOH (18,1% ukupne varijanse, prema korelaciji), TT MeOH (18,0%), TP A (17,5%), TT A (12,6%), Pro A (17,3%) i DPPH-test (12,9%) pokazali su negativan uticaj na PC1 koordinatu. Sa druge strane, sadržaj TF MeOH i TA MeOH (14,5% i 74,1%, respektivno) pozitivno su uticali na izračunavanje PC2 koordinata.

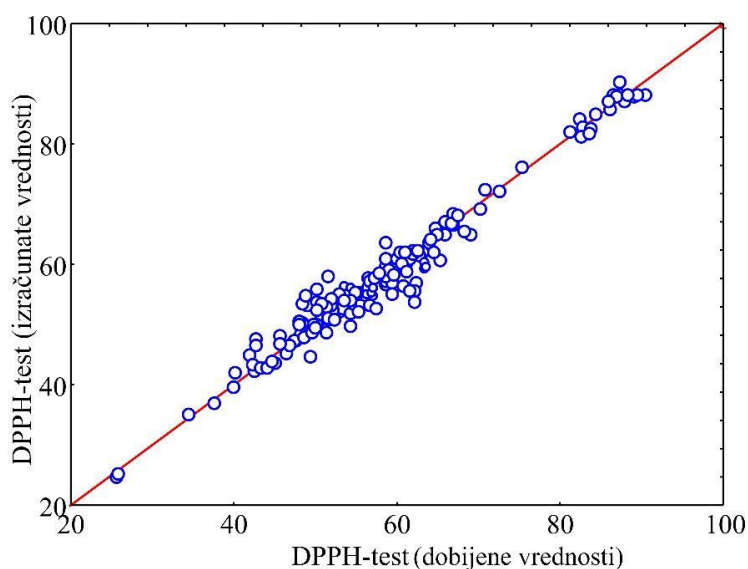


**Slika 13.** Dvodimenzionalni dijagram rasipanja analize glavnih komponenti zasnovan na prve dve glavne komponente (PC 1 i PC 2) generisan za: a) testirana bioaktivna jedinjenja i antioksidativni test i b) testirane genotipove sirka za bioaktivna jedinjenja i podatke o antioksidativnom kapacitetu.

## 5.4. Predviđanje antioksidativne aktivnosti primenom ANN modela

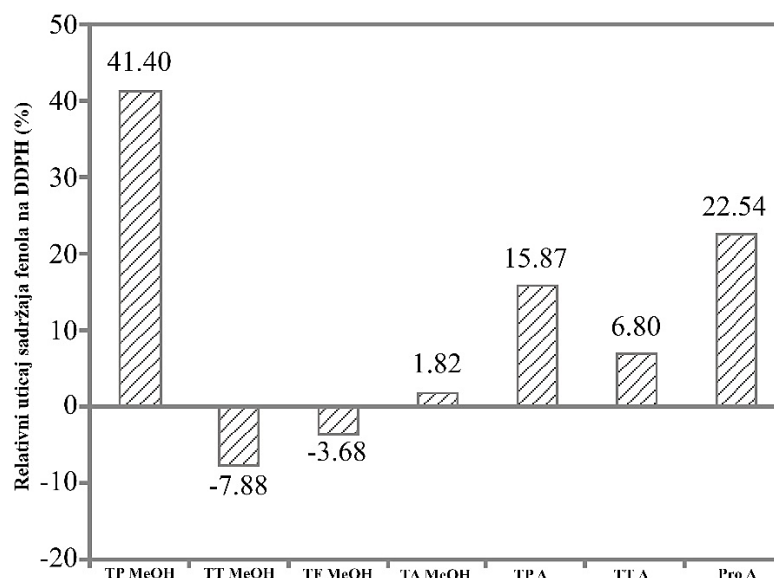
Na osnovu ulaznih promenljivih (TP MeOH, TT MeOH, TF MeOH, TA MeOH, TP A, TT A i Pro A) razvijen je model, primenom neuronskih mreža za predviđanje antioksidativnog potencijala (izlazna promenljiva - DPPH vrednost). Težinski koeficijenti i nulti članovi (engl. *Bias*) definisani u jednačini (17) su određeni u proračunu ANN modela, omogućavajući modelu da bude dovoljno tačan pri predviđanju izlazne promenljive. Kreirani model za predviđanje pokazao je dobru sposobnost generalizacije podataka i predviđanja izlaznog parametra na osnovu eksperimentalnih podataka. Optimalni model je izgrađen sa 12 neurona u skrivenom sloju unutar mreže (sa sedam ulaza i jednim izlazom), koji je dostigao visoku vrednost koeficijenta determinacije  $r^2$  od 0,969 i nisku vrednost sume kvadrata razlika (SOS - *Sum of Squares*) od 2,403. Korišćeni algoritam učenja je bio BFGS 5019; funkcija logističke aktivacije je korišćena u skrivenom sloju, dok je tangens hiperbolicus korišćen u izlaznom sloju. Razvijeni ANN model je bio složen, sa 109 težinskih koeficijenata i nultih članova.

Dijagram rasipanja (engl. *Scatter diagram*) je jedna od najčešćih tehnika vizuelizacije za predstavljanje poređenja između eksperimentalnih i predviđenih podataka kako bi se prikazalo ponašanje razvijenog ANN modela (Brandić et al., 2023). Na Slici 14 prikazani su podaci za predviđene i eksperimentalno dobijene vrednosti DPPH, što u velikoj meri ukazuje na dobre mogućnosti predviđanja pomoću ANN modela.



**Slika 14.** Predviđene i eksperimentalno dobijene DPPH vrednosti.

Primenom analize globalne osetljivosti ispitan je uticaj ulaznih promenljivih (TP MeOH, TT MeOH, TF MeOH, TA MeOH, TP A, TT A i Pro A) na DPPH vrednost, na osnovu Yoon-ove metode interpretacije razvijenog ANN modela. Grafički prikaz rezultata modela ANN prikazan je na Slici 14. Pozitivan ili negativan uticaj svake ulazne promenljive je izražen kao relativni uticaj u poređenju sa prosečnim uticajem svih promenljivih, što se može ostvariti interpretacijom jednačine (18). Na Slici 15 može se uočiti da na predikciju vrednosti DPPH snažno utiču sadržaj TP MeOH, Pro A i TP A, pokazujući relativni uticaj od 41,40%, 22,54% i 15,87%, respektivno. Pozitivan uticaj na predikciju DPPH vrednosti pokazali su i sadržaj TT A i TA, sa 6,80% i 1,82%. Ipak, utvrđen je negativan uticaj ulaznih parametara TT MeOH (-7,88%) i TF MeOH (-3,68%) na predikciju antioksidativne aktivnosti, na osnovu razvijenog ANN modela.



**Slika 15.** Relativni uticaj ulaznih podataka TP MeOH, TT MeOH, TF MeOH, TA MeOH, TP A, TT A i Pro A na vrednost DPPH, utvrđen Yoon-ovom metodom interpretacije.

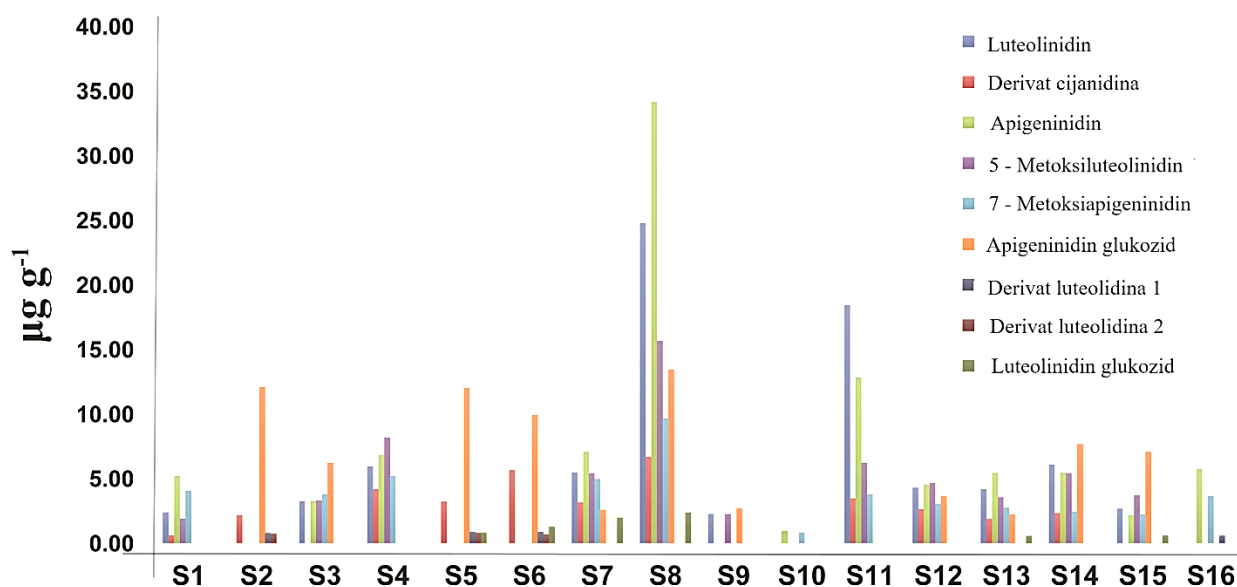
## B. Rezultati procene nutritivnog kvaliteta semena sirka izabranih genotipova

S obzirom na varijabilnost, poreklo i obim analizirane kolekcije restorer linija, međunarodno priznate standardne vrednosti (CXS 172-1989, CERSOR010, 2020) korišćene su kao početni pokazatelj pri selekciji pogodnih genotipova, nakon ispitivanja osnovnih parametara nutritivnog kvaliteta. Kao rezultat istraživanja odabrano je šesnaest genotipova sirka sa najvećim nutritivnim potencijalom, a na izabranim genotipovima izvršene su detaljnije analize kvaliteta.

Među izdvojenim uzorcima, ranije prikazanim u Tabeli 1, našao se najveći broj uzoraka američkog porekla: 4 uzoraka iz kolekcije Državnog univerziteta Oklahoma, Stilvater, Sjedinjene Američke Države (Oklahoma State University, Stillwater, USA), 2 uzoraka iz kolekcije Državnog univerziteta Ajova, Sjedinjene Američke Države (Iowa State University, Ames, USA), 3 uzoraka iz kolekcije Univerzitetskog centra u Teksasu, Sjedinjene Američke Države (Texas A&M University College Station, USA), 1 uzorak iz kolekcije Eksperimentalne stanice za poljoprivredu, Teksas Sjedinjene Američke Države (Texas Agric. Experiment Station, Lubbock, USA), 2 uzoraka iz kolekcije Northrup King semenske kuće, Sjedinjene Američke Države (Northrup King, USA), 1 uzorak iz kolekcije Pioneer semenske kuće, Sjedinjene Američke Države (Pioneer, SAD); pored toga među izabranim uzorcima našla su se 2 uzoraka iz kolekcije Istraživačkog instituta za proizvodnju žitarica u Segedinu, Mađarska (Gabonatermesztési Kutató Intézet, Szeged, HUN), i jedan uzorak nepoznatog porekla.

## 5.5. Određivanje sadržaja 3-deoksiantocijana u semenu odabranih genotipova sirka

HPLC analiza 3-deoksiantocijanina ukazala je na prisustvo devet polifenolnih jedinjenja u ispitivanim, odabranim, uzorcima semena sirka (Prilog 3), a dobijeni rezultati su pokazali da je njihov sastav varijabilan među analiziranim uzorcima (Slika 16). Apigeninidin i 7-metoksiapigeninidin su bili dominantni 3-deoksiantocijanini i u proseku su činili oko 40% ukupnih 3-deoksiantocijanina u ispitivanim uzorcima.



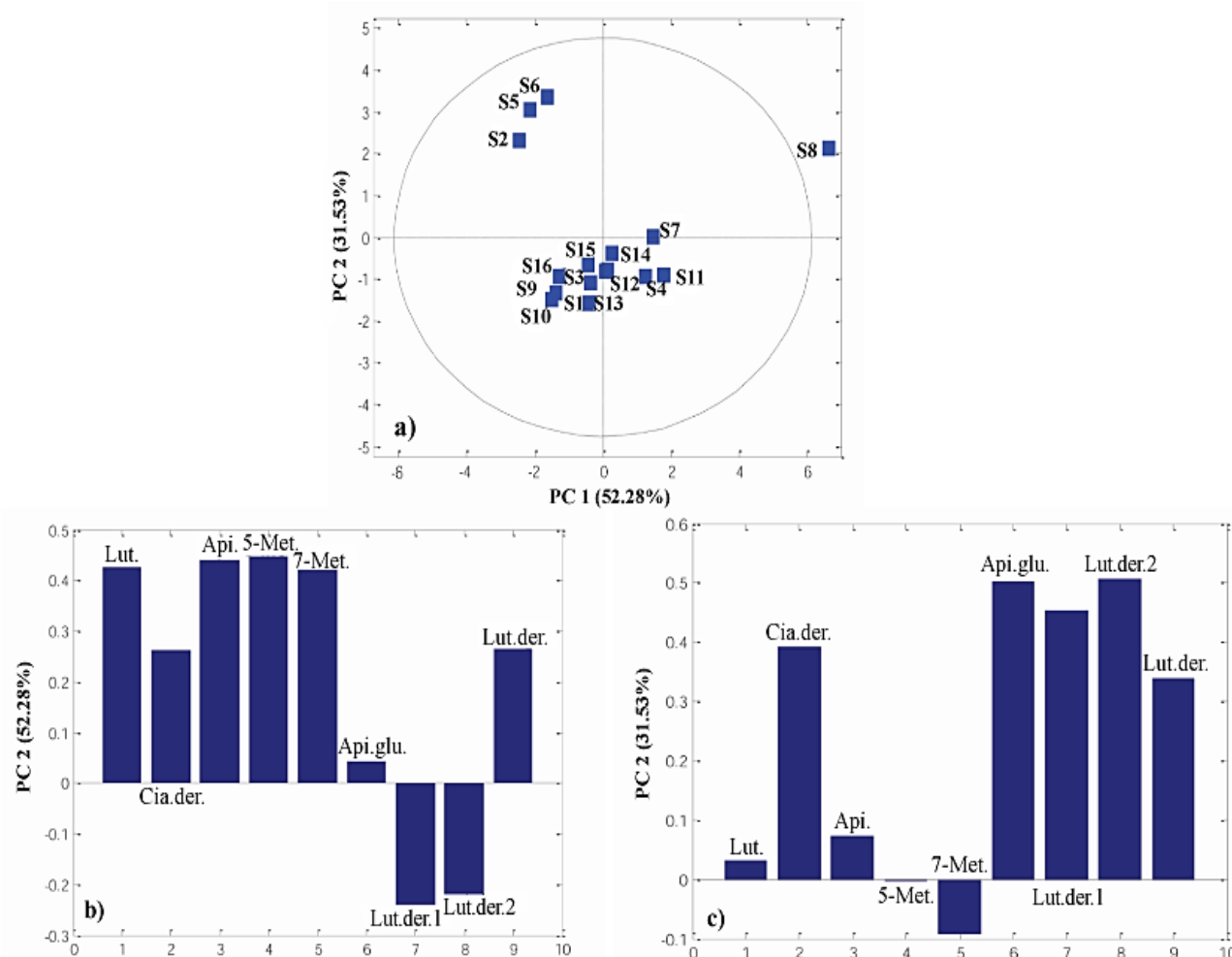
**Slika 16.** Kvalitativni i kvantitativni sastav 3-deoksiantocijanina prisutnih u ispitivanim uzorcima ( $\mu\text{g g}^{-1}$ ).

Najveća količina 3-deoksiantocijanina zabeležena je u uzorcima **S8** i **S11**, gde je apigeninidin uočen kao glavno jedinjenje. Sa druge strane, najmanja količina 3-deoksiantocijanina određena je u uzorku **S10**, sa malim količinama apigeninidina i 7-metoksiapigeninidina. Luteolinidin, apigeninidin, apigeninidin glukozid i 5-metoksiluteolinidin su bila zastupljenija jedinjenja u ispitivanim uzorcima u poređenju sa drugim 3-deoksiantocijaninima. Uzorci **S2**, **S5** i **S6** (poreklom iz iste kolekcije Državnog univerziteta Oklahoma, Stilvater, SAD) su pokazali slične profile sa visokim sadržajem apigeninidin glukozida i derivata cijanidina, dok su drugi 3-deoksiantocijanini detektovani u malim količinama (Prilog 4). Luteolidin glukozid 2 nije detektovan u uzorcima iz dve kolekcije (**S1–S4**, **S9–S12**, **S14** i **S16**), i to iz kolekcije Državnog univerziteta Oklahoma, Stilvater, Sjedinjene Američke Države i Istraživačkog instituta za proizvodnju žitarica u Segedinu, Mađarska. Ukupni derivati apigeninidina bili su najzastupljeniji u uzorku **S7**, poreklom iz kolekcije Državnog univerziteta Ajova, Sjedinjene Američke Države ( $57,41 \mu\text{g g}^{-1}$ ). Isti uzorak je imao najveću koncentraciju derivata luteolidina ( $42,99 \mu\text{g g}^{-1}$ ), ali nisku količinu derivata cijanidina (Prilog 3).

Zbog uticaja različitih uslova ekstrakcije na količinu ekstrahovanih 3-deoksiantocijanina (rastvarač, vreme ekstrakcije i temperatura), rezultati dobijeni u literaturi veoma variraju. U novijoj literaturi, Wu et al. (2023) su pokazali značajno veći sadržaj apigeninidina ( $162,50 \mu\text{g g}^{-1}$  do  $329,64 \mu\text{g g}^{-1}$ ) i luteolinidina ( $82,05 \mu\text{g g}^{-1}$  do  $97,18 \mu\text{g g}^{-1}$ ) u zrnju sirka. Ovo bi moglo biti posledica ekstrakcione metode, koja značajno utiče na količinu ekstrahovanih 3-deoksiantocijanina (Barros et al., 2013).

U okviru statističke obrade podataka, korišćena je PCA multivarijaciona tehnika, prvobitni 9-dimenzionalni skup podataka (9 fenolnih jedinjenja) transformisan je u 2D koordinate, poznate kao glavne komponente (PC), koristeći auto-skalu kao tehniku predobrade. U ovom delu istraživanja,

PCA analiza je urađena na skupu podataka o sadržaju 3-deoksiantocijanina u zrnu sirka. Tri glavne komponente (PC) opisale su 88,99% ukupne varijabilnosti podataka. PC1 je opisala 52,28% varijabilnosti, dok su PC2 i PC3 opisale 31,53% i 5,18%, respektivno. Uzorak **S8** je bio izvan Hotellingove elipse za nivo pouzdanosti od 95% i stoga je prepoznat kao izuzetak. Za razliku od drugih uzoraka, uzorak **S8** je imao najveću količinu luteolinidina, apigeninidina, 5-metoksiluteolinidina i apigeninidin glukozida. Na osnovu PC2, postojale su dve grupe genotipova sirka: uzorci **S2**, **S5** i **S6** formirali su jednu grupu uzoraka, dok su ostali uzorci formirali drugu grupu uzoraka (Slika 17). Uzorci **S2**, **S5** i **S6** sadržali su veću količinu apigeninidin glukozida i manju količinu derivata luteolidina 1 i 2, kao i derivata cijanidina.



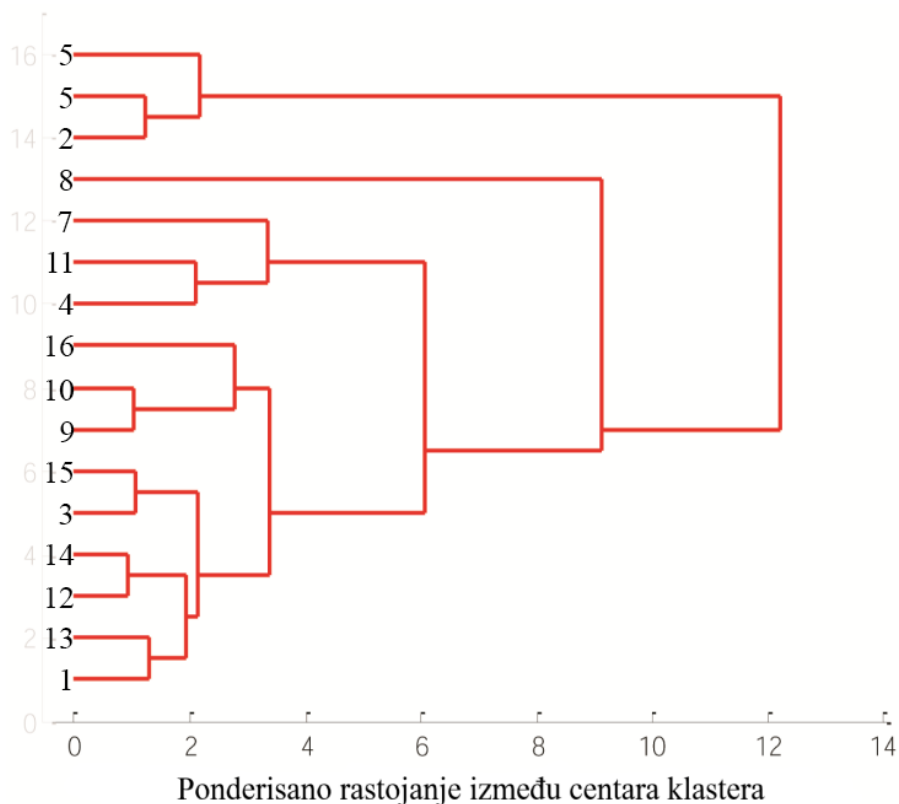
**Slika 17.** Analiza glavnih komponenta zasnovana na sadržaju 3-deoksiantocijanina u zrnu sirka: (a) 2D rezultat PC1 naspram PC2, (b) loading plot PC1, (c) loading plot PC2.

\*Lut.-Luteolinidin, Cia. der.- Derivat cijanidina, Api.-Apigeninidin, 5-Met.-5-Metoksiluteolinidin, 7-Met.-7-Metoksiluteolinidin, Api. glu.-Apigeninidin glukozid, Lut. der. 1 - Luteolidin derivat 1, Lut.der.2- Luteolidin derivat 2, Lut.glu.-Luteolidin glukozid.

Polifenolna jedinjenja, kao što su luteolinidin, 5-metoksiluteolinidin, 7-metoksiluteolinidin i apigeninidin, imala su pozitivnu korelaciju sa PC1, dok su derivati luteolidina 1 i 2 pokazali negativnu korelaciju sa PC1 (Slika 17). Prema Slici 17, PC2 je pokazao negativnu korelaciju sa luteolinidinom i 7-metoksiapigeninidom, dok su apigeninidin glukozid i derivat luteolina 2 imali pozitivnu korelaciju sa PC2.

Na nivou sličnosti od 10%, postojala su dva klastera koja su se razlikovala zbog varijacije između sadržaja polifenola: prvi klaster se sastojao od uzoraka poreklom iz iste kolekcije Državnog univerziteta Oklahoma, SAD: **S2**, **S5** i **S6**, dok je drugi klaster sadržao sve druge uzorke (Slika 18).

Na nižem nivou sličnosti, uzorci **S4**, **S7** i **S11** formirali su jedan klaster, uzorci **S2**, **S5** i **S6** formirali su drugi klaster, **S1**, **S3**, **S9**, **S10** i **S12–S16** formirali su treći klaster, a uzorci **S9**, **S10** i **S16** su grupisani zajedno. Zbog najveće količine luteolinidina, apigeninidina, 5-metoksiluteolinidina i apigeninidin glukozida, uzorak **S8** je odvojen od ostalih uzoraka, što je u saglasnosti sa PCA analizom.



**Slika 18.** Dendrogram ispitivanih uzoraka sirka na osnovu sadržaja polifenola.

## 5.6. Antioksidativna aktivnost ekstrakata odabranih genotipova sirka

Antioksidativna aktivnost šesnaest odabranih genotipova pogodnih za upotrebu u ljudskoj ishrani je procenjena spektrofotometrijski korišćenjem DPPH, ABTS i FRAP testova, i spektroskopijom elektronske paramagnetne rezonance (EPR) ispitivanjem neutralizacije hidroksil i askorbil radikala. Dobijeni rezultati su prikazani u Tabeli 5.



**Tabela 5.** Antioksidativna aktivnost ( $\bar{X} \pm SD$ ) ispitivanih uzoraka primenom različitih metoda.

| Uzorak     | DPPH<br>(mM TE g <sup>-1</sup> ) | FRAP<br>(mM TE g <sup>-1</sup> ) | ABTS<br>(mM TE g <sup>-1</sup> ) | HO <sup>•</sup><br>(%) | Asc <sup>•</sup><br>(%) |
|------------|----------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|------------------------|-------------------------|
| <b>S1</b>  | 0,61±0,05                        | 1,01±0,07                        | 0,95±0,11                        | 42,10±0,14             | 38,40±0,28              |
| <b>S2</b>  | 1,46±0,05                        | 1,92±0,00                        | 2,80±0,01                        | 27,45±0,21             | 32,15±0,21              |
| <b>S3</b>  | 0,58±0,00                        | 0,99±0,03                        | 1,14±0,08                        | 39,85±0,21             | 40,55±0,35              |
| <b>S4</b>  | 3,62±0,05                        | 3,47±0,05                        | 4,17±0,01                        | 45,50±0,57             | 36,25±0,35              |
| <b>S5</b>  | 2,09±0,07                        | 2,48±0,03                        | 3,17±0,08                        | 26,05±0,21             | 30,60±0,42              |
| <b>S6</b>  | 3,75±0,00                        | 3,41±0,08                        | 4,16±0,02                        | 39,35±0,35             | 35,45±0,35              |
| <b>S7</b>  | 3,05±0,08                        | 3,04±0,01                        | 3,58±0,08                        | 36,95±0,35             | 22,00±0,42              |
| <b>S8</b>  | 3,06±0,12                        | 3,19±0,01                        | 3,85±0,03                        | 32,4±0,42              | 34,50±0,42              |
| <b>S9</b>  | 0,36±0,02                        | 0,94±0,02                        | 0,76±0,04                        | 26,1±0,42              | 37,45±0,49              |
| <b>S10</b> | 0,33±0,03                        | 1,12±0,11                        | 0,62±0,03                        | 16,55±0,35             | 35,45±0,49              |
| <b>S11</b> | 3,51±0,01                        | 3,25±0,08                        | 3,84±0,10                        | 28,25±0,35             | 40,25±0,35              |
| <b>S12</b> | 3,03±0,18                        | 2,94±0,05                        | 3,71±0,07                        | 26,9±0,28              | 34,35±0,35              |
| <b>S13</b> | 2,43±0,14                        | 2,70±0,05                        | 3,22±0,01                        | 27,85±0,35             | 42,60±0,42              |
| <b>S14</b> | 1,68±0,01                        | 2,20±0,10                        | 2,66±0,03                        | 56,55±0,35             | 37,45±0,35              |
| <b>S15</b> | 0,57±0,01                        | 1,08±0,02                        | 1,07±0,05                        | 37,35±0,21             | 32,15±0,49              |
| <b>S16</b> | 0,37±0,01                        | 0,95±0,06                        | 0,71±0,01                        | 15,80±0,28             | 40,35±0,35              |

TE – ekvivalenti Troloxa

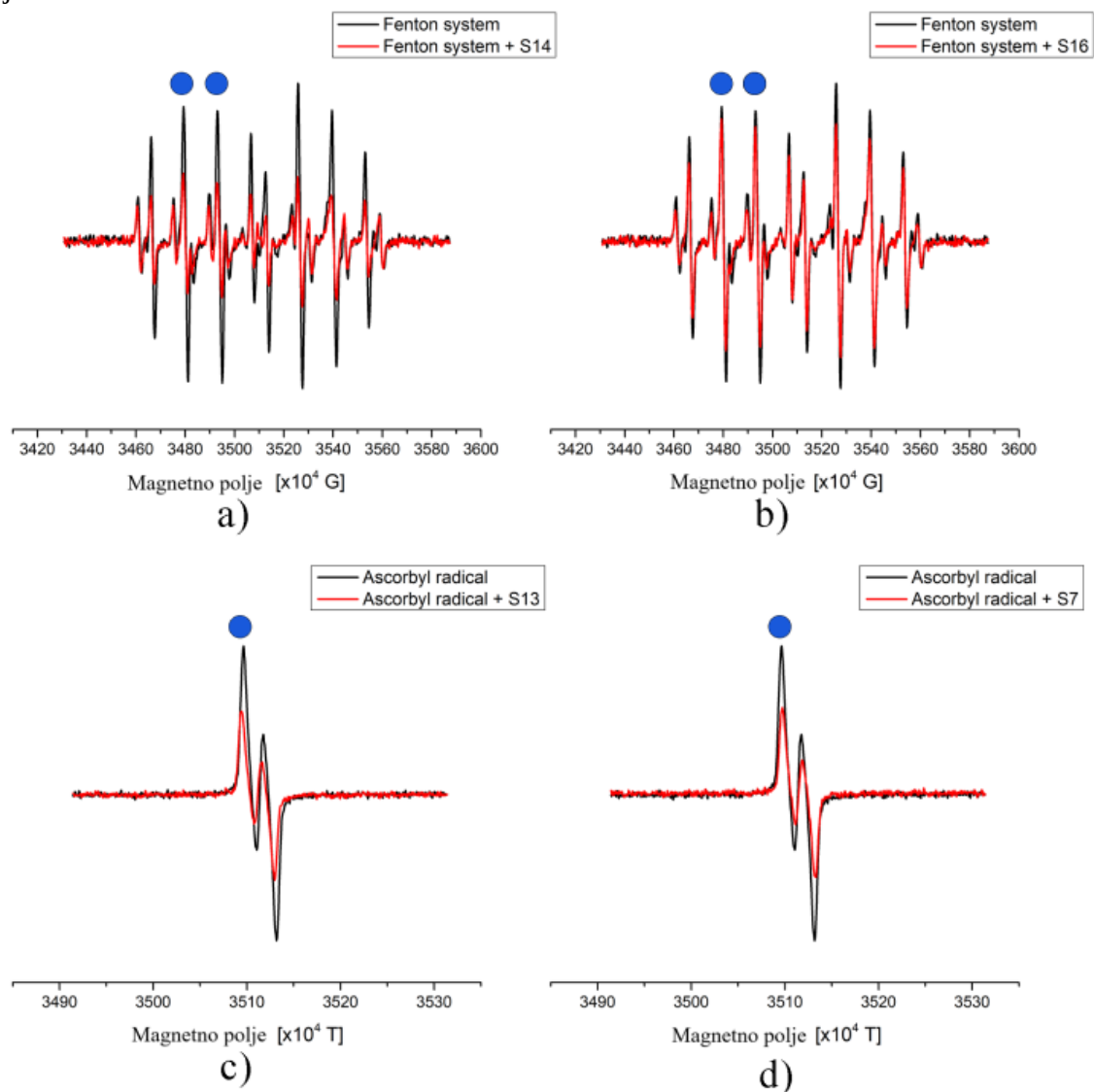
Antioksidativni potencijal ispitivanih zrna sirka primarno je određen merenjem sposobnosti redukcije 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) radikala. Pri primenjenoj koncentraciji uzoraka (0,05 g mL<sup>-1</sup>), uzorak **S10** je pokazao najmanju sposobnost uklanjanja slobodnih radikala DPPH (0,33 mM TE g<sup>-1</sup> s.m.), dok je najveća sposobnost uočena u uzorku **S6** (3,75 mM TE g<sup>-1</sup> s.m.), što je u saglasnosti sa najvišim i najnižim vrednostima ukupnih polifenola ispitivanih u okviru prvog dela istraživanja (Tabela 5, Prilog 2b). Takođe, u prilog najmanjoj sposobnosti uklanjanja DPPH radikala kod uzorka **S10**, govori i najmanja količina 3-deoksiantocijanina određena u ovom uzorku (Slika 16, Prilog 3).

Rezultati antioksidativne aktivnosti u analiziranim uzorcima dobijenim ABTS testom bili su u saglasnosti sa rezultatima dobijenim DPPH testom, gde je uzorak **S10** pokazao najmanji antioksidativni kapacitet, dok su uzorci **S4** i **S6** pokazali najveću aktivnost (Tabela 5). Iako je postojala dobra korelacija između dobijenih rezultata, vrednosti dobijene ABTS testom su bile veće od vrednosti dobijene DPPH metodom za sve uzorke jer je interferencija antocijanina dovela do potcenjivanja antioksidativne aktivnosti u DPPH testu (Awika et al., 2003). Podatke o antioksidativnoj aktivnosti je ponekad teško uporediti jer postoji nekoliko različitih metoda i načina izražavanja rezultata, što doprinosi određenom neskladu između podataka dostupnih u literaturi. U novijoj literaturi, Kumari et al. (2021) su pokazali da IC<sub>50</sub> vrednost metanolnih ekstrakata sirka iznosi 52,46 ± 0,19 µg mL<sup>-1</sup> i 63,94 ± 0,17 µg mL<sup>-1</sup> primenom DPPH i ABTS, respektivno. Ofosu et al. (2020) su prijavili za DPPH aktivnost između 499,75 ± 1,49 µg mL<sup>-1</sup> i 236,0 ± 1,98 µg mL<sup>-1</sup>, dok je dobijena IC<sub>50</sub> vrednost za aktivnost uklanjanja radikala ABTS bila od 411,65 ± 1,20 µg mL<sup>-1</sup> do 317,05 ± 1,06 µg mL<sup>-1</sup>.

FRAP metoda se, s druge strane, sastoji od redukcije kompleksa feri-tripiridil-s-triazina (Fe(III)-TPTZ) u intenzivno plavi fero kompleks (Fe(II)-TPTZ). Za razliku od DPPH metode, antioksidansi su u stanju da redukuju Fe<sup>3+</sup> do Fe<sup>2+</sup> jona. Rezultati istraživanja su pokazali da se antioksidativna aktivnost kretala u intervalu od 0,94 mM TE g<sup>-1</sup> do 3,47 mM TE g<sup>-1</sup> s.m. Uzorak **S10** pokazao je značajno odstupanje i neočekivanu vrednost antioksidativne aktivnosti primenom FRAP metode u poređenju sa rezultatima dobijenim pomoću DPPH i ABTS testova. Takođe, uzorak **S9** je pokazao najmanji antioksidativni kapacitet, dok je uzorak **S4** pokazao najveći antioksidativni potencijal, što je u saglasnosti sa rezultatima dobijenim DPPH i ABTS testovima (Tabela 5).



Aktivnost uklanjanja hidroksil ( $\text{HO}^\bullet$ ) i askorbil ( $\text{Asc}^\bullet$ ) radikala određena je EPR spektroskopijom, direktnim merenjem signala koji pripadaju vrstama DEPMPO/ $\text{HO}^\bullet$  i  $\text{Asc}^\bullet$ . EPR spektri uzoraka sa najvećim i najnižim procentima redukcije su predstavljeni na Slici 19 (spektri svih uzoraka nalaze se u Prilogu 5 i 6). Signali koji se koriste za izračunavanje procenta smanjenja koncentracije prisutnih radikala označeni su plavim kružićima na pomenutoj slici. Dodavanje uzoraka u slučaju oba radikala dovelo je do smanjenja intenziteta signala, što je dovelo do zaključka da jedinjenja iz uzoraka uspešno uklanjaju radikale. Aktivnosti pojedinačnih uzoraka su kvantifikovane preko smanjenja intenziteta signala u odnosu na kontrolna snimanja, kao što je objašnjeno u delu materijala i metoda.



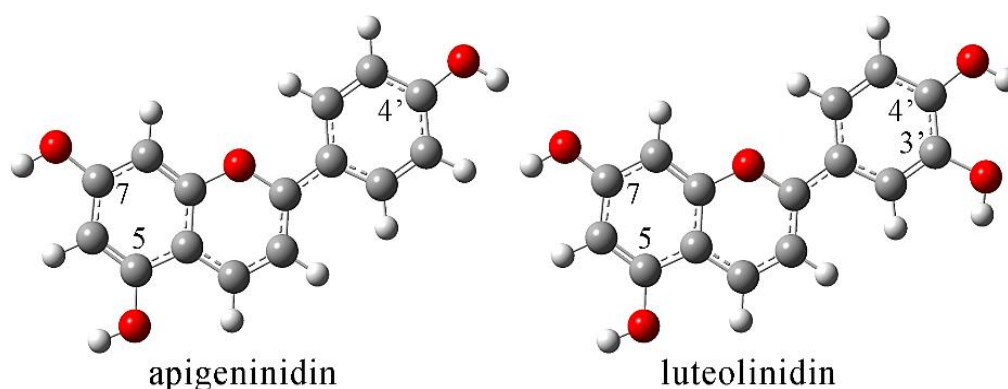
**Slika 19.** Reprezentativni EPR spektri a) DEPMPO/ $\text{HO}^\bullet$  sa **S14**, b) DEPMPO/ $\text{HO}^\bullet$  sa **S16**, c)  $\text{Asc}^\bullet$  sa **S13**, i d)  $\text{Asc}^\bullet$  sa **S7** uzorakom ekstrakata sirka.

Važno je napomenuti da je dodavanje uzoraka ekstrakata sirka u generatorski sistem za  $\text{HO}^\bullet$  dovelo do povećanja signala ugljenik-centriranih radikalskih vrsta. Ova promena se može primetiti na Slici 19a, b. U slučaju askorbil radikala, formiranje drugih radikalskih vrsta nije bilo prisutno. To se očekuje zbog niže reaktivnosti ove vrste u poređenju sa  $\text{HO}^\bullet$ . Kompletan lista dobijenih procenata redukcije za analizirane uzorke predstavljena je u Tabeli 5.

Na osnovu podataka u Tabeli 5 može se zaključiti da je dobijen širok spektar procenata smanjenja  $\text{HO}^\bullet$  između 15,8% (uzorak **S16**) i 56,6% (uzorak **S14**). Količina ugljenik-centriranih radikalskih vrsta bila je veća u slučaju uzorka **S14** nego u uzorku **S16**, dokazujući da je u prvom bila veća količina organskih jedinjenja. Određena odstupanja između ovog testa i prethodno razmatrane

antiradikalske aktivnosti je prisutna. Ovo se može pripisati veličini i sternim ograničenjima DPPH<sup>•</sup> i ABTS<sup>•+</sup>, koji ograničavaju mogućnost prilaska antioksidansa iz uzroka sirka i redukcije radikala. U slučaju **S14**, primećeno je da je količina izmerenih jedinjenja sa antioksidativnim svojstvima bila među najvišim, što je verovatno bio razlog za izračunati procenat redukcije. S druge strane, procenat smanjenja askorbil radikala bilo je u mnogo užem opsegu, između 22,0% (uzorak **S7**) i 42,6% (uzorak **S13**) (Slika 19c i d; Tabela 5). Prisustvo drugih radikalskih vrsta nije primećeno zbog niže reaktivnosti analiziranog sistema (Dimić et al., 2019). Polifenolni profil uzoraka **S7** i **S13** uključuje luteolinidin, cijanididin, apigeninidin, 5-metoksiluteolinidin, 7-metoksiapigeninidin i apigeninidin glukozid, koji su poznati i kao dobri antioksidansi, ali se takođe može pretpostaviti da su u slučaju uzorka **S13** i druga jedinjenja bila odgovorna za neutralizaciju radikalskih vrsta.

Merenja EPR spektroskopijom su pokazala značajnu redukcionu sposobnost ekstrakata sirka prema HO<sup>•</sup>. Stoga je korisno utvrditi termodinamički mehanizam antiradikalske aktivnosti ova dva jedinjenja prema HO<sup>•</sup> kako bi se formirala potpuna slika, budući da saznanja dobijena ovom metodom do sada nisu publikovana na uzorcima sirka. Kao što je ranije rečeno, luteolinidin i apigeninidin su polifenoli karakteristični za sirak i ujedno najvažnija jedinjenja za antioksidativno delovanje. Optimizovane strukture luteolinidina i apigeninidina (B3LYP/6-311++G(d,p) *level of theory*) su prikazane na Slici 20.



**Slika 20.** Optimizovane strukture luteolinidina i apigeninidina (Orig.).

Strukture apigeninidina i luteolinidina sadrže nekoliko OH grupa koje su najreaktivniji delovi molekula kada je u pitanju aktivnost uklanjanja radikala. Oba jedinjenja karakterišu OH grupe na pozicijama 5 i 7 benzopirilijumskih prstenova. Luteolinidin ima kateholnu grupu kao deo strukture, dok apigeninidin ima jednu OH grupu manje na aril prstenu. Oba jedinjenja su pozitivno naelektrisana sa planarnom strukturom zbog delokalizacije naelektrisanja. U Tabeli 6 navedeni su termodinamički parametri izračunati prema jednačinama 11-15.

**Tabela 6.** Promena entalpije reakcija za uobičajene mehanizme (kJ mol<sup>-1</sup>) apigeninidina i luteolinidina.

| komponenta   | pozicija | HAT              | SPLET           |                  | SET-PT          |                  |
|--------------|----------|------------------|-----------------|------------------|-----------------|------------------|
|              |          | $\Delta H_{BDE}$ | $\Delta H_{PA}$ | $\Delta H_{ETE}$ | $\Delta H_{IP}$ | $\Delta H_{PDE}$ |
| apigeninidin | 5        | -127             | -295            | 167              | 287             | -415             |
|              | 7        | -115             | -295            | 180              | 287             | -402             |
|              | 4'       | -125             | -284            | 159              | 287             | -413             |
|              | 5        | -127             | -295            | 168              | 276             | -403             |
| luteolinidin | 7        | -115             | -295            | 180              | 276             | -391             |
|              | 3'       | -147             | -262            | 115              | 276             | -423             |
|              | 4'       | -149             | -301            | 152              | 276             | -425             |

Mehanizam HAT je egzoterman proces u svim ispitivanim pozicijama za oba jedinjenja.  $\Delta H_{BDE}$  vrednosti su iste na pozicijama 5 i 7 ( $-127$  i  $-115 \text{ kJ mol}^{-1}$ ) što dokazuje da supstituenti aromatičnog prstena ne utiču na spontanost procesa. Gubitak atoma vodonika iz OH grupa koje su deo benzopirilijumskih prstenova dovodi do raspoređivanja spinske gustine u celom sistemu sa delokalizovanom elektronskom gustinom. Prenos atoma vodonika sa OH grupe na poziciji 4' apigeninidina je manje egzoterman ( $-125 \text{ kJ mol}^{-1}$ ) nego iz OH grupe na poziciji 5. Sa druge strane, prisustvo kateholnog dela značajno povećava sposobnost doniranja protona luteolinidina (Dimić et al., 2017), pri čemu su  $\Delta H_{BDE}$  vrednosti  $-147$  (pozicija 3') i  $-149 \text{ kJ mol}^{-1}$  (pozicija 4'). Izračunate vrednosti dobro reprodukuju one koje su dobili Ali i Ali (2018). Intramolekulska vodonična veza, formirana između susednih OH grupa, povećava ukupnu stabilnost formiranog radikala. Stabilizacija interakcije formirane između ove dve grupe imaju energiju stabilizacije od  $1,05$  i  $1,07 \text{ kJ mol}^{-1}$ . Kada se uporede promene entalpije prvih koraka ispitivanih mehanizama, može se zaključiti da je termodinamički najmanje povoljan mehanizam SPLET, pri čemu su vrednosti  $\Delta H_{ip}$  pozitivne za oba jedinjenja ( $287 \text{ kJ mol}^{-1}$  za apigeninidin i  $276 \text{ kJ mol}^{-1}$  za luteolinidin). Početne strukture oba jedinjenja su pozitivno naelektrisane i može se pretpostaviti da bi gubitak elektrona u prvom koraku SET-PT mehanizma destabilizovao sistem. Prenos protona, kao drugi korak SET-PT, je veoma egzoterman i stoga nije ograničavajući faktor. Najegzotermniji prvi korak analiziranih mehanizama je razmena protona u SPLET mehanizmima. Nakon uklanjanja protona, od ispitivanih jedinjenja nastaje neutralna vrsta. Opet,  $\Delta H_{pa}$  vrednosti su iste za OH grupe na pozicijama 5 i 7 oba jedinjenja ( $-295 \text{ kJ mol}^{-1}$ ). Uklanjanje protona iz OH grupe u položaju 4' apigeninidina ima nešto nižu vrednost promene entalpije ( $-284 \text{ kJ mol}^{-1}$ ). Dve OH grupe kateholnog dela luteolinidina imaju različite sposobnosti da doniraju protone ( $-262$  za poziciju 3' i  $-301 \text{ kJ mol}^{-1}$  za poziciju 4'). Vodonične veze se ponovo formiraju između negativno naelektrisanog kiseonika i OH grupa, sa energijama od  $4,07$  i  $5,80$  za pozicije 3' i 4', respektivno. Razlika je zbog položaja grupe, jer *para*-supstitucija omogućava lakšu distribuciju naelektrisanja kroz aromatični prsten. Planarnost sistema u dobijenim anjonima je očuvana što omogućava bolju delokalizaciju unutar sistema. Drugi korak SPLET procesa uključuje prenos elektrona koji je obično proces kontrolisan difuzijom. Položaji 5 i 7 apigeninidina i položaj 4' luteolinidina su najreaktivniji položaji kada je u pitanju aktivnost prema  $HO^{\bullet}$ . Treba napomenuti da su mogući i drugi mehanizmi, kao što je formiranje radikalskih adukta ili kombinovani procesi (Dimić et al., 2021; Milenković et al., 2020), ali oni su van okvira ovog ispitivanja. Prisustvo kateholnog dela označava luteolinidin kao reaktivniji antioksidans u poređenju sa apigeninidinom. Dodavanje glukoze utiče na ukupnu stabilnost, a zbog toga što je jedna OH grupa manje dostupna za uklanjanje radikala smanjuje se antiradikalna aktivnost.

## 5.7. Sadržaj makro- i mikro- elemenata

Prisustvo i koncentracija dvadeset i dva elementa određena je optičkom emisijom spektrometrijom, tehnikom induktivno spregnute plazme (ICP-OES), koja pruža mogućnost istovremenog određivanja većeg broja elemenata prisutnih u uzorcima (Tabele 7 i 8). Devetnaest elemenata je kvantifikovano, dok su koncentracije barijuma (Ba), arsena (As) i kobalta (Co), bile ispod granice detekcije. Poređenje sadržaja 6 makro- kalcijum (Ca), kalijum (K), magnezijum (Mg), natrijum (Na), fosfor (P) i sumpor (S), 13 mikro- i elemenata u tragovima gvožđe (Fe), mangan (Mn), cink (Zn), aluminijum (Al), bor (B), kadmijum (Cd), hrom (Cr), bakar (Cu), litijum (Li), nikl (Ni), olovo (Pb), selen (Se) i stroncijum (Sr) ukazuju na postojanje varijacija u ukupnom sadržaju minerala među genotipovima sirka i značajne varijacije u količini različitih elemenata. Naime, elementarni sastav zrna može varirati u zavisnosti od uslova gajenja i genetske raznolikosti.

**Tabela 7.** Sadržaj makroelemenata ( $\bar{X} \pm \text{SD}$ ) u ispitivanim uzorcima ( $\text{mg kg}^{-1}$ ).

| Uzorak | Ca                | K                   | Mg                 | Na              | P                   | S                  |
|--------|-------------------|---------------------|--------------------|-----------------|---------------------|--------------------|
| S1     | 98,26 $\pm$ 3,51  | 963,30 $\pm$ 20,12  | 575,81 $\pm$ 16,37 | 4,59 $\pm$ 0,24 | 3080,87 $\pm$ 22,17 | 881,32 $\pm$ 5,80  |
| S2     | 151,20 $\pm$ 1,64 | 2055,46 $\pm$ 14,65 | 786,71 $\pm$ 7,33  | 3,91 $\pm$ 0,03 | 5375,47 $\pm$ 17,44 | 772,15 $\pm$ 0,70  |
| S3     | 189,93 $\pm$ 2,86 | 1951,90 $\pm$ 12,12 | 835,95 $\pm$ 11,79 | 5,39 $\pm$ 0,04 | 6069,05 $\pm$ 3,37  | 849,05 $\pm$ 1,35  |
| S4     | 141,78 $\pm$ 0,61 | 1709,71 $\pm$ 26,67 | 816,78 $\pm$ 17,55 | 3,24 $\pm$ 0,02 | 5196,2 $\pm$ 10,13  | 897,46 $\pm$ 2,03  |
| S5     | 145,70 $\pm$ 1,18 | 1961,74 $\pm$ 4,37  | 776,14 $\pm$ 0,00  | 3,51 $\pm$ 0,03 | 5320,82 $\pm$ 16,8  | 760,46 $\pm$ 0,00  |
| S6     | 163,49 $\pm$ 1,00 | 2249,17 $\pm$ 18,89 | 812,45 $\pm$ 5,49  | 2,96 $\pm$ 0,10 | 5917,35 $\pm$ 3,43  | 780,40 $\pm$ 0,69  |
| S7     | 146,63 $\pm$ 1,55 | 1586,28 $\pm$ 9,31  | 840,57 $\pm$ 2,41  | 4,39 $\pm$ 0,03 | 5123,39 $\pm$ 3,45  | 837,89 $\pm$ 0,00  |
| S8     | 113,99 $\pm$ 2,73 | 1700,97 $\pm$ 22,39 | 790,87 $\pm$ 2,45  | 3,01 $\pm$ 0,04 | 5051,45 $\pm$ 20,99 | 725,31 $\pm$ 0,70  |
| S9     | 123,79 $\pm$ 0,37 | 1638,96 $\pm$ 17,85 | 856,75 $\pm$ 5,73  | 2,97 $\pm$ 0,02 | 5561,64 $\pm$ 23,58 | 893,67 $\pm$ 1,35  |
| S10    | 134,58 $\pm$ 3,44 | 2133,49 $\pm$ 5,62  | 888,96 $\pm$ 7,02  | 3,69 $\pm$ 0,06 | 6163,09 $\pm$ 7,02  | 895,91 $\pm$ 0,70  |
| S11    | 174,06 $\pm$ 0,21 | 2233,90 $\pm$ 32,42 | 927,35 $\pm$ 7,05  | 3,64 $\pm$ 0,09 | 6781,94 $\pm$ 28,19 | 1030,00 $\pm$ 2,11 |
| S12    | 183,20 $\pm$ 1,65 | 2322,58 $\pm$ 0,00  | 878,04 $\pm$ 4,71  | 4,23 $\pm$ 0,04 | 6342,75 $\pm$ 10,09 | 817,40 $\pm$ 1,68  |
| S13    | 135,75 $\pm$ 2,42 | 1818,34 $\pm$ 21,11 | 841,49 $\pm$ 4,15  | 3,40 $\pm$ 0,02 | 5759,25 $\pm$ 17,31 | 807,71 $\pm$ 2,08  |
| S14    | 161,11 $\pm$ 3,20 | 1985,60 $\pm$ 39,78 | 823,80 $\pm$ 5,39  | 3,45 $\pm$ 0,04 | 5792,33 $\pm$ 13,48 | 859,55 $\pm$ 0,00  |
| S15    | 80,11 $\pm$ 0,07  | 1627,88 $\pm$ 27,89 | 734,82 $\pm$ 9,41  | 2,99 $\pm$ 0,03 | 4791,95 $\pm$ 10,46 | 853,63 $\pm$ 3,14  |
| S16    | 119,50 $\pm$ 0,31 | 1994,87 $\pm$ 29,45 | 831,32 $\pm$ 1,03  | 3,16 $\pm$ 0,10 | 6322,65 $\pm$ 30,82 | 1031,82 $\pm$ 4,45 |

**Tabela 8.** Sadržaj mikroelemenata( $\bar{X} \pm \text{SD}$ ) u ispitivanim uzorcima (mg kg<sup>-1</sup>).

| Uzorak     | Al        | B         | Cd        | Cr        | Cu        | Li        | Ni        | Pb        | Se        | Sr        | Mn         | Zn         | Fe         |
|------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|------------|------------|------------|
| <b>S1</b>  | 0,33±0,10 | 0,58±0,00 | <0,005    | 0,15±0,00 | 1,20±0,03 | 0,06±0,00 | 0,25±0,02 | <0,005    | 0,32±0,03 | 0,10±0,00 | 4,65±0,18  | 13,16±0,17 | 13,60±0,62 |
| <b>S2</b>  | 0,63±0,22 | 0,44±0,03 | <0,005    | 0,47±0,23 | 2,13±0,02 | 0,09±0,00 | 0,25±0,02 | <0,005    | 0,38±0,04 | 0,15±0,00 | 6,80±0,19  | 18,23±0,09 | 18,79±0,65 |
| <b>S3</b>  | 1,13±0,14 | 0,69±0,01 | 0,01±0,00 | 0,29±0,17 | 2,83±0,01 | 0,11±0,01 | 0,65±0,00 | 0,15±0,06 | 0,69±0,22 | 0,21±0,00 | 13,05±0,13 | 23,55±0,02 | 23,44±0,18 |
| <b>S4</b>  | 0,48±0,15 | 0,33±0,01 | <0,005    | 0,37±0,12 | 1,74±0,03 | 0,08±0,00 | 0,33±0,00 | <0,005    | 0,38±0,05 | 0,16±0,00 | 7,99±0,16  | 17,21±0,00 | 18,39±0,31 |
| <b>S5</b>  | 1,43±0,21 | 0,38±0,02 | 0,02±0,00 | 0,13±0,01 | 2,07±0,00 | 0,09±0,00 | 0,16±0,00 | <0,005    | 0,36±0,10 | 0,14±0,00 | 6,68±0,08  | 17,40±0,02 | 20,60±0,76 |
| <b>S6</b>  | 0,78±0,15 | 0,27±0,01 | 0,03±0,00 | 0,17±0,01 | 2,73±0,02 | 0,10±0,00 | 0,17±0,01 | <0,005    | 0,39±0,07 | 0,16±0,01 | 8,53±0,04  | 20,76±0,00 | 23,30±0,15 |
| <b>S7</b>  | 1,65±0,10 | 0,52±0,01 | 0,02±0,00 | 0,14±0,01 | 2,01±0,03 | 0,09±0,00 | 0,61±0,00 | <0,005    | 0,34±0,23 | 0,15±0,01 | 10,56±0,02 | 15,68±0,02 | 19,85±0,18 |
| <b>S8</b>  | 0,87±0,01 | 0,57±0,02 | <0,005    | 0,57±0,08 | 1,87±0,04 | 0,07±0,00 | 0,39±0,01 | <0,005    | 0,40±0,02 | 0,09±0,00 | 7,57±0,07  | 15,55±0,04 | 19,96±0,06 |
| <b>S9</b>  | 0,42±0,43 | 0,53±0,01 | 0,01±0,01 | 0,25±0,14 | 2,51±0,03 | 0,08±0,00 | 0,29±0,00 | <0,005    | 0,38±0,01 | 0,12±0,00 | 10,16±0,01 | 19,88±0,04 | 24,94±0,20 |
| <b>S10</b> | 1,05±0,20 | 0,61±0,02 | <0,005    | 0,28±0,06 | 2,67±0,02 | 0,08±0,01 | 0,32±0,00 | <0,005    | 0,41±0,02 | 0,14±0,01 | 9,71±0,01  | 20,81±0,01 | 27,16±0,50 |
| <b>S11</b> | 1,69±0,10 | 1,07±0,03 | 0,02±0,00 | 0,09±0,02 | 2,34±0,02 | 0,10±0,00 | 0,71±0,01 | <0,005    | 0,46±0,06 | 0,15±0,01 | 12,03±0,12 | 24,20±0,04 | 33,74±0,35 |
| <b>S12</b> | 1,81±0,03 | 0,90±0,02 | 0,01±0,00 | 0,34±0,03 | 2,42±0,03 | 0,11±0,00 | 0,62±0,00 | <0,005    | 0,24±0,06 | 0,15±0,00 | 8,48±0,03  | 19,70±0,04 | 30,82±0,03 |
| <b>S13</b> | 0,75±0,16 | 0,56±0,03 | <0,005    | <0,005    | 2,19±0,02 | 0,09±0,00 | 0,39±0,01 | <0,005    | 0,34±0,04 | 0,13±0,01 | 8,03±0,15  | 19,91±0,03 | 23,71±0,77 |
| <b>S14</b> | 1,10±0,09 | 0,97±0,02 | 0,02±0,01 | 0,43±0,03 | 2,60±0,00 | 0,09±0,00 | 0,84±0,00 | <0,005    | 0,31±0,05 | 0,16±0,01 | 6,69±0,01  | 20,89±0,08 | 21,06±0,31 |
| <b>S15</b> | 1,06±0,19 | 0,23±0,02 | 0,02±0,00 | 0,18±0,07 | 1,64±0,00 | 0,05±0,00 | 0,37±0,00 | <0,005    | 0,41±0,07 | 0,06±0,00 | 6,27±0,01  | 16,42±0,04 | 19,01±0,23 |
| <b>S16</b> | 0,87±0,08 | 0,44±0,02 | 0,02±0,00 | 0,08±0,03 | 3,05±0,00 | 0,08±0,00 | 0,54±0,01 | <0,005    | 0,40±0,14 | 0,12±0,01 | 9,08±0,07  | 25,45±0,10 | 27,45±0,52 |

*Koncentracije As, Ba i Co bile su ispod granice detekcije u svim ispitivanim uzorcima*

Soetan et al. (2010) su u preglednom radu ukazali na značaj visoke koncentracije fosfora za strukturu ugljenih hidrata i proteina u biljkama, ali i za celokupnu aktivnost metabolizma, jer je ovaj element deo adenozin trifosfata (ATP). Uvidom u dobijene rezultate, najzastupljeniji element bio je upravo P sa koncentracijama koje su varirale od 3080,63 mg kg<sup>-1</sup> do 6781,94 mg kg<sup>-1</sup>. Najviši sadržaj fosfora detektovan je u uzorku **S11**, dok je najniža vrednost sadržaja ovog elementa uočena u uzorku **S1**. Paiva et al. (2017) su prikazali razliku u sadržaju P koji se kretao od 2480 mg kg<sup>-1</sup> do 5690 mg kg<sup>-1</sup> i 1330 mg kg<sup>-1</sup> do 3420 mg kg<sup>-1</sup> u zavisnosti od uslova gajenja, u studiji koja je imala za cilj praćenje uticaja vodenog stresa na sadržaj minerala. Motlhaodi et al., (2018) su prikazali najviši sadržaj P od 3534 mg kg<sup>-1</sup> što je značajno niže u odnosu na vrednosti dobijene u okviru ovog istraživanja. Ikem et al., (2023) su takođe prijavili značajno niži prosečan sadržaj P od 2300 mg kg<sup>-1</sup> i 3800 mg kg<sup>-1</sup>.

Sadržaj detektovanog kalijuma, koji se kretao u rasponu od 963,30 (**S1**) do 2322,58 mg kg<sup>-1</sup> (**S12**) je značajno niži u poređenju sa dostupnim literarnim podacima, gde se K pojavljuje kao najzastupljeniji element. Pontieri et al. (2022), prikazali su da je sadržaj K u genotipovima belog, crnog i crvenog perikarpa u rasponu od 26,89 g kg<sup>-1</sup> do 35,66 g kg<sup>-1</sup>. Paiva et al. (2017) sprovedi su istraživanje elementalnog sastava u zavisnosti od uslova gajenja ispitivanih genotipova i prikazan je prosečan sadržaj K od 3720 mg kg<sup>-1</sup> i 4080 mg kg<sup>-1</sup>. Motlhaodi et al. (2018) su prijavili da se sadržaj ovog elementa u ispitivanim uzorcima semena sirka kretao od 2387 mg kg<sup>-1</sup> do 3536 mg kg<sup>-1</sup>.

Sumpor je veoma značajan mineral, koji poseduje jednu od ključnih uloga u formiranju ćelijskih struktura. Neophodan je za sintezu metionina i cisteina koji su od velike važnosti za normalan rast i razvoj organizma. Pored toga, poseduje svojstva koja pomažu u zaštiti ćelija od oštećenja izazvanih slobodnim radikalima i igra značajnu ulogu u procesu detoksikacije organizma. U ispitivanim uzorcima, sadržaj S kretao se u rasponu od 725,31 mg kg<sup>-1</sup> do 1031,82 mg kg<sup>-1</sup>, pri čemu je najviši sadržaj detektovan u uzorku **S16**. Paiva et al. (2017) prijavili su u ranije pomenutoj studiji prosečan sadržaj sumpora od 1100 mg kg<sup>-1</sup>, odnosno 1090 mg kg<sup>-1</sup> u zavisnosti od uticaja uslova gajenja.

Magnezijum je važan kao koenzim u brojnim enzimima i samim tim u ljudskom metabolizmu. U ispitivanim uzorcima, sadržaj Mg je generalno bio niži u poređenju sa rezultatima koje su objavili Paiva et al. (2017), gde je prosečan sadržaj ovog elementa iznosio 1260 mg kg<sup>-1</sup> odnosno 1760 mg kg<sup>-1</sup> u zavisnosti od uslova gajenja ispitivanih genotipova, dok je u okviru ove disertacije genotip **S1** imao najniži sadržaj od svega 575,81 mg kg<sup>-1</sup>, a najviši sadržaj od 927,37 mg kg<sup>-1</sup> detektovan je u uzorku **S11**.

Kalcijum ima veoma značajnu ulogu u pravilnom funkcionisanju nervnog i koštano-mišićnog sistema, a njegov nedostatak može dovesti do različitih zdravstvenih problema. Preporučeni dnevni unos ovog elementa zavisi od životne dobi i fiziološkog stanja, ali je unos kalcijuma kroz ishranu ključan za održavanje vitalnih funkcija. U okviru ispitivanih uzoraka, najviši sadržaji od 189,93 mg kg<sup>-1</sup> detektovan je u uzorku **S3**, a najniži od 80,11 mg kg<sup>-1</sup> u uzorku **S15**. Detektovan sadržaj u ispitivanim uzorcima je u saglasnosti sa rezultatima koje su objavili Paiva et al. (2017), gde je prosečan sadržaj ovog elementa iznosio 170 mg kg<sup>-1</sup>.

Natrijum je element od velike važnosti u mnogim biološkim procesima unutar ćelije (Soetan et al., 2010), gde ima značajnu ulogu kao primarni katjon u ekstracelularnoj tečnosti. U okviru ispitivanih uzoraka, sadržaj natrijuma u uzorcima je varirao u opsegu od 2,96 mg kg<sup>-1</sup> za **S6** do 5,39 mg kg<sup>-1</sup> za **S3**.

Nedostatak cinka i gvožđa u ishrani predstavljaju veliki problem širom sveta. U pojedinim delovima sveta, skoro svako drugo dete pati od nedostatka cinka (Victoria et al., 2021), dok je nedostatak gvožđa snažno povezan sa anemijom, koja pogađa 60% dece mlađe od 5 godina u siromašnim zemljama (Zlotkin et al., 2021). Pored dece, nedostatak gvožđa je veoma čest kod žena reproduktivnog doba i dojilja (Madhusudhan et al., 2023). U okviru ispitivanih uzoraka, najniži sadržaji Fe i Zn, sa samo 13,6 mg kg<sup>-1</sup> odnosno 13,2 mg kg<sup>-1</sup>, detektovani su u uzorku **S1**. Količina ovih elementa kretala se od 13,6 mg kg<sup>-1</sup> do 33,74 mg kg<sup>-1</sup> za Fe i 13,2 mg kg<sup>-1</sup> do 25,45 mg kg<sup>-1</sup> za Zn, što je u saglasnosti sa dostupnim podacima (Madhusudhan et al., 2023) koji su prikazali prosečan sadržaj od 33 mg kg<sup>-1</sup> za Fe i 25 mg kg<sup>-1</sup> za Zn, ali je niža u poređenju sa podacima Pontieri et al.

(2022) koji su prikazali sadržaj od 346,91 mg kg<sup>-1</sup> do 655,15 mg kg<sup>-1</sup> za Fe i 180,21 mg kg<sup>-1</sup> do 284,35 mg kg<sup>-1</sup> za Zn.

Među analiziranim elementima, As, Ba i Co su bili ispod granica kvantifikacije metode, dok su izmerene koncentracije najmanje zastupljenih, Li, Sr, Se, Cd i Ni, bile ispod 0,8 mg kg<sup>-1</sup> u svim ispitivanim uzorcima. Koncentracije Pb su bile ispod granica kvantifikacije metode u svim analiziranim uzorcima, osim u uzorku S3, sa 0,149 mg kg<sup>-1</sup>. Sadržaj Al i B kretao se od 0,3 mg kg<sup>-1</sup> do 1,8 mg kg<sup>-1</sup>, dok se sadržaj Cu kretao od 1,2 mg kg<sup>-1</sup> (S1) do 3,0 mg kg<sup>-1</sup> (S16).

Različiti sastavi zemljišta, uslova gajenja i klimatski uslovi, pored varijacija u genetici samih uzoraka, mogu značajno uticati na razlike u rezultatima sadržaja makro- i mikroelemenata, pa ovi faktori mogu biti jedan od razloga zbog kojih su rezultati različitih istraživanja pokazala varijacije u sadržaju ovih nutrijenata.

## 5.8. Procena teorijskog unosa nutrijenata

U okviru ispitivanja procenjen je teorijski unos pojedinih elemenata iz analiziranih uzoraka sirka i upoređen sa preporučenom dnevnom dozom (*Recommended Daily Allowance* - RDA) ili adekvatnim unosom (*Adequate Intake* - AI) koju preporučuju Nacionalni institut za zdravlje i Institut za medicinu, SAD (National Institute of Health US; Institute of Medicine, USA) za odrasle muškarce i žene (Tabela 9).

**Tabela 9.** Procena dnevnog unosa mikro- i makro- elemenata kroz konzumiranje 100 g ispitivanih uzoraka.

| Analit | Dnevni unos<br>mg/100 g | RDA/AI* (Ž)<br>(mg/dan) | RDA/AI* (M)<br>(mg/dan) | % unosa (Ž) | % unosa (M) |
|--------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------|-------------|
| Mg     | 57,58-92,74             | 320                     | 420                     | 18-29       | 14-22       |
| P      | 308,06-678,19           | 700                     | 700                     | 44-97       | 44-97       |
| K      | 96,35-232,26            | 2600                    | 3400                    | 4-9         | 3-7         |
| Ca     | 8,01-19,00              | 1000                    | 1000                    | 1-2         | 1-2         |
| Na     | 0,30-0,54               | 1500*                   | 1500*                   | 0           | 0           |
| Mn     | 0,47-1,31               | 1,80*                   | 2,30*                   | 26-73       | 20-57       |
| Fe     | 1,36-3,37               | 18,00                   | 8,00                    | 8-19        | 17-42       |
| Cu     | 0,12-0,30               | 0,90                    | 0,90                    | 13-33       | 13-33       |
| Zn     | 1,32-2,54               | 8,00                    | 11,00                   | 17-32       | 12-23       |
| Cr     | 0,01-0,06               | 0,025*                  | 0,035*                  | 32-228      | 23-163      |
| Se     | 0,02-0,07               | 0,055                   | 0,055                   | 44-125      | 44-125      |

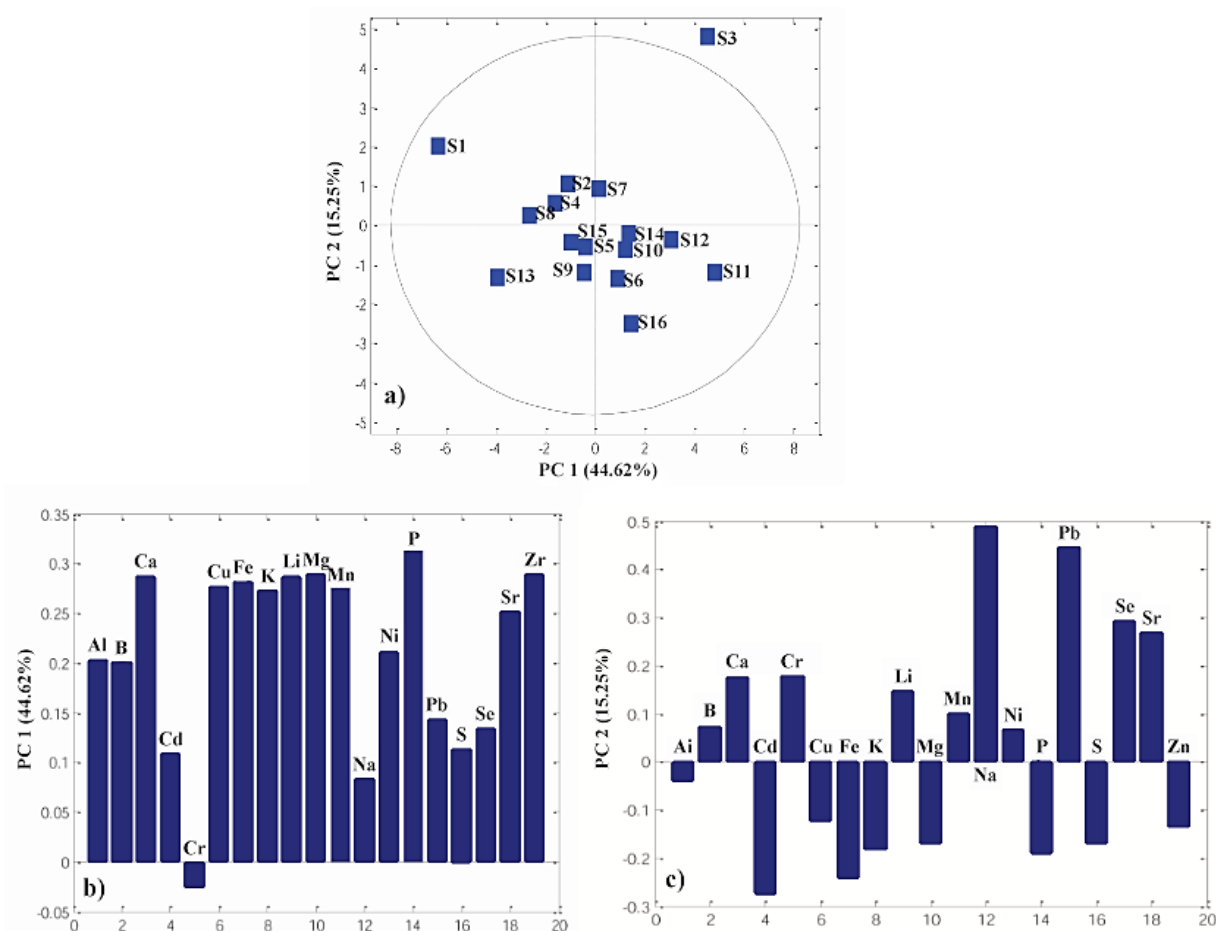
\*AI: Adekvatan unos; RDA: Preporučena dnevna doza; M: muškarci 31–50 godina; Ž: žene 31–50 godina.

Uključivanje sirka u ishranu moglo bi da ima značajan doprinos dnevnim potrebama za cinkom (12% do 32%), pošto se RDI vrednost kreće od 8 do 11 mg/dan. Na osnovu dobijenih rezultata konstatovano je da bi procenjeni dnevni unos od 100 g sirka zadovoljio dnevnu potrebu Mg između 14% i 29%. Sirak nije dobar izvor Na i Ca, jer obezbeđuje ispod 2% RDA i AI. Pored toga, u svim ispitivanim uzorcima, K je pronađen u koncentracijama između 963,54 mg kg<sup>-1</sup> i 2322,58 mg kg<sup>-1</sup>, što može doprineti manje od 10% dnevnih potreba. Nasuprot tome, sirak može biti značajan izvor P, Mn, Fe, Cu, Cr i Se. Na osnovu dobijenih rezultata, može preporučiti kao značajan izvor P (44–97%) i Se (44–125%), jer bi unos od oko 70 g u potpunosti zadovoljio dnevne potrebe odrasle osobe.

Selen je u poslednje vreme privlači veliku pažnju budući da je prepoznat kao ćelijski antioksidans sa ključnom ulogom u zaštiti organizma od oksidativnog stresa i održavanju normalne funkcije enzima (Medeiros et al., 2012). Poznato je da trovalentni hrom ima značajnu ulogu u metabolizmu ugljenih hidrata, jer pojačava aktivnost insulina, što je ključno za održavanje normalnog

fiziološkog funkcionisanja organizma. Dobijeni rezultati pokazuju da bi 50 g sirka moglo u potpunosti da zadovolji dnevne potrebe ovog elementa.

Kako bi se prikazala povezanost analiziranih uzoraka na osnovu elementalnog profila primenjena je PCA analiza. Nakon PCA, tri glavne komponente su opisale 70,37% ukupne varijanse podataka. PC1, PC2 i PC3 su činili 44,62%, 15,25% i 10,50% ukupne varijanse. Jedan uzorak **S3** leži unutar Hotelling elipse, što sugerise da je **S3** prepoznat kao izuzetak. Prikazano je razdvajanje između analiziranih genotipova, sa dve grupe uzoraka (Slika 21): PC1 je jasno odvojio uzorke **S6**, **S10**, **S11**, **S12** i **S16** od drugih uzoraka (**S2**, **S4**, **S5**, **S7**, **S8**, **S9**, **S13** i **S15**), dok je uzorak **S1** izdvojen iz svih ispitivanih uzoraka. Dalje, prema PC2, postoje dve grupe uzoraka: uzorci **S1**, **S2**, **S4**, **S7** i **S8** formirali su jedan klaster, dok su ostali uzorci pozicionirani na donjoj strani grafikona PC rezultata.



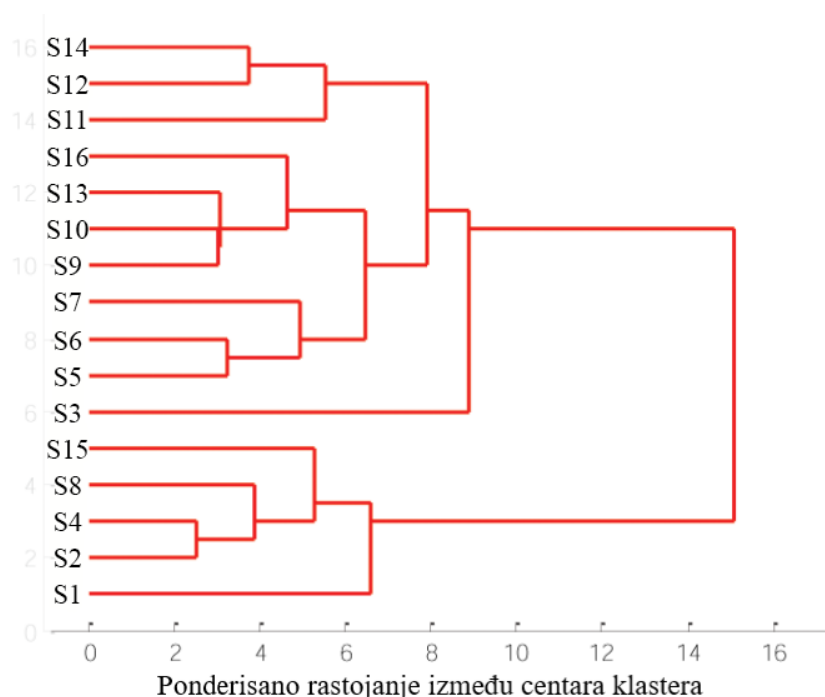
**Slika 21.** PCA zasnovana na sadržaju elementa: a) grafik 2D PC1 naspram PC2, b) *loading plot* PC1, c) *loading plot* PC2.

Dijagrami opterećenja pokazuju doprinos svih analiziranih elemenata ukupnoj varijabilnosti podataka. Najvažniji elementi sa najvećim doprinosom na PC1 bili su Ca, Mg i P što se slaže sa prethodnim studijama u kojima su ova tri elementa pronađena u najvećoj količini u ispitivanim uzorcima. Nasuprot tome, Cr je negativno doprineo PC1 (Slika 21b). PC2 je pokazao negativnu vrednost opterećenja Cd, Fe, K, Mg i P, dok su Na, Pb, Cr, Se i Sr bili pozitivno povezani sa PC2 (Slika 21c). Pored toga, Ca, K, Mg i P su bili glavni elementi u ispitivanim uzorcima, Cd i Pb pronađeni u tragovima, dok su Fe i Se su pronađeni kao sporedni elementi.

HCA deli uzorke sirka u grupe (klustere) prema sličnosti i pronalazi sličnost među uzorcima u višedimenzionalnom prostoru, formirajući klustere između najbližih ispitivanih uzoraka. Postoji nekoliko načina da se odredi rastojanje između uzoraka u multivarijantnom prostoru, dok su najbolji rezultati dobijeni primenom Vordove metode. Primijenjeno je Euklidsko rastojanje za merenje rastojanja između uzoraka. HCA uzima u obzir svu varijabilnost podataka i pokazuje



sličnost/različitost između analiziranih uzoraka na osnovu koncentracije elemenata. HCA primenjen na 16 uzoraka otkrio je dva klastera na 10 jedinica udaljenosti ponderisane varijansom: prvi klaster je bio sastavljen od **S1**, **S2**, **S4**, **S8** i **S15**, dok je drugi klaster bio u potpunosti sastavljen od drugih uzoraka (Slika 22). Rezultati HCA se slažu sa rezultatima PCA, u kojima su **S1**, **S2**, **S4** i **S8** formirali jednu grupu uzoraka.



**Slika 22.** Dendrogram ispitivanih uzoraka sirka na osnovu elementalnog sastava.

## 5.9. Aminokiselinski sastav

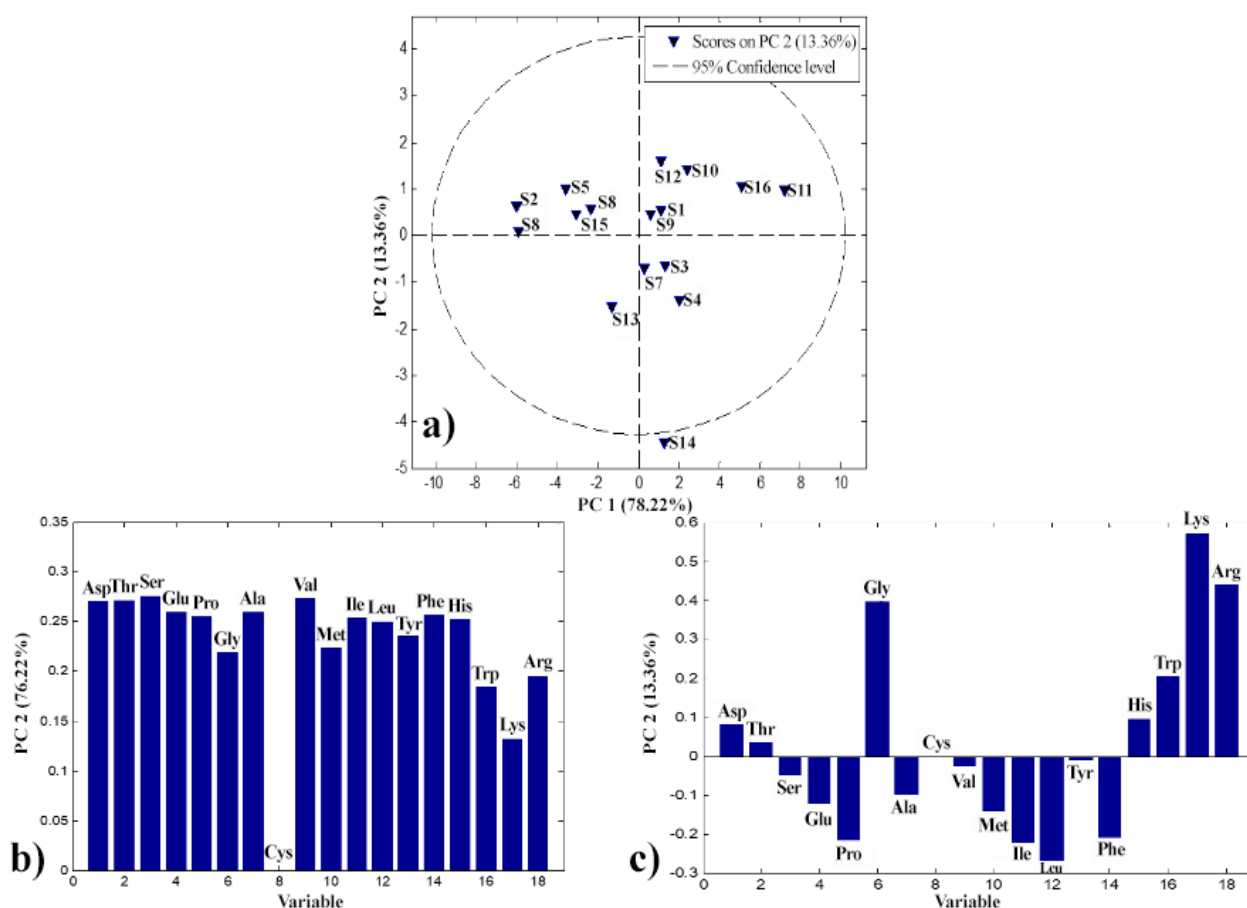
Sadržaj ukupnih aminokiselina u šesnaest odabranih genotipova, prikazan je u Tabeli 10. Prema dobijenim rezultatima, najveći ukupni sadržaj aminokiselina detektovan je u uzorcima **S11** i **S16** ( $13,74 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1}$  i  $13,06 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1}$  uzorka). Nasuprot tome, uzorci **S2** ( $9,64 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1}$  uzorka) i **S8** ( $9,66 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1}$  uzorka) imali su najnižu kvantifikovani sadržaj aminokiselina. U studiji Khan et al. (2023) analizirano je 23 aminokiseline u 206 linija sirka. Kao najzastupljenije aminokiseline prikazane su glutaminska kiselina (prosečno  $21,70\%$ ), leucin (prosečno  $13,98\%$ ), alanin (prosečno  $9,51\%$ ) i prolin (prosečno  $8,07\%$ ). Ovi rezultati su uporedivi sa rezultatima dobijenim u okviru ove doktorske disertacije, budući da su dve najzastupljenije aminokiseline takođe glutaminska kiselina i leucin, s tim da su dobijene vrednosti nešto niže nego u pomenutoj studiji Khan et al. (2023). Sadržaj glutaminske kiseline u šesnaest ispitivanih genotipova, kretale se u rasponu od  $17,48 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1}$  do  $19,19 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1}$  preračunato na sadržaj proteina, dok se sadržaj leucina kretao od  $10,34 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1}$  do  $11,98 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1}$  preračunato na sadržaj proteina. Interesantno je da cistein nije detektovan ni u jednom od ispitivanih uzoraka (Tabela 10). Uzorak **S14** je imao karakterističan profil aminokiselina sa povišenim količinama glutaminske kiseline, prolina, metionina, izoleucina, leucina i fenilalanina, ali smanjene količine glicina, lizina i arginina u poređenju sa drugim uzorcima. Iako se sastav aminokiselina genotipova za hranu može razlikovati na osnovu faktora kao što su sorta, đubrenje, sazrevanje ili klimatski uslovi, razumevanje ove varijacije je ključno za dalju obradu i prihvatanje od strane konzumenata. Na osnovu rezultata ANOVA analize, uočeno je da postoji statistički značajna razlika u sadržaju aminokiselina između ispitivanih uzoraka. Najveće varijacije uočene su kod aminokiselina Glu, Asp, Arg, Leu, Tyr i Phe. Glu je pokazao statistički veoma značajne razlike između više grupa ispitivanih uzoraka.

**Tabela 10.** Sadržaj aminokiselina ( $\bar{X} \pm \text{SD}$ ) u ispitivanim uzorcima (g 100 g<sup>-1</sup> uzorka).

|            | S1          | S2          | S3          | S4          | S5          | S6          | S7          | S8          | S9          | S10         | S11         | S12         | S13         | S14         | S15         | S16         |
|------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| <b>Asp</b> | 1,12±0,01   | 0,91±0,01   | 1,1±0,00    | 1,11±0,01   | 0,98±0,01   | 1,04±0,01   | 1,09±0,01   | 0,88±0,01   | 1,07±0,01   | 1,11±0,01   | 1,28±0,01   | 1,09±0,00   | 1,02±0,01   | 1,04±0,00   | 0,97±0,00   | 1,23±0,01   |
| <b>Thr</b> | 0,46±0,00   | 0,37±0,00   | 0,48±0,01   | 0,46±0,01   | 0,40±0,00   | 0,42±0,00   | 0,46±0,00   | 0,37±0,00   | 0,46±0,00   | 0,48±0,00   | 0,54±0,00   | 0,45±0,00   | 0,44±0,00   | 0,45±0,00   | 0,43±0,01   | 0,53±0,00   |
| <b>Ser</b> | 0,68±0,00   | 0,53±0,01   | 0,68±0,00   | 0,7±0,00    | 0,58±0,00   | 0,61±0,00   | 0,68±0,00   | 0,55±0,00   | 0,67±0,00   | 0,69±0,01   | 0,8±0,03    | 0,68±0,00   | 0,65±0,00   | 0,69±0,00   | 0,60±0,00   | 0,75±0,01   |
| <b>Glu</b> | 2,25±0,03   | 0,88±0,01   | 2,37±0,01   | 2,33±0,01   | 2,02±0,01   | 2,11±0,02   | 2,28±0,02   | 1,89±0,02   | 2,31±0,03   | 2,32±0,00   | 2,6±0,00    | 2,47±0,00   | 2,33±0,03   | 2,46±0,00   | 1,98±0,01   | 2,5±0,00    |
| <b>Pro</b> | 0,77±0,01   | 0,59±0,00   | 0,8±0,00    | 0,81±0,00   | 0,63±0,00   | 0,65±0,00   | 0,76±0,01   | 0,58±0,00   | 0,81±0,00   | 0,79±0,00   | 0,88±0,01   | 0,71±0,00   | 0,74±0,00   | 0,86±0,02   | 0,67±0,00   | 0,83±0,00   |
| <b>Gly</b> | 0,47±0,00   | 0,41±0,00   | 0,44±0,01   | 0,45±0,00   | 0,43±0,00   | 0,43±0,00   | 0,44±0,00   | 0,39±0,00   | 0,48±0,01   | 0,51±0,00   | 0,57±0,00   | 0,5±0,00    | 0,41±0,02   | 0,38±0,00   | 0,43±0,00   | 0,53±0,00   |
| <b>Ala</b> | 0,9±0,00    | 0,77±0,01   | 0,95±0,01   | 0,93±0,01   | 0,82±0,00   | 0,84±0,00   | 0,89±0,00   | 0,77±0,00   | 0,91±0,00   | 0,93±0,00   | 1,03±0,00   | 0,98±0,01   | 0,93±0,00   | 0,97±0,01   | 0,79±0,00   | 0,99±0,01   |
| <b>Cys</b> | <i>n.d.</i> | <i>n.d.</i> | <i>n.d.</i> | <i>n.d.</i> | <i>n.d.</i> | <i>n.d.</i> | <i>n.d.</i> | <i>n.d.</i> | <i>n.d.</i> | <i>n.d.</i> | <i>n.d.</i> | <i>n.d.</i> | <i>n.d.</i> | <i>n.d.</i> | <i>n.d.</i> | <i>n.d.</i> |
| <b>Val</b> | 0,74±0,01   | 0,58±0,01   | 0,71±0,00   | 0,74±0,00   | 0,63±0,00   | 0,64±0,00   | 0,7±0,00    | 0,58±0,00   | 0,71±0,00   | 0,72±0,01   | 0,84±0,00   | 0,73±0,00   | 0,68±0,00   | 0,73±0,00   | 0,66±0,01   | 0,78±0,00   |
| <b>Met</b> | 0,24±0,00   | 0,19±0,00   | 0,25±0,01   | 0,26±0,00   | 0,21±0,00   | 0,22±0,00   | 0,22±0,00   | 0,21±0,00   | 0,23±0,00   | 0,27±0,00   | 0,26±0,00   | 0,21±0,00   | 0,21±0,01   | 0,27±0,00   | 0,22±0,00   | 0,29±0,00   |
| <b>Ile</b> | 0,52±0,01   | 0,4±0,00    | 0,51±0,00   | 0,56±0,01   | 0,43±0,00   | 0,45±0,00   | 0,52±0,00   | 0,41±0,00   | 0,49±0,00   | 0,5±0,00    | 0,6±0,00    | 0,48±0,00   | 0,47±0,00   | 0,57±0,02   | 0,45±0,00   | 0,54±0,00   |
| <b>Leu</b> | 1,35±0,01   | 1,09±0,01   | 1,38±0,02   | 1,5±0,04    | 1,18±0,01   | 1,22±0,01   | 1,38±0,00   | 1,14±0,02   | 1,33±0,01   | 1,34±0,01   | 1,59±0,01   | 1,34±0,00   | 1,37±0,00   | 1,54±0,00   | 1,22±0,00   | 1,45±0,00   |
| <b>Tyr</b> | 0,31±0,00   | 0,26±0,00   | 0,37±0,00   | 0,34±0,00   | 0,27±0,00   | 0,35±0,00   | 0,34±0,00   | 0,24±0,00   | 0,32±0,00   | 0,39±0,00   | 0,38±0,00   | 0,30±0,00   | 0,29±0,00   | 0,34±0,00   | 0,28±0,00   | 0,42±0,00   |
| <b>Phe</b> | 0,68±0,00   | 0,52±0,02   | 0,68±0,00   | 0,74±0,00   | 0,56±0,00   | 0,58±0,00   | 0,7±0,00    | 0,52±0,00   | 0,65±0,01   | 0,67±0,01   | 0,79±0,00   | 0,61±0,01   | 0,62±0,00   | 0,74±0,01   | 0,57±0,00   | 0,72±0,01   |
| <b>His</b> | 0,26±0,00   | 0,2±0,00    | 0,24±0,00   | 0,26±0,00   | 0,22±0,00   | 0,21±0,01   | 0,24±0,00   | 0,2±0,00    | 0,24±0,00   | 0,25±0,00   | 0,33±0,00   | 0,25±0,00   | 0,24±0,01   | 0,23±0,00   | 0,23±0,00   | 0,27±0,00   |
| <b>Trp</b> | 0,13±0,00   | 0,11±0,00   | 0,12±0,00   | 0,12±0,00   | 0,13±0,00   | 0,12±0,00   | 0,12±0,00   | 0,12±0,00   | 0,13±0,00   | 0,14±0,00   | 0,14±0,00   | 0,16±0,00   | 0,12±0,00   | 0,13±0,00   | 0,11±0,01   | 0,14±0,00   |
| <b>Lys</b> | 0,4±0,00    | 0,35±0,00   | 0,36±0,00   | 0,34±0,00   | 0,37±0,00   | 0,37±0,00   | 0,35±0,00   | 0,32±0,00   | 0,37±0,00   | 0,42±0,00   | 0,43±0,00   | 0,4±0,00    | 0,3±0,00    | 0,24±0,00   | 0,36±0,00   | 0,44±0,01   |
| <b>Σ</b>   | 11,86       | 9,64        | 12,02       | 12,21       | 10,38       | 10,82       | 11,72       | 9,66        | 11,76       | 12,18       | 13,74       | 11,94       | 11,28       | 12,06       | 10,50       | 13,06       |

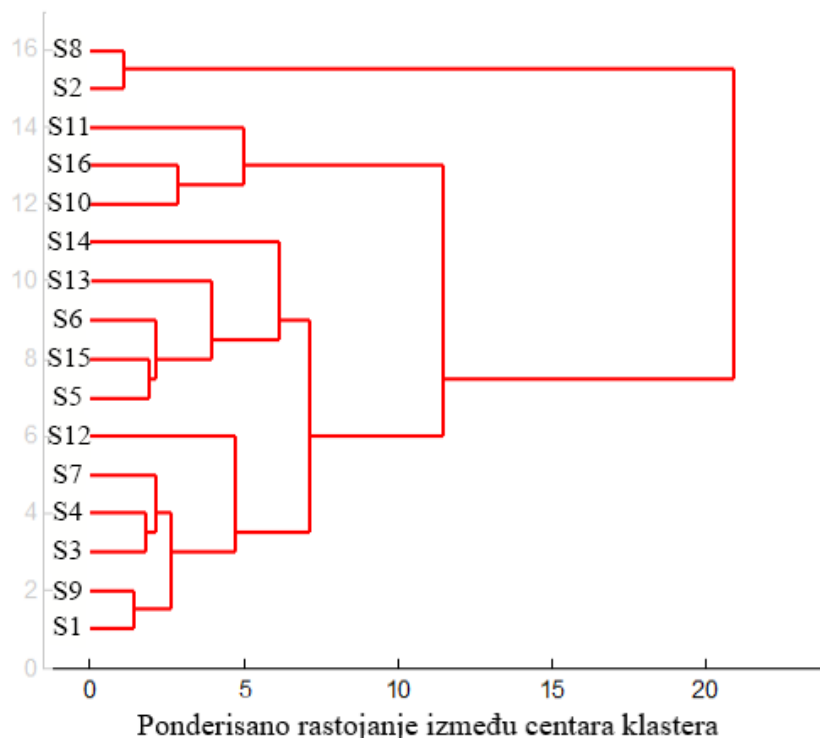
*n.d.: nije detektovano*

Za istraživanje sličnosti između ispitivanih uzoraka u pogledu aminokiselinskog sastava korišćena je analiza glavnih komponenta. PCA analiza ispitivanih uzoraka pokazuje da četiri glavne komponente zajedno čine 97,48% varijabilnosti unutar skupa podataka (PC1 – 76,22%, PC2 – 13,36%, PC3 – 5,03% i PC4 – 2,86%), a grafički prikaz rezultata je konstruisan na osnovu prve dve glavne komponente PC1 i PC2. Uticaj aminokiselina na razdvajanje uzoraka duž ose PC1 varira u zavisnosti od njihovih odgovarajućih količina u uzorcima, pokazujući generalno pozitivan efekat. Međutim, uticaj aminokiselina na razdvajanje uzoraka duž ose PC2 se razlikuje (Slika 23). Uzorci **S11** i **S16** su pozicionirani u gornjem desnom kvadrantu grafikona rezultata, što ukazuje da poseduju najveći ukupni sadržaj aminokiselina. Nasuprot tome, uzorci **S2**, **S5**, **S6**, **S8** i **S15** sa najnižom kvantifikovanom aminokiselinom su odvojeni u gornjem levom kvadrantu grafikona rezultata. Uzorak **S14** je pozicioniran u donjem desnom kvadrantu izvan Hotellingove elipse za nivo pouzdanosti od 95%. Negativno pozicioniranje uzorka **S14** duž PC2 korelira sa njegovim povišenim količinama glutaminske kiseline (Glu), prolina (Pro), metionina (Met), izoleucina (Ile), leucina (Leu) i fenilalanina (Phe) i, sa druge strane, sa smanjenim količinama glicina (Gly), lizina (Lys) i arginina (Arg).



**Slika 23.** PCA zasnovana na sadržaju aminokiselina: a) grafik 2D PC1 naspram PC2, b) *loading plot* PC1, c) *loading plot* PC2.

Hijerarhijskom klaster analizom (HCA) strukturirani su klasteri uzoraka sa sličnim karakteristikama. HCA izveden na rezultatima dobijenim za sadržaj aminokiselina pokazuje dva klastera (Slika 24), manji koji se sastoji od samo dva uzorka **S2** i **S8** i sa druge strane veliki klaster koji uključuje sve ostale uzorke. Uzorci **S2** i **S8** su grupisani odvojeno od ostalih uzoraka jer imaju najmanji sadržaj aminokiselina među svim uzorcima.



**Slika 24.** Dendrogram ispitivanih uzoraka sirka na osnovu aminokiselinskog sastava.

## 5.10. Masnokiselinski sastav

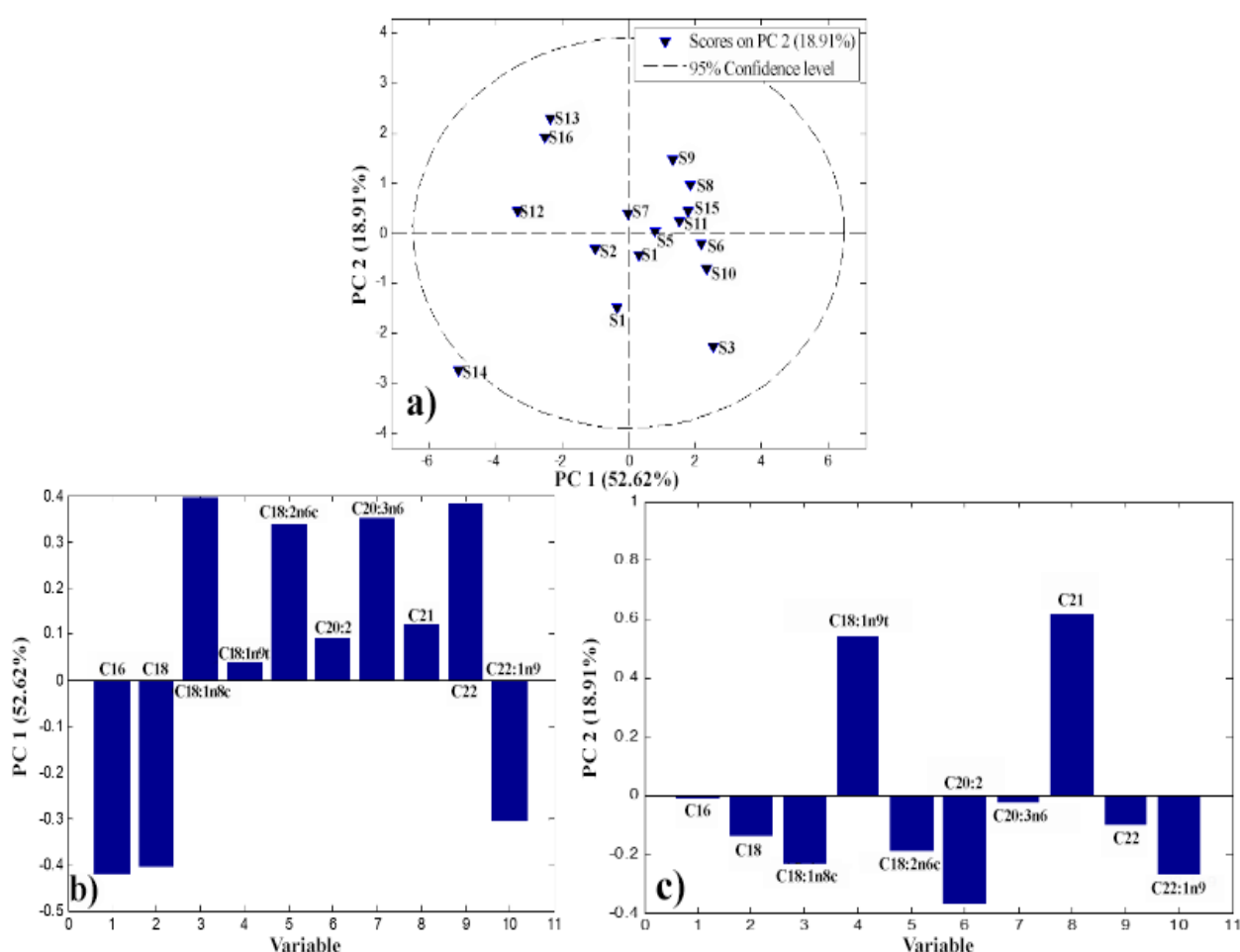
Sadržaj ukupnih masnih kiselina u šesnaest odabranih genotipova, prikazan je u Tabeli 11. Palmitinska, heneikozilinska i elaidinska kiselina bile su najzastupljenije masne kiseline u svim ispitivanim uzorcima, pri čemu elaidinska kiselina nije detektovana u uzorku **S14**. U novijim ispitivanjima, Pontieri et al. (2024), prikazali su da devet ispitivanih uzoraka sirka sadrži najviše oleinske, linolne i palmitinske kiseline. U uzorku **S3** detektovano je 10 ispitivanih masnih kiselina, dok je najmanji sadržaj ispitivanih masnih kiselina određen u uzorcima **S14** i **S16**. Uočeno je da su najdominantnije masne kiseline palmitinska (zastupljenost od 22,0% do 62,5%) i heneikozilinska (zastupljenost od 18,9% do 28,6%). Pored toga, zabeležen je značajan sadržaj elaidinske kiseline u svim ispitivanim uzorcima, osim u uzorku **S14**. Uzorak **S13** sadrži najveći udeo elaidinske kiseline (18,6%), dok je najveći sadržaj stearinske kiseline zabeležen u uzorku **S14** (13,1%). Sa druge strane, interesantno je da je *cis*-11,14-eikozadienoinska kiselina detektovana samo u uzorcima **S1**, **S3** i **S4** sa udelom od 6,4%, 6,9% i 5,1%, respektivno. Analiza varijanse primenjena kako bi se ispitale razlike između grupa uzoraka u odnosu na koncentracije pojedinačnih masnih kiselina pokazuje da postoje statistički značajne razlike između svih uzoraka na nivou značajnosti  $p < 0,05$ .

**Tabela 11.** Sadržaj masnih kiselina ( $\bar{X} \pm \text{SD}$ ) u ispitivanim uzorcima (%).

|            | <b>C16</b>   | <b>C18</b>   | <b>C18:1n9c</b> | <b>C18:1n9t</b> | <b>C18:2n6c</b> | <b>C20:2</b>                   | <b>C20:3n6</b>                    | <b>C21</b>      | <b>C22</b>  | <b>C22:1n9</b> |
|------------|--------------|--------------|-----------------|-----------------|-----------------|--------------------------------|-----------------------------------|-----------------|-------------|----------------|
|            | palmitinska  | stearinska   | oleinska        | elaidinska      | linolna         | cis-11,14-<br>eikozadienoinska | cis-8,11,14-<br>eikozatrienoinska | heneikozilinska | behenska    | erukinska      |
| <b>S1</b>  | 29,00 ± 0,09 | 5,58 ± 0,02  | 2,80 ± 0,05     | 14,10 ± 0,05    | <i>n.d.</i>     | 6,44 ± 0,10                    | 3,88 ± 0,02                       | 24,30 ± 0,05    | 9,20 ± 0,02 | 3,60 ± 0,00    |
| <b>S2</b>  | 39,80 ± 0,06 | 6,70 ± 0,00  | 4,30 ± 0,02     | 15,20 ± 0,01    | <i>n.d.</i>     | <i>n.d.</i>                    | 4,10 ± 0,00                       | 20,70 ± 0,00    | 4,70 ± 0,00 | 4,60 ± 0,00    |
| <b>S3</b>  | 22,19 ± 0,01 | 3,50 ± 0,00  | 9,90 ± 0,00     | 10,30 ± 0,03    | 15,00 ± 0,08    | 6,90 ± 0,02                    | 1,80 ± 0,00                       | 21,29 ± 0,02    | 7,60 ± 0,00 | 1,50 ± 0,00    |
| <b>S4</b>  | 35,87 ± 0,03 | 6,60 ± 0,01  | 3,90 ± 0,00     | 12,10 ± 0,00    | <i>n.d.</i>     | 5,10 ± 0,00                    | 4,00 ± 0,01                       | 20,40 ± 0,00    | 8,00 ± 0,00 | 3,90 ± 0,01    |
| <b>S5</b>  | 31,10 ± 0,01 | 5,60 ± 0,00  | 4,40 ± 0,01     | 11,60 ± 0,00    | 5,00 ± 0,00     | <i>n.d.</i>                    | 4,60 ± 0,00                       | 25,00 ± 0,01    | 9,60 ± 0,00 | 3,20 ± 0,00    |
| <b>S6</b>  | 29,10 ± 0,11 | 4,70 ± 0,01  | 7,50 ± 0,05     | 10,80 ± 0,02    | 10,20 ± 0,00    | <i>n.d.</i>                    | 4,90 ± 0,05                       | 23,90 ± 0,06    | 8,90 ± 0,00 | <i>n.d.</i>    |
| <b>S7</b>  | 34,10 ± 0,03 | 6,60 ± 0,01  | 4,30 ± 0,00     | 14,10 ± 0,05    | <i>n.d.</i>     | <i>n.d.</i>                    | 4,20 ± 0,02                       | 24,30 ± 0,01    | 8,90 ± 0,00 | 3,30 ± 0,02    |
| <b>S8</b>  | 28,30 ± 0,05 | 5,40 ± 0,02  | 6,60 ± 0,00     | 11,10 ± 0,01    | 6,80 ± 0,01     | <i>n.d.</i>                    | 4,60 ± 0,01                       | 28,60 ± 0,02    | 8,60 ± 0,02 | <i>n.d.</i>    |
| <b>S9</b>  | 31,20 ± 0,00 | 5,30 ± 0,00  | 4,10 ± 0,01     | 13,30 ± 0,01    | 4,20 ± 0,00     | <i>n.d.</i>                    | 4,60 ± 0,02                       | 28,30 ± 0,04    | 9,10 ± 0,11 | <i>n.d.</i>    |
| <b>S10</b> | 28,30 ± 0,01 | 4,30 ± 0,01  | 8,10 ± 0,00     | 12,50 ± 0,02    | 12,60 ± 0,01    | <i>n.d.</i>                    | 5,00 ± 0,02                       | 21,00 ± 0,02    | 8,20 ± 0,05 | <i>n.d.</i>    |
| <b>S11</b> | 33,50 ± 0,01 | 4,50 ± 0,05  | 6,70 ± 0,01     | 11,30 ± 0,03    | 7,50 ± 0,06     | <i>n.d.</i>                    | 4,10 ± 0,01                       | 24,80 ± 0,01    | 7,60 ± 0,02 | <i>n.d.</i>    |
| <b>S12</b> | 48,90 ± 0,02 | 8,20 ± 0,00  | <i>n.d.</i>     | 15,40 ± 0,01    | <i>n.d.</i>     | <i>n.d.</i>                    | <i>n.d.</i>                       | 22,50 ± 0,00    | <i>n.d.</i> | 5,00 ± 0,02    |
| <b>S13</b> | 43,70 ± 0,03 | 6,60 ± 0,02  | <i>n.d.</i>     | 18,60 ± 0,02    | <i>n.d.</i>     | <i>n.d.</i>                    | <i>n.d.</i>                       | 27,80 ± 0,00    | <i>n.d.</i> | 3,30 ± 0,01    |
| <b>S14</b> | 62,50 ± 0,02 | 13,10 ± 0,05 | <i>n.d.</i>     | <i>n.d.</i>     | <i>n.d.</i>     | <i>n.d.</i>                    | <i>n.d.</i>                       | 18,90 ± 0,02    | <i>n.d.</i> | 5,50 ± 0,00    |
| <b>S15</b> | 31,20 ± 0,02 | 4,60 ± 0,00  | 5,10 ± 0,00     | 12,10 ± 0,00    | 7,10 ± 0,00     | <i>n.d.</i>                    | 5,20 ± 0,02                       | 25,00 ± 0,00    | 9,70 ± 0,02 | <i>n.d.</i>    |
| <b>S16</b> | 49,00 ± 0,00 | 8,40 ± 0,02  | <i>n.d.</i>     | 17,20 ± 0,01    | <i>n.d.</i>     | <i>n.d.</i>                    | <i>n.d.</i>                       | 25,40 ± 0,00    | <i>n.d.</i> | <i>n.d.</i>    |

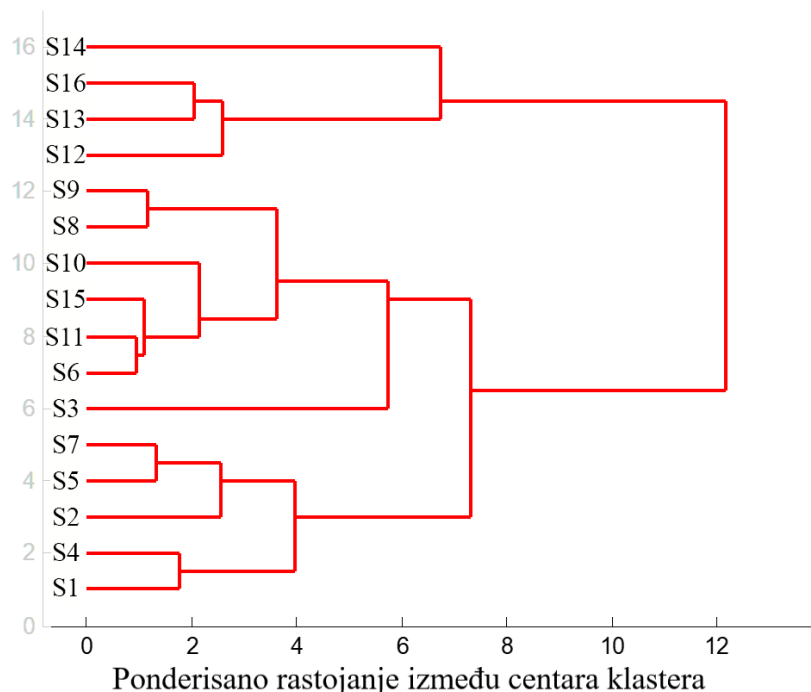
*n.d.*: nije detektovano

PCA model primenjen na kvantifikovani sadržaj masnih kiselina otkriva šest glavnih komponenti (PC1 – 52,62%, PC2 – 18,91%, PC3 – 12,11%, PC4 – 8,74%, PC5 – 4,76% i PC6 – 2,02%), zajedno objašnjavajući 99,17% ukupne varijabilnosti u skupu podataka. Grafikon rezultata je konstruisan na osnovu prve dve glavne komponente, PC1 i PC2, koje obuhvataju najveći deo varijabilnosti među podacima. Fokusirajući se na ove dve komponente, koje obuhvataju najznačajnije izvore varijabilnosti, PCA olakšava jasnije razumevanje obrazaca i odnosa svojstvenih sastavu masnih kiselina u uzorcima. Uzorci **S13** i **S16** pokazuju jasno pozicioniranje na gornjoj levoj strani grafikona rezultata (Slika 25). Na ovo razdvajanje prvenstveno utiču njihovi povišeni nivoi elaidinske kiseline (C18:1n9t) i heneikozanoične kiseline (C21). Ove masne kiseline doprinose diferencijaciji posmatranih uzoraka u ovom delu grafikona rezultata. Nasuprot tome, uzorak **S14** se pojavljuje u donjem levom kvadrantu grafikona rezultata, pozicioniran izvan Hotellingove elipse za nivo pouzdanosti od 95%. Ovaj izvanredni status se pripisuje visokim koncentracijama palmitinske kiseline (C16), stearinske kiseline (C18) i erukinske kiseline (C22:1n9), koje utiču na njeno odvajanje od drugih uzoraka. Uzorak **S3** se razlikuje u donjem desnom kvadrantu grafikona rezultata, odvojen od drugih uzoraka zbog povišenih nivoa oleinske kiseline (C18:1n9c), linolne kiseline (C18:2n6c) i *cis*-11,14-eikozadienoinske kiseline (C20:2). Ove masne kiseline igraju ključnu ulogu u definisanju obrasca razdvajanja uočenog za uzorak **S3**.



**Slika 25.** PCA zasnovana na sadržaju masnih kiselina: a) grafik 2D PC1 naspram PC2, b) loading plot PC1, c) loading plot PC2.

HCA zasnovana na sastavu masnih kiselina razlikuje dva klastera (Slika 26). Manji klaster obuhvata četiri uzorka: **S12**, **S13**, **S14** i **S16**, dok veći klaster obuhvata sve ostale uzorke. Karakteristična karakteristika četiri uzorka u manjem klasteru je odsustvo masnih kiselina kao što su oleinska kiselina (C18:1n9c), linolna kiselina (C18:2n6c), *cis*-11,14-eikozadienoinska kiselina (C20:2), *cis*-8,11,14-eikozatrienoinska kiselina (C20:3n6) i behenska kiselina (C22). Ove masne kiseline su tipično prisutne u različitim količinama u većini uzoraka, doprinoseći njihovom grupisanju u veći klaster.



**Slika 26.** Dendrogram ispitivanih uzoraka sirka na osnovu masnokiselinskog sastava.

### C. Rezultati analize bezglutenskog čajnog peciva

Nakon izdvajanja i detaljne analize superiornih genotipova za primenu u proizvodnji visokokvalitetnih prehrambenih proizvoda, za izradu čajnog peciva izabran je uzorak **S11** (Re248). Ovaj uzorak karakterisao je najviši sadržaj aminokiselina, od kojih su najzastupljenije glutaminska kiselina (2,60 g 100 g<sup>-1</sup> uzorka), leucin (1,59 g 100 g<sup>-1</sup> uzorka), alanin (1,03 g 100 g<sup>-1</sup> uzorka) i prolin (0,88 g 100 g<sup>-1</sup> uzorka) (Tabela 10). U ovom uzorku zabeležen je visok sadržaj 3-deoksiantocijanina (44,99 µg g<sup>-1</sup>), sa apigeninidinom kao glavnim jedinjenjem (12,90 µg g<sup>-1</sup>), te je zbog visoke biološke vrednosti i adekvatnog aminokiselinskog sastava zrna, a u cilju unapređenja sveukupnog kvaliteta finalnog proizvoda, izabran upravo ovaj uzorak za izradu čajnog peciva.

Valorizacija potencijala brašna sirka kao sastojka u proizvodnji bezglutenskih proizvoda izvršena je kroz analizu senzornog profila, utvrđivanjem uticaja dodatka brašna sirka na senzorne karakteristike čajnog peciva, uključujući izgled, miris, ukus, aromu i teksturu.

Ovo istraživanje je omogućilo bolje razumevanje kako dodatak brašna sirka utiče na kvalitet proizvoda u kontekstu senzorne ocene, uključujući analizu uticaja na prihvatljivost od strane potrošača. Na taj način, razjašnjen je potencijal proizvoda za uspešno tržišno pozicioniranje i dobijen je uvid u to kako dodatak brašna sirka može poboljšati kvalitet i konkurentnost bezglutenskih proizvoda.

### 5.11. Određivanje fizičkih osobina bezglutenskog čajnog peciva

Procena boje i fizičkih osobina čajnih peciva napravljenih sa različitim udelom integralnog brašna sirka, pruža uvid kako različiti nivoi dodatka sirka utiču na kvalitet finalnog proizvoda (Tabela 12).

Parametri boje su pokazali značajne varijacije među uzorcima. Konkretno, vrednosti  $L^*$  bile su najviše u kontrolnom uzorku, a najniže u uzorku sa 40% brašna sirka. Svi uzorci koji sadrže brašno sirka pokazali su značajno više vrednosti  $a^*$  i  $b^*$  što ukazuje na jače prisustvo crvenih i žutih tonova. Dobijeni rezultati eksentričnosti (engl. *eccentricity*) koja predstavlja odnos  $D1/D2$  koji je merilo odstupanja od idealno kružnog oblika, ukazali su na ujednačen kružni oblik, dok je faktor širenja (engl. *spread factor*) koji predstavlja odnos između srednje vrednosti prečnika i visine čajnog peciva imao manja odstupanja među analiziranim uzorcima. Takođe, dodatak integralnog brašna sirka nije imao značajan uticaj na promenu težine kolačića u poređenju sa kontrolom.

**Tabela 12.** Fizičke osobine ( $\bar{X} \pm SD$ ) ispitivanih uzoraka bezglutenskog čajnog peciva.

|                 | $L^*(D65)$ | $a^*(D65)$ | $b^*(D65)$ | Visina (mm) | Masa (g)  | Eksentričnost | Faktor širenja |
|-----------------|------------|------------|------------|-------------|-----------|---------------|----------------|
| <b>Kontrola</b> | 73,18±0,62 | 0,31±0,41  | 34,59±0,76 | 5,54±0,19   | 7,55±0,05 | 1,01±0,01     | 7,74±0,28      |
| <b>BC20</b>     | 51,78±1,23 | 8,38±0,33  | 17,52±0,43 | 5,57±0,08   | 7,49±0,06 | 1,00±0,02     | 7,56±0,06      |
| <b>BC40</b>     | 46,78±0,96 | 9,91±0,37  | 14,92±0,26 | 5,55±0,17   | 7,52±0,17 | 1,00±0,01     | 7,83±0,24      |

### 5.12. Određivanje teksturnih svojstava bezglutenskog čajnog peciva

Zajedno sa fizičkim osobinama, teksturna svojstva (tvrdoća i lomljivost), jedni su od značajnijih parametara kvaliteta čajnog peciva. Kako u toku transporta i skladištenja može doći do lomljenja čajnog peciva, tvrdoća mora biti dovoljno velika, ali sa druge strane odgovarajuća za konzumiranje. Tvrdoća čajnog peciva sa optimalnom količinom šećera i masti treba da bude između 2000 g i 3000 g (Mitevski, 2023). Na varijacije ovog svojstva u velikoj meri utiče sastav samog čajnog peciva, odnosno udeo lipida, proteina i skroba u samom keksu.

Rezultati teksturnih svojstava proizvedenog čajnog peciva prikazani su u Tabeli 13, i ukazuju da dodatak integralnog brašna sirka nije imao statistički značajan uticaj na promenu tvrdoće i lomljivosti kontrolnog proizvoda ( $p < 0,05$ ).

**Tabela 13.** Tvrdoća i lomljivost ( $\bar{X} \pm SD$ ) ispitivanih uzoraka bezglutenskog čajnog peciva.

| Uzorak          | Tvrdoća (g)                 | Lomljivost (mm)         |
|-----------------|-----------------------------|-------------------------|
| <b>Kontrola</b> | 2145,76±81,50 <sup>a</sup>  | 36,52±0,20 <sup>a</sup> |
| <b>BC20</b>     | 2373,60±157,95 <sup>a</sup> | 36,67±0,20 <sup>a</sup> |
| <b>BC40</b>     | 2340,32±190,63 <sup>a</sup> | 36,56±0,31 <sup>a</sup> |



#### 5.14. Određivanje hemijskog sastava bezglutenskog čajnog peciva

Rezultati hemijskog sastava i nutritivne vrednosti čajnih peciva prikazani su u Tabeli 14. Svi ispitivani uzorci su imali sadržaj masti od približno 20%, ali je dodatak od 40% brašna sirka imao statistički značajan uticaj ( $p < 0,05$ ) na promenu sadržaja masti. Sadržaj proteina u ispitivanim uzorcima, varirao je sa dodatkom integralnog brašna sirka što ukazuje da ovaj dodatak ima značajan uticaj ( $p < 0,05$ ) na promenu i povećanje nutritivne vrednosti u odnosu na kontrolni uzorak. Takođe, došlo je do značajne promene ( $p < 0,05$ ) u sadržaj ugljenih hidrata u uzorcima sa dodatkom brašna sirka u odnosu na kontrolni uzorak. Najizraženije promene u ispitivanim uzorcima uočavaju se u sadržaju pepela. Najveći sadržaj pepela izmeren u uzorku sa najvišim sadržajem brašna sirka (0,70%), a između sva tri uzorka postoji statistički značajna razlika ( $p < 0,05$ ) u dobijenim rezultatima. Ovi rezultati jasno ukazuju na povećanje sadržaja mineralnih komponenata u uzorcima sa povećanjem udela brašna sirka. Primetno je da je sadržaj vlage varirao sa povećanjem udela integralnog brašna sirka od 4,21% (kontrola) do 4,02% (40% sirka), što se može povezati sa kapacitetom vezivanja vode.

**Tabela 14.** Hemijski sastav ( $\bar{X} \pm SD$ ) i energetska vrednost ispitivanih uzoraka čajnog peciva.

|                 | Vlaga                  | Pepeo                  | Mast                    | Proteini               | Ugljeni hidrati         | kcal 100g <sup>-1</sup> | kJ 100g <sup>-1</sup> |
|-----------------|------------------------|------------------------|-------------------------|------------------------|-------------------------|-------------------------|-----------------------|
| <b>Kontrola</b> | 4,21±0,04 <sup>a</sup> | 0,44±0,01 <sup>a</sup> | 20,02±0,09 <sup>a</sup> | 3,52±0,02 <sup>a</sup> | 71,81±0,11 <sup>a</sup> | 481,47                  | 2014,47               |
| <b>BC20</b>     | 4,12±0,07 <sup>a</sup> | 0,57±0,01 <sup>b</sup> | 20,23±0,13 <sup>a</sup> | 4,41±0,02 <sup>b</sup> | 70,68±0,20 <sup>b</sup> | 482,37                  | 2018,24               |
| <b>BC40</b>     | 4,02±0,02 <sup>a</sup> | 0,70±0,00 <sup>c</sup> | 20,96±0,08 <sup>b</sup> | 4,24±0,02 <sup>c</sup> | 70,08±0,09 <sup>b</sup> | 485,94                  | 2033,17               |

#### 5.15. Kvalitativno i kvantitativno ispitivanje polifenolnih jedinjenja i aminokiselinskog sastava čajnih peciva

Za proizvodnju čajnog peciva izabran je uzorak **S11** zbog visoke biološke vrednosti i adekvatnog aminokiselinskog sastava zrna, a u cilju unapređenja sveukupnog kvaliteta finalnog proizvoda. Ovakav odabir rezultovao je povećanjem biološke vrednosti čajnog peciva, naročito u pogledu sadržaja polifenolnih jedinjenja uzoraka sa dodatkom integralnog brašna sirka.

U dobijenim rezultatima (Tabela 15) jasno se uočava povećanje sadržaja pojedinih polifenolnih jedinjenja, što je u direktnoj korelaciji sa povećanjem udela brašna sirka. Takođe, u odnosu na kontrolni proizvod, u uzorcima sa dodatkom integralnog brašna sirka, primećeno je prisustvo četiri polifenolna jedinjenja koja nisu prisutna u kontrolnom uzorku, što naglašava potencijal sirka kao korisnog sastojka u kreiranju bezglutenskih proizvoda sa dodatkom vrednošću.

Promena sadržaja hlorogenske, sinapinske i ferulne kiseline ne pokazuju statistički značajne razlike u ispitivanim uzorcima. Ipak, statistički značajne razlike uočavaju se u sadržaju *p*-hidroksibenzojeve i galne kiseline sa dodatkom integralnog brašna sirka. Takođe, sadržaj luteolina, apigenina, *p*-kumarinske i cimetne kiseline pokazuju statistički značajnu razliku u odnosu na kontrolu, što ukazuje na povećanje biološke vrednosti čajnog peciva sa dodatkom integralnog brašna sirka. Statističkom analizom, potvrđeno je da dodatak integralnog brašna sirka značajno utiče na metabolički profil analiziranih uzoraka, pri čemu uzorak BC40 generalno pokazuje statistički značajnije promene u odnosu na kontrolni uzorak ( $p < 0,05$ ).

**Tabela 15.** Sadržaj polifenolnih jedinjenja ( $\bar{X} \pm SD$ ) u ispitivanim uzorcima bezglutenskog čajnog peciva (mg 100 g<sup>-1</sup> uzorka).

|                                    | Kontrola    | BC20      | BC40      |
|------------------------------------|-------------|-----------|-----------|
| <b>p-hidroksibenzoeva kiselina</b> | 0,27±0,00   | 0,35±0,00 | 0,43±0,00 |
| <b>galna kiselina</b>              | 1,01±0,01   | 1,33±0,03 | 1,53±0,00 |
| <b>protokatehinska kiselina</b>    | 0,20±0,00   | 0,23±0,00 | 0,33±0,00 |
| <b>hlorogenska kiselina</b>        | 0,23±0,00   | 0,23±0,00 | 0,23±0,00 |
| <b>kafena kiselina</b>             | 0,07±0,00   | 0,59±0,00 | 1,33±0,03 |
| <b>vanilinska kiselina</b>         | 0,05±0,00   | 0,28±0,00 | 0,78±0,00 |
| <b>siringinska kiselina</b>        | 0,33±0,00   | 0,32±0,00 | 0,36±0,00 |
| <b>sinapinska kiselina</b>         | 0,15±0,00   | 0,16±0,00 | 0,15±0,00 |
| <b>p-kumarinska kiselina</b>       | <i>n.d.</i> | 0,04±0,00 | 0,28±0,00 |
| <b>cimetna kiselina</b>            | <i>n.d.</i> | 0,05±0,00 | 0,21±0,00 |
| <b>ferulinska kiselina</b>         | 0,43±0,00   | 0,47±0,03 | 0,49±0,00 |
| <b>luteolin</b>                    | 0,05±0,01   | 0,16±0,00 | 0,31±0,00 |
| <b>naringin</b>                    | <i>n.d.</i> | 0,04±0,00 | 0,09±0,00 |
| <b>apigenin</b>                    | <i>n.d.</i> | 0,05±0,00 | 0,09±0,01 |

*n.d.*: nije detektovano

Budući da su žita deficitarna u pojedinim esencijalnim aminokiselinama, praćenje sadržaja aminokiselina u finalnom proizvodu može biti od velike važnosti i sa zdravstvenog aspekta i u kontekstu senzornog profila. Kod pojedinih aminokiselina došlo je do promene sadržaja, ipak, analiza varijanse pokazala je da sa dodatkom integralnog brašna sirka ne dolazi do statistički značajne razlike u sadržaju pojedinačnih aminokiselina ( $p < 0,05$ ).

**Tabela 16.** Sadržaj aminokiselina ( $\bar{X} \pm SD$ ) u ispitivanim uzorcima bezglutenskog čajnog peciva (g 100 g<sup>-1</sup> uzorka).

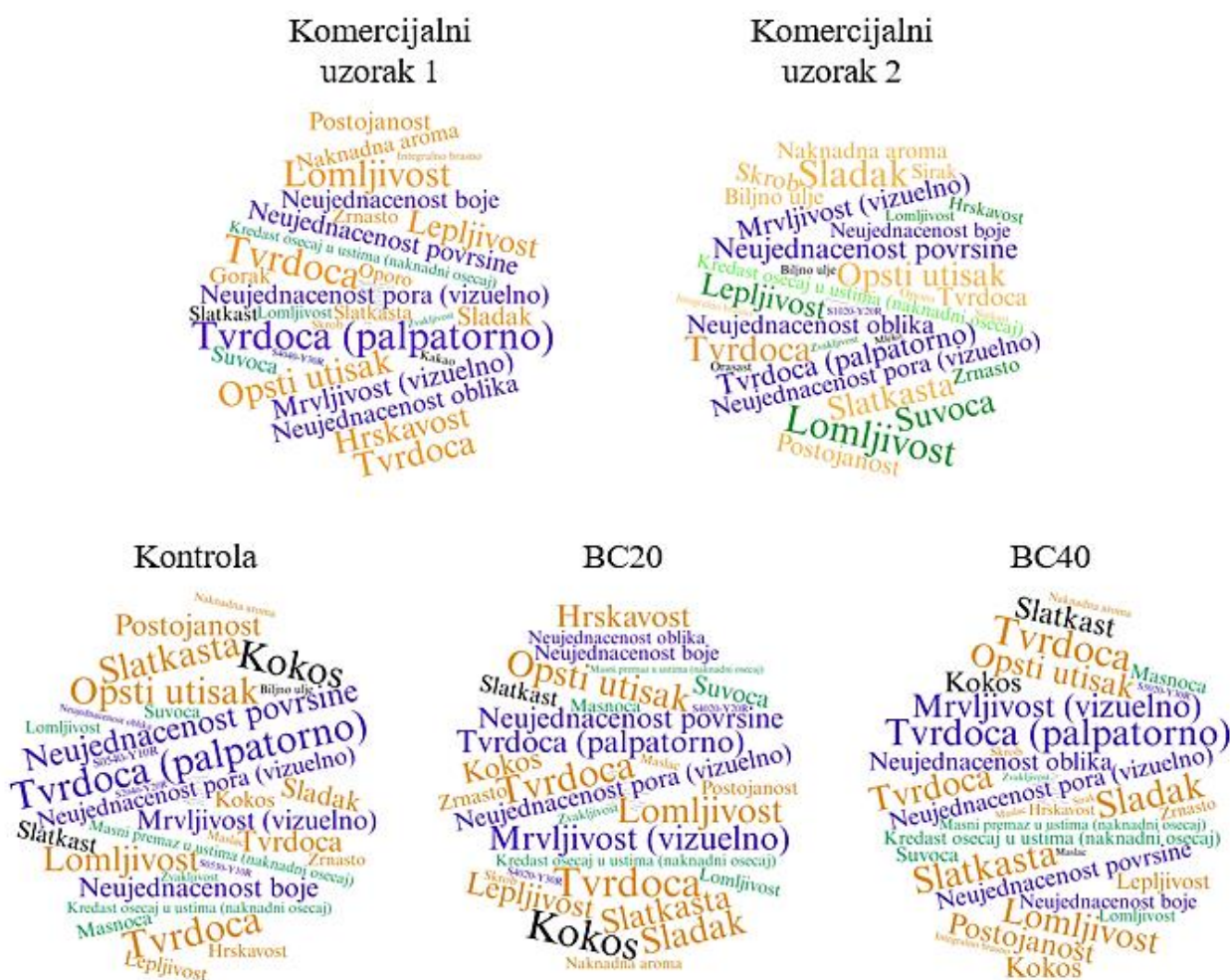
|            | Kontrola    | BC20        | BC40        |
|------------|-------------|-------------|-------------|
| <b>Asp</b> | 0,34±0,01   | 0,4±0,01    | 0,38±0,00   |
| <b>Thr</b> | 0,13±0,00   | 0,15±0,00   | 0,15±0,00   |
| <b>Ser</b> | 0,2±0,01    | 0,24±0,01   | 0,26±0,01   |
| <b>Glu</b> | 0,69±0,02   | 0,85±0,02   | 0,86±0,00   |
| <b>Pro</b> | 0,17±0,01   | 0,22±0,00   | 0,25±0,00   |
| <b>Gly</b> | 0,17±0,00   | 0,18±0,00   | 0,17±0,00   |
| <b>Ala</b> | 0,25±0,02   | 0,32±0,01   | 0,32±0,01   |
| <b>Cys</b> | <i>n.d.</i> | <i>n.d.</i> | <i>n.d.</i> |
| <b>Val</b> | 0,21±0,00   | 0,26±0,00   | 0,25±0,01   |
| <b>Met</b> | 0,06±0,01   | 0,08±0,00   | 0,09±0,01   |
| <b>Ile</b> | 0,12±0,00   | 0,16±0,00   | 0,17±0,00   |
| <b>Leu</b> | 0,3±0,00    | 0,41±0,01   | 0,45±0,00   |
| <b>Tyr</b> | 0,04±0,01   | 0,09±0,00   | 0,07±0,00   |
| <b>Phe</b> | 0,16±0,00   | 0,21±0,00   | 0,21±0,00   |
| <b>His</b> | 0,06±0,00   | 0,08±0,00   | 0,08±0,01   |
| <b>Lys</b> | 0,12±0,01   | 0,13±0,00   | 0,15±0,00   |
| <b>Arg</b> | 0,28±0,00   | 0,37±0,01   | 0,39±0,00   |
| <b>Σ</b>   | 3,3         | 4,15        | 4,25        |

*n.d.*: nije detektovano

## 5.15. Senzorna analiza bezglutenskog čajnog peciva

Senzorna analiza čajnog peciva sa dodatkom različitog udela integralnog brašna sirka (20% i 40%) obavljena je RATA (*Rate-All-That-Apply*) metodologijom koja je pružila uvid u karakteristike proizvoda na osnovu senzornih atributa. Dobijeni rezultati obrađeni su kroz različite pristupe i predstavljeni tako da zajedno daju uvid o uticaju dodatka integralnog brašna sirka na senzorni profil čajnog peciva. Dobijeni rezultati senzornog ispitivanja, prikazani su kroz *Word cloud*, Venov dijagram i pauk dijagram, što olakšava identifikaciju ključnih obrazaca i razliku između proizvoda. Biplot u dvema dimenzijama omogućio je vizuelno prikazivanje odnosa između proizvoda i atributa, što pomaže u identifikaciji ključnih karakteristika i uočavanju razlika među ocenjivanim uzorcima.

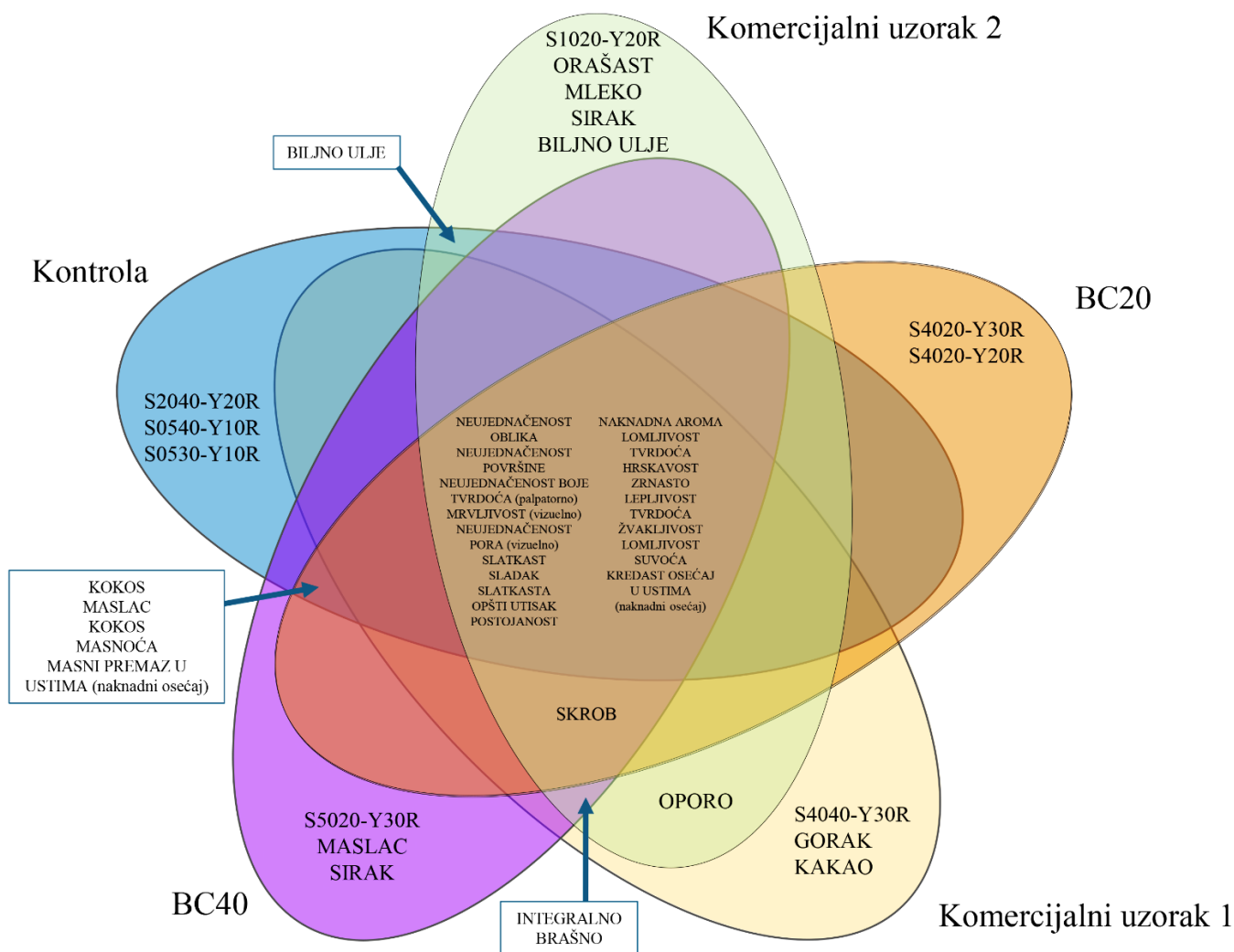
Na Slici 27 prikazani su *word cloud*-ovi koji vizuelno prikazuju podatke, omogućavaju brzo uočavanje ključnih atributa i njihovih učestalosti unutar analiziranih uzoraka. Analizom različitih atributa, primetne su dominantne karakteristike svakog uzorka, što olakšava identifikaciju razlika i sličnosti među njima. Korišćenje *word cloud*-a pruža intuitivan način za predstavljanje složenih podataka, olakšavaju interpretaciju i komunikaciju među istraživačima i proizvodnim timovima. U ovom prikazu, veličina reči određena je fontovima: veći font reči predstavlja attribute koji se učestalo ponavljaju, srednji predstavlja umerena pojavljivanja, dok manji označava one attribute koji se ređe pojavljuju.



**Slika 27.** *Word cloud* prikazi senzornih profila uzoraka čajnog peciva na osnovu učestalosti atributa: Komerzijalni uzorak 1; Komerzijalni uzorak 2; Kontrola; **BC20** - Bezglutensko čajno pecivo sa 20% brašna sirka; **BC40** - Bezglutensko čajno pecivo sa 40% brašna sirka.

Na osnovu analize *word cloud*-a, mogu se izvući značajni zaključci o ispitivanim uzorcima čajnog peciva. Atributi koji pripadaju grupi teksturnih osobina, kao što su tvrdoća, neujednačenost površine, tvrdoća (palpatorno) i mrvljivost se ističu velikim fontovima, što ukazuje na njihovu visoku učestalost i ključnu ulogu u definisanju senzornih karakteristika svih ispitivanih uzoraka čajnog peciva. Atributi vezani za miris i aromu, naročito onih koji se odnose na note kokosa (kokosovog ulja), često pominjani u novokreiranim uzorcima, ukazuju na to da dodatak kokosovog ulja značajno razlikuje ove proizvode od komercijalno dostupnih. Dodatno, atributi poput slatkaste arome, suvoće, postojanost arome i kredastog naknadnog osećaja pokazuju umerenu učestalost, što implicira značajnu, ali ne dominantnu ulogu u opisu uzoraka. Komercijalni uzorci, takođe, imaju umerenu učestalost atributa koji karakterišu gorak ukust i oporost ovih uzoraka. Nasuprot tome, reči koje označavaju nijansu boje (S2040-Y20R; S1020-Y20R; S5020-Y30R; S4040-Y30R) pojavljuju se ređe, što može sugerisati manju relevantnost ili specifičnost za uzorak čajnog peciva koju predstavljaju.

Dobijeni podaci na Venovom dijagramu (Slika 28) pokazuju je da je veći broj atributa visoke i srednje frekvencije zajednički za testirane uzorke, dok su ih određene jedinstvene osobine razlikovale. Ova analiza, u kombinaciji sa prvim prikazom rezultata pomoću *word cloud*-a pružila je vredne informacije o senzornim karakteristikama koje se preklapaju. Venovim dijagramom predstavljeni su senzorni atributi koji su jedinstveni i zajednički za ispitivane uzorke. Ovim načinom prikazivanja moguće je jasno uočiti sličnosti i razlike među senzornim profilima uzoraka keksa. Preklapanja unutar Venovog dijagrama pokazuju zajedničke attribute-jedinstven senzorni profil za sve uzorke čajnog peciva, a područja koja se ne preklapaju oslikavaju attribute jedinstvene za pojedine uzorke čajnog peciva. Sve navedene varijable ukazuju na to da uzorci čajnog peciva imaju različita, ali međusobno povezana svojstva koja doprinose njihovom ukupnm kvalitetu i performansama. Iako se vrednosti varijabli razlikuju među uzorcima, zajednička prisutnost ovih varijabli sugerise da svi uzorci zadovoljavaju određene standarde kvaliteta, dok specifične vrednosti omogućavaju diferencijaciju između uzoraka. Uzimajući ovo u obzir, sve uzorke sa manjim ili većom učestalošću iskazanom od strane panela, karakteriše u pogledu izgleda neujednačenost oblika i površine, slatkasti miris, kao i postojanost i slatkasta aroma. Ono što izdvaja uzorke sa dodatkom brašna sirka (**BC20** i **BC40**) u odnosu na kontrolni su nijanse boje i nota skrobne arome, ali i izraženo prisustvo arome sirka i miris maslaca kod uzorka **BC40** koji ima najveći udeo ovog brašna. Komercijalni uzorak 1 percipiran je drugačije od strane panela u odnosu na nijansu boje, ali i značajnim prisustvom gorkog ukusa i kako arome. Za razliku od njega, izdvajanje komercijalnog uzorak 2, pored nijanse boje, ostvareno je i na osnovu orašastog, mlečnog i mirisa na žita kao i prisutne arome biljnog ulja. Oporost se takođe identifikovala kao zajednički atribut kod oba komercijalna bezglutenska proizvoda.

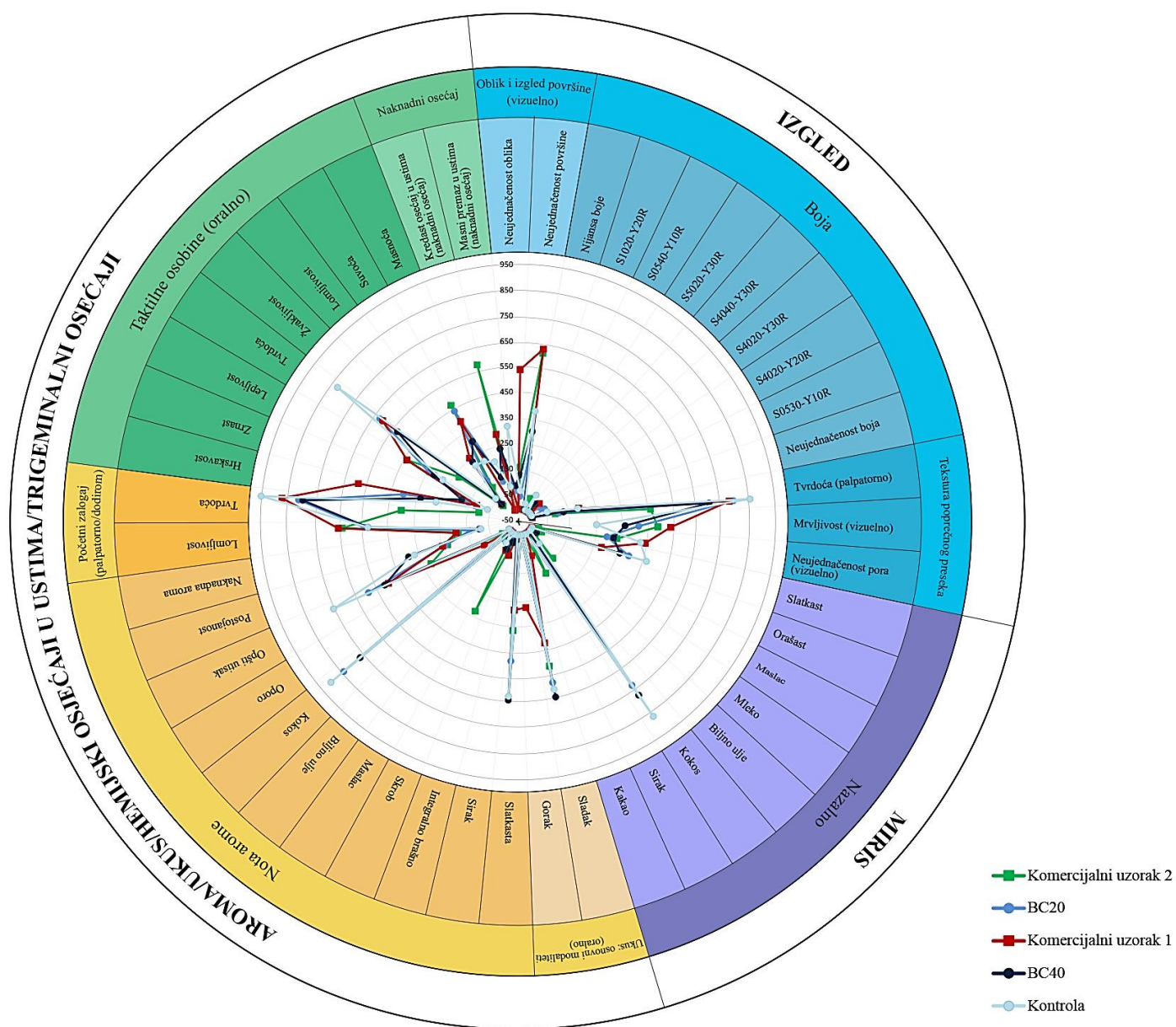


**Slika 28.** Vennov dijagram povezan sa atributima koje je odabralo 30% panela za opis senzornih profila čajnog peciva: Komercijalni uzorak 1; Komercijalni uzorak 2; Kontrola; **BC20** - Bezglutensko čajno pecivo sa 20% brašna sirka; **BC40** - Bezglutensko čajno pecivo sa 40% brašna sirka.

U cilju što jasnijeg prikazivanja intenziteta i frekvencija pojedinačnih atributa, napravljen je paukov grafik, prikazan na Slici 29. Ovakvim prikazom moguće je efikasno sagledavanje složenih interakcija senzornih atributa, uz praćenje intenziteta pojedinačnih atributa i istovremeno poređenje senzornih profila svih ispitivanih uzoraka.

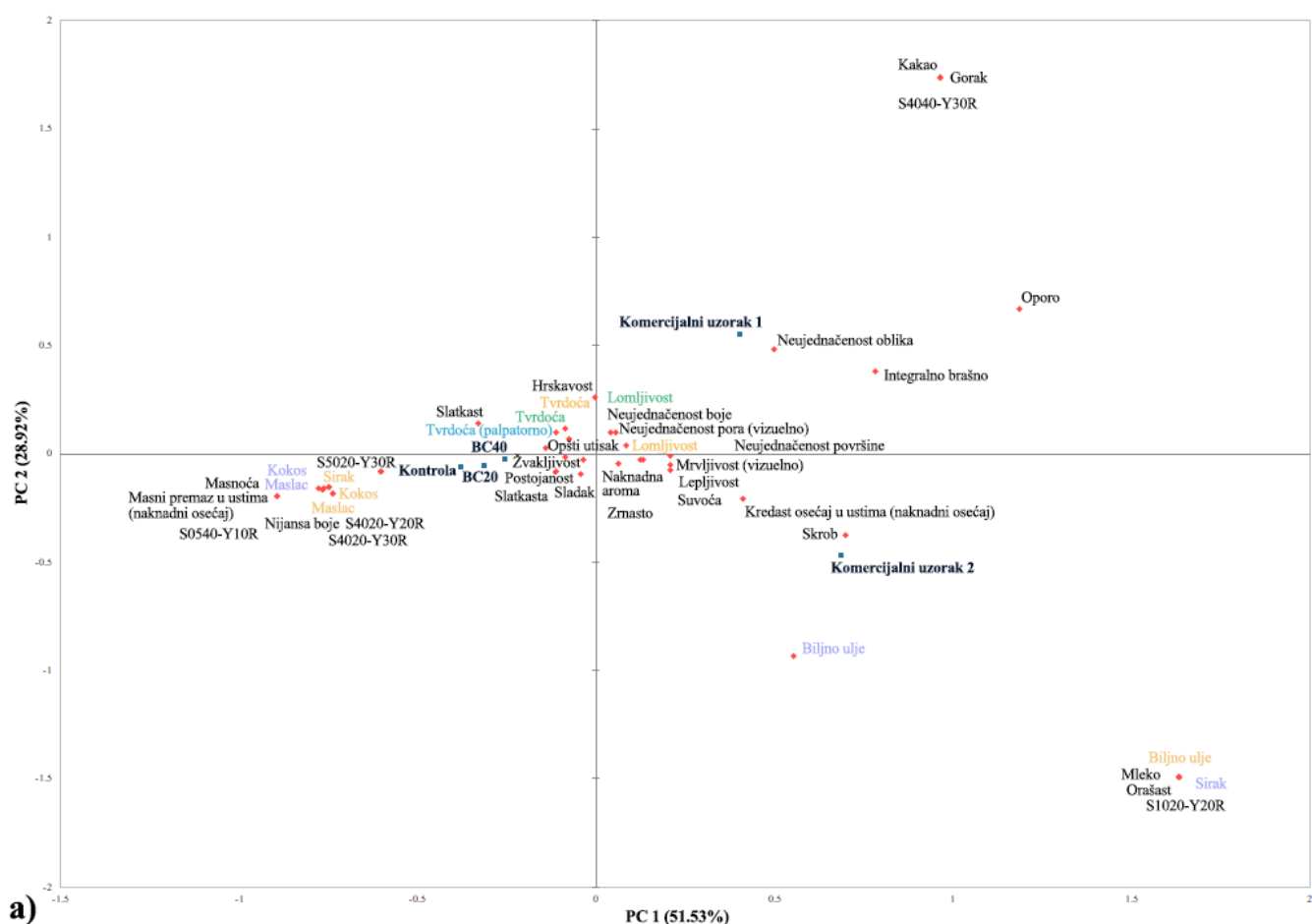
Pored atributa koji pozitivno doprinose senzornom profilu i dopadljivosti uzoraka, ocenjeni su i parametri nepoželjni za proizvode ove vrste kao što su gorak ukus i oporost. Gorak ukus karakterisao je komercijalni uzorak 1, dok je oporost primećena kao zajednički atribut kod oba komercijalna bezglutenska proizvoda. Takođe, komercijalno dostupne bezglutenske proizvode su karakterisali značajni vizuelni i teksturni defekti što ukazuje na lošije performanse u senzornim atributima. Nijanse boja međusobno su razlikovale sve uzorke, ali se na prikazanom dijagramu može dobiti potpuni pregled, budući da su intenziteti boja uzeti u obzir. Vrednosti teksturnih atributa i atributa vezanih za miris bile su različite među uzorcima. Dodavanje 20% brašna sirka rezultiralo je poboljšanjima i tekture i mirisa u poređenju sa kontrolnim uzorkom. Nasuprot tome, uzorci čajnog peciva sa 20% brašna sirka su se dobro pokazali, ali su imali blagi pad intenziteta slatkaste arome. Note povezane sa aromom i mirisom kokosa, okarakterisane su kao pozitivno svojstvo, nisu primećene u komercijalnim bezglutenskim proizvodima.

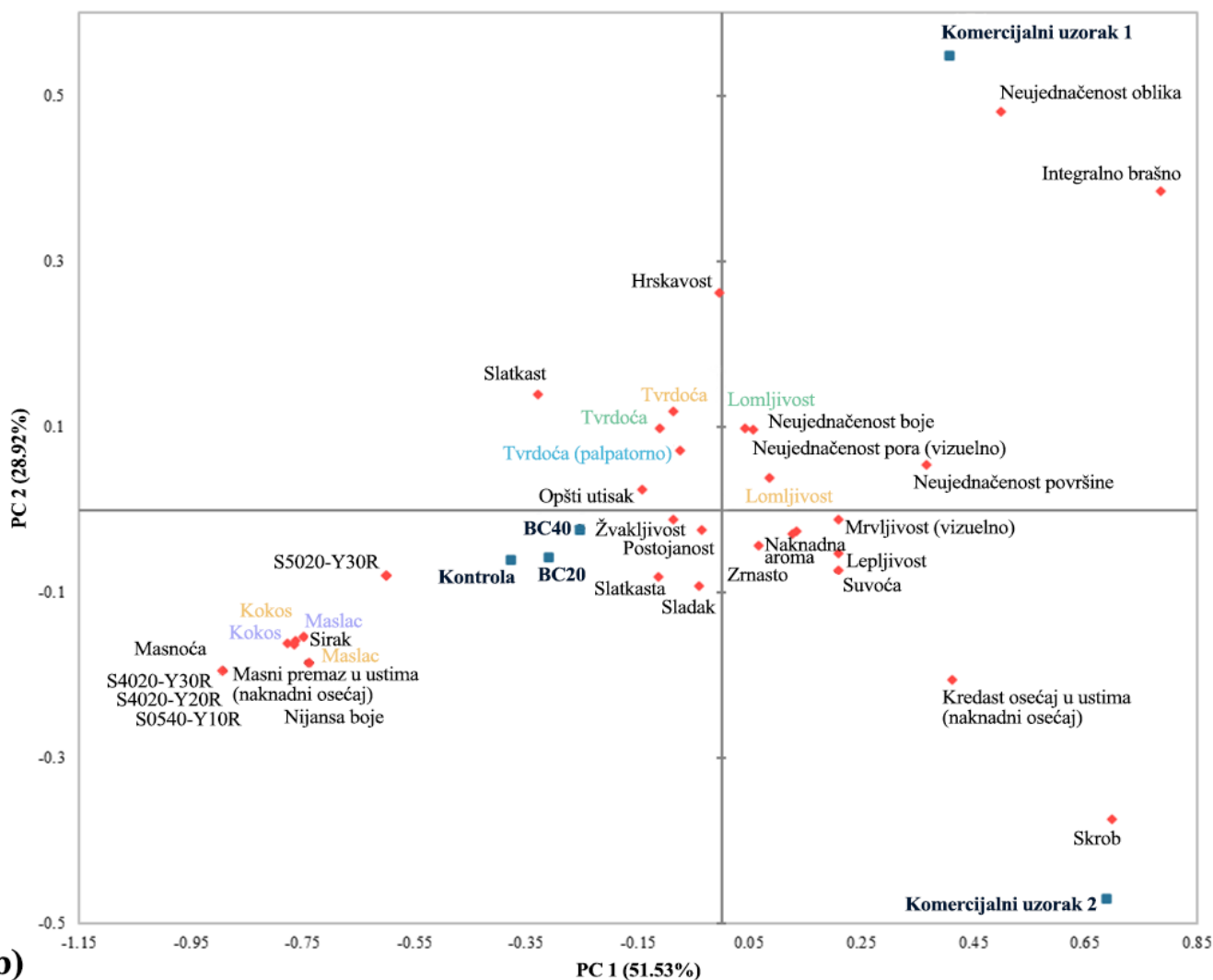




**Slika 29.** Paukov grafik koji prikazuje intenzitet i frekvencije pojedinačnih atributa za uzorke čajnog peciva. Komercijalni uzorak 1; Komercijalni uzorak 2; Kontrola; **BC20** - Bezglutensko čajno pecivo sa 20% brašna sirka; **BC40** - Bezglutensko čajno pecivo sa 40% brašna sirka.

Primena RATA metodologije u oceni čajnog peciva omogućila je detaljnu analizu i profilisanje proizvoda na osnovu različitih senzornih atributa i razumevanje kako različiti atributi utiču na ukupni kvalitet čajnog peciva, što omogućava optimizaciju proizvodnih procesa za postizanje željenih senzornih karakteristika. Kroz analizu RATA podataka identifikovane su ključne karakteristike bezglutenskog čajnog peciva, što je omogućilo razlikovanje uzoraka putem vizualizacije u biplotu sa glavnim komponentama PC1 i PC2 (Slika 30). Rezultati analize pokazuju da dve glavne komponente (PC1 i PC2) zajedno objašnjavaju 80,45% ukupne varijanse podataka, implicirajući da su najvažniji atributi i uzorci značajno grupisani oko ovih faktora. Analiza glavnih komponenti ( $p < 0,05$ ) otkriva da prva faktorska komponenta (PC1) objašnjava 51,53% varijanse, dok druga faktorska komponenta (PC2) doprinosi sa 28,92%, čime se uspešno obuhvata ukupna varijansa podataka u posmatranom setu uzoraka i varijabli.





b)

**Slika 30.** a) PCA analiza za uzorke čajnog peciva. **297** - Komercijalni uzorak 2; **451** - Komercijalni uzorak 1; **835** - Kontrola; **329** - Bezglutensko čajno pecivo sa 20% brašna sirka; **641** - Bezglutensko čajno pecivo sa 40% brašna sirka; b) bliži prikaz PCA analize.

Neujednačenost oblika i površine su visoko povezani sa pozitivnim vrednostima PC1 komponente. Proizvodi sa visokom neujednačenošću oblika i površine su locirani na pozitivnom delu PC1, što ukazuje na vizuelne nesavršenosti. Slatkasta aroma i hrskavost povezani su sa negativnim vrednostima PC1 i PC2. Pozitivne karakteristike u pogledu slatkaste arome i hrskavosti su prisutne kod uzoraka koji su bliži centru biplota, dok su slabije karakteristike prisutne kod uzoraka u pozitivnom delu PC1 komponente. Gorki ukus i oporost povezani su sa pozitivnim vrednostima PC2 komponente. Uzorci sa višim vrednostima u ovom atributu često imaju izraženiji gorki ukus, što može uticati na ukupnu percepciju kvaliteta čajnog peciva.

Komercijalni uzorak 1 (0.407, 0.549) lociran je u pozitivnom delu PC1 i PC2 komponente, i ukazuje na visoke rezultate u pogledu hrskavosti i gorčine. Takođe, pokazuje visoku neujednačenost u pogledu oblika i površine.

Komercijalni uzorak 2 (0.688, -0.470) nalazi se u pozitivnom kvadrantu PC1 komponente, što ukazuje na visoku neujednačenost oblika i površine. Negativna vrednost na PC2 komponente sugerise slabije karakteristike u pogledu slatkaste arome i hrskavosti. Ovaj uzorak pokazuje značajne vizuelne nesavršenosti i slabije rezultate u teksturnim atributima, što može uticati na ukupno iskustvo pri konzumaciji.



Bezglutensko čajno pecivo sa 20% brašna sirka (**BC20**) (-0.311, -0.058) lociran je blizu centra biplota, što sugerise uravnotežene karakteristike u pogledu neujednačenosti oblika i površine. Ovaj uzorak pokazuje bolji rezultat u pogledu slatkaste arome i hrskavosti, sa niskim vrednostima na PC2 komponente. Ovakvi rezultati sugerisu da dodatak 20% integralnog brašna sirka poboljšava rezultate u pogledu teksture i arome, što čini ovaj uzorak prilično izbalansiranim.

Bezglutensko čajno pecivo sa 40% brašna sirka (**BC40**) (-0.253, -0.025) takođe se nalazi blizu centra biplota, sa nešto višim vrednostima u pogledu slatkaste arome i hrskavosti. Pozitivne vrednosti na PC1 komponente sugerisu nešto bolji vizuelni kvalitet u poređenju sa uzorkom 297. Uzorak sa dodatkom 40% integralnog brašna sirka ima dobar senzorni profil, ali blagi pad slatkaste arome može imati uticaj na lošiju ukupnu prihvatljivost.

Kontrola (-0.376, -0.061) se nalazi u negativnom delu PC1 i PC2 komponente, što ukazuje na izbalansirane rezultate u pogledu neujednačenosti boje i teksture. Ovaj uzorak pokazuje optimalne rezultate u pogledu slatkaste arome i hrskavosti, pa se može posmatrati kao referentni uzorak za kvalitet sa optimalnim odnosom vizuelnog kvaliteta, teksture i ukusa, postavljajući visok standard za izvrsnost proizvoda.

Na osnovu analize podataka dobijenih senzornom ocenom, uz primenu RATA metode, dodatak 20% ili 40% integralnog brašna sirka značajno poboljšava teksturna i aromatska svojstva proizvoda. Uzorci **BC20** i **BC40**, koji sadrže ovaj dodatak, pokazali su izbalansirane karakteristike u pogledu slatkaste arome i hrskavosti. Nasuprot tome, komercijalne uzorke, odlikovala je visoka neujednačenost oblika i površine, kao i izražen gorki ukus, što ukazuje na potrebu za daljim optimizacijama u formulaciji kako bi se postigla bolja senzorna svojstva. Kontrolni uzorak istakao se kao referentna tačka sa optimalnim odnosom vizuelnog kvaliteta, teksture i arome, istovremeno ostavljajući dobar senzorni prostor koji naglašava potencijal sirka kao korisnog sastojka u kreiranju kvalitetnih bezglutenskih uzoraka čajnog peciva.

## 6. ZAKLJUČAK

U svetlu sve izraženijih klimatskih promena, značaj istraživanja i unapređenja manje gajenih biljnih vrsta kao što je sirak (*Sorghum bicolor* L. Moench) postaje sve očigledniji. Sirak je u značajnoj meri tolerantan prema suši i visokim temperaturama, što ga čini idealnim za područja izložena klimatskim ekstremima. Njegova sposobnost da raste u sušnim i toplim uslovima omogućava stabilan izvor hrane u promenljivim klimatskim uslovima.

Ispitivanje sirka u različitim agroekološkim uslovima može otkriti nove mogućnosti za unapređenje, optimizaciju agronomskih karakteristika i proširenje uzgoja ove biljne vrste na globalnom nivou. Podizanjem svesti o značajnosti uvođenja sirka, i utvrđivanjem nutritivnog potencijala, stvaraju se uslovi za njegovu eksploataciju uz obezbeđivanje održivog izvora hrane. Ovo bezglutensko žito, pogodno je za osobe sa celijakijom ili intolerancijom na gluten. Pored toga, sirak je bogat bioaktivnim komponentama, uključujući polifenole, vlakna, vitamine i minerale, koji utiču na sveopšte zdravlje potrošača.

Na osnovu izvršenih ispitivanja i rezultata prikazanih u disertaciji može se zaključiti:

1. Analizirane uzorke kolekcije Instituta za ratarstvo i povrtarstvo u Novom Sadu, Instituta od nacionalnog značaja za Republiku Srbiju karakteriše sadržaj ulja u rasponu od 1,6% do 6,6%, sadržaj proteina od prosečno 19,8%, sadržaj pepela u rasponu od 1,2% do 3,6%, i sadržaj skroba od 57,1% do 93,3% apsolutno suve mase.
2. Ukupni sadržaj polifenola u ispitivanim genotipovima sirka kreće se između 0,6 g kg<sup>-1</sup> i 11,3 g kg<sup>-1</sup> (izraženo kao GAE) u metanolnim ekstraktima i 1,1 g kg<sup>-1</sup> i 17,1 g kg<sup>-1</sup> (izraženo kao GAE) u acetonskim ekstraktima.
3. DPPH test primarno iskorišćen za procenu antioksidativne aktivnosti uzoraka cele kolekcije, pri primenjenoj koncentraciji, pokazao je najmanju sposobnost uklanjanja slobodnih radikala od 25,6% neutralizacije, dok je najveća sposobnost 90,4% neutralizacije DPPH radikala.
4. Na osnovu ulaznih promenljivih (TP MeOH, TT MeOH, TF MeOH, TA MeOH, TP A, TT A i Pro A), primenom veštačke neuronske mreže (ANN), moguće je kreirati dobru sposobnost generalizacije podataka i predviđanja antioksidativnog potencijala zrna sirka. Optimalni model je izgrađen sa 12 neurona u skrivenom sloju unutar mreže (sa sedam ulaza i jednim izlazom), koji je dostigao koeficijent determinacije  $r^2$  od 0,969 i nisku vrednost sume kvadrata razlika od 2,403.
5. Kao rezultat istraživanja nutritivnog kvaliteta, iz analizirane kolekcije identifikovano je i selektovano šesnaest genotipova sirka koji pokazuju najveći potencijal za dalju primenu u razvoju visokokvalitetnih prehrambenih proizvoda. Ovi genotipovi predstavljaju značajan resurs za unapređenje nutritivnog profila i tehnoloških svojstava proizvoda na bazi sirka.
6. Kvalitativnom i kvantitativnom HPLC analizom utvrđeno je da su polifenolna jedinjenja: luteolinidin, apigeninidin, apigeninidin glukozid i 5-metoksiluteolinidin najzastupljeniji 3-deoksiantocijanini u ispitivanim genotipovima visokog potencijala za upotrebu u proizvodnji hrane. Najveća količina 3-deoksiantocijanina zabeležen je u uzorcima **S8** i **S11**, gde je apigeninidin uočen kao glavno jedinjenje. Najmanja količina 3-deoksiantocijanina određena je u uzorku **S10**, sa malim količinama derivata cijanidina i 7-metoksiapigeninidina.
7. Najveći ukupni sadržaj aminokiselina detektovan je u uzorcima **S11** i **S16** (13,74 g 100 g<sup>-1</sup> i 13,06 g 100 g<sup>-1</sup> uzorka). Nasuprot tome, uzorci **S2** (9,64 g 100 g<sup>-1</sup> uzorka) i **S8** (9,66 g 100 g<sup>-1</sup> uzorka) imali su najniži kvantifikovani sadržaj aminokiselina. Uzorak **S14** karakteriše specifičan profil aminokiselina sa povišenim količinama glutaminske kiseline, prolina,

- metionina, izoleucina, leucina i fenilalanina, ali smanjene količine glicina, lizina i arginina u poređenju sa drugim uzorcima.
8. Kvalitativnom i kvantitativnom analizom, u uzorku **S3** detektovano je 10 ispitivanih masnih kiselina, dok je najmanja zastupljenost ispitivanih masnih kiselina određen u uzorcima **S14** i **S16**. Najdominantnije masne kiseline u ispitivanim uzorcima su palmitinska (zastupljenost od 22,0% do 62,5%) i heneikozilinska (zastupljenost od 18,9% do 28,6%). Zabeležen je značajan sadržaj elaidinske kiseline u svim ispitivanim uzorcima, osim u uzorku **S14**. *Cis*-11,14-eikozadienoinska kiselina detektovana samo u uzorcima **S1**, **S3** i **S4** sa udelom od 6,4%, 6,9% i 5,1%, respektivno.
  9. Uključivanje sirka u ishranu može značajno doprineti zadovoljenju dnevnih potreba za pojedinim mineralima, budući da su se ispitivani genotipovi pokazali kao značajan izvor fosfora (P), mangana (Mn), gvožđa (Fe), bakra (Cu), hroma (Cr) i selen (Se). Procene pokazuju da unos od 100 g sirka može zadovoljiti između 14% i 29% dnevne potrebe za magnezijumom (Mg), a unos od oko 70 g sirka može u potpunosti zadovoljiti dnevne potrebe za P (44–97%) i Se (44–125%).
  10. Postoji dobra korelacija između rezultata antioksidativne aktivnosti dobijene različitim metodama. Vrednosti dobijene ABTS testom su bile veće od vrednosti dobijene DPPH metodom za šesnaest ispitivanih uzoraka, budući da je interferencija antocijanina dovela do potcenjivanja antioksidativne aktivnosti u DPPH testu. Primenom oba testa, uzorak **S10** pokazao je najmanju antioksidativnu aktivnost. Ipak, ovaj uzorak pokazao je značajno odstupanje i neočekivanu vrednost antioksidativne aktivnosti primenom FRAP metode. Uzorak **S4** pokazao je najveći antioksidativni potencijal primenom sva tri testa.
  11. Integralno brašno sirka zbog svojih antioksidativnih svojstava, kao i značajnog udela minerala, može biti veoma značajan dodatak u konditorskim i pekarskim proizvodima. Dodatak integralnog brašna sirka pokazuje trend povećanja biološke vrednosti finalnog proizvoda, naročito u pogledu sadržaja polifenolnih jedinjenja i ne pokazuje negativni uticaj na senzorni profil proizvoda.
  12. Uzorci bezglutenskog čajnog peciva sa dodatkom integralnog brašna sirka pozitivno su ocenjeni u pogledu parametara boje, teksture i ukupne prihvatljivosti od strane senzornog panela. Kontrolni uzorak pokazao je najbolje rezultate u pogledu vizuelnog kvaliteta i karakterišu ga izuzetna uravnoteženost svojstva hrskavosti i slatke arome. Uzorak **BC20** sa 20% integralnog brašna sirka i uzorak **BC40** sa 40% integralnog brašna sirka pokazali su uravnotežene rezultate u pogledu teksture i arome.

## 7. REFERENCE

- Acosta, D., Pérez, M., Peña, M. (2003). Sensory evaluation of sorghum-based products: A review. *Food Qual.* 14(8), 621-630.
- Ahmadinejad, F., Geir, Møller, S., Hashemzadeh-Chaleshtori, M., Bidkhor, G., Jami, M.S. (2017). Molecular mechanisms behind free radical scavengers' function against oxidative stress. *Antioxidants* 6(3), 51.
- Ali, H.M., Ali, I.H. (2018). Energetic and electronic computation of the two-hydrogen atom donation process in catecholic and non-catecholic anthocyanidins. *Food Chem.* 243, 145–150.
- Alvarez-Diduk, R., Galano, A. Adrenaline, Noradrenaline. (2015). Protectors against Oxidative Stress or Molecular Targets? *J. Phys. Chem.* 119, 3479–3491.
- Anunciaçao, P.C., Cardoso, L. M., Gomes, J.V.P., Lucia C.M.D., Carvalho, C.W.P, Galdeano, M.C., Queiroz, V.A.V., Alfenas, R.C.G., Martino, H.S.D., Pinheiro Sant'ana, H.M. (2017). Comparing sorghum and wheat whole grain breakfast cereals: sensorial acceptance and bioactive compound content. *Food Chem.* 221, 984–989.
- Awika, J.M. (2017). Sorghum: Its unique nutritional and health-promoting attributes, in: John, R. Taylor, J.N.R., Awika, J.M. (Eds.), *Gluten-Free Ancient Grains* Amsterdam, The Netherlands, Elsevier, 21–54.
- Awika, J.M., Rooney, L.W., Waniska, R.D. (2005). Anthocyanins from black sorghum and their antioxidant properties. *Food Chem.* 90(1-2), 293–301.
- Awika, J.M., Rooney, L.W., Wu, X., Prior, R.L. (2003). Cisneros Zevallos, L. Screening methods to measure antioxidant activity of sorghum (*Sorghum bicolor*) and sorghum products. *J. Agric. Food Chem.* 51, 6657–6662.
- Bakari, H., Ruben, Z.F., Roger, D.D., Cedric, D., Guillaume, P., Pascal, D., Philippe, M., Gwendoline, C. (2022). Sorghum (*Sorghum bicolor* L. Moench) and Its Main Parts (By-Products) as Promising Sustainable Sources of Value-Added Ingredients. *Waste Biomass Valoriz.* 14, 1023–1044.
- Barać M., Kresojević M., Špirović Trifunović B., Pešić M., Vučić T., Kostić A., Despotović S. (2018). Fatty acid profiles and mineral content of Serbian traditional white brined cheeses. *Traditional white brined cheeses, Mljekarstvo.* 68: 37–45.
- Barros, F., Awika, J.M., Rooney, L.W. (2012). Interaction of tannins and other sorghum phenolic compounds with starch and effects on in vitro starch digestibility. *J. Agric. Food Chem.* 60, 11609–11617.
- Barros, F., Dykes, L., Awika, J.M., Rooney, L.W. (2013). Accelerated solvent extraction of phenolic compounds from sorghum brans. *J. Cereal Sci.* 58(2), 305–312.
- Basheer, I.A., Hajmeer, M. (2000). Artificial neural networks: Fundamentals, computing, design, and application. *J. Microbiol. Methods*, 43(1): 3–31.
- Bazie, D., Dibala, C.I., Kondombo, C.P., Diao, M., Konaté, K., Sam, H., Kayodé, A.P.P., Dicko, M.H. (2023). Physicochemical and Nutritional Potential of Fifteen Sorghum Cultivars from Burkina Faso. *Agriculture*, 13(3), 675.
- Brandić, I., Pezo, L., Bilandžija, N., Peter, A., Šurić, J., Voća, N. (2023). Comparison of Different Machine Learning Models for Modelling the Higher Heating Value of Biomass. *Mathematics*, 11, 2098.
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E., Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT Food Sci. Technol.* 28, 25–30.
- Buettner, G.R. (1990). Ascorbate oxidation: UV absorbance of ascorbate and ESR spectroscopy of the ascorbyl radical as assays for iron. *Free Radic. Res.* 10(1–2), 5–9.
- Butler, L.G., Riedl, D.J., Lebryk, D.G., Blytt, H.J. (1984). Interaction of proteins with sorghum tannin: mechanism, specificity and significance. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 61, 916-920.

- CERSOR010. Technical specifications for sorghum grains. Adopted in 2020. Revised in 2020. Rome : World Food Programme, 2020.
- Chavez D., Ascheri J., Martins A., Carvalho C., Bernardo C., Teles A. (2018). Sorghum, an alternative cereal for GF product. *Rev. Chil. Nutr.* 45, 169–177.
- Cuevas, H.E., Peiris, K.H.S., Bean, S.R. (2023). Assessment of Grain Protein in Tropical Sorghum Accessions from the NPGS Germplasm Collection. *Agronomy*, 13(5), 1330.
- CXS 172-1989. Standard for sorghum grains. Adopted in 1989. Revised in 1995. Amended in 2019. Codex Standard for sorghum grains (Codex Stan 172-1989, rev. 1-1995, Amd. 2019).
- Davis, H., Su, X., Shen, Y., Xu, J., Wang, D., Smith, J.S., Aramouni, F. and Wang, W. (2019). Phenotypic diversity of colored phytochemicals in sorghum accessions with various pericarp pigments. in: Watson, R.R. (Ed.), *Polyphenols in Plants, Isolation, Purification and Extract Preparation*, Second Edition, Academic Press, Elsevier, London, United Kingdom, 123-131.
- de Moraes Cardoso, L., Pinheiro, S.S., Duarte Martino, H.S., Pinheiro-Sant'Ana, H.M. (2017). Sorghum (*Sorghum bicolor* L.): Nutrients, bioactive compounds, and potential impact on human health. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 57(2), 372–390.
- de Oliveira, L.D.L., de Orlandin, L.C., de Aguiar, L.A., Queiroz, V.A.V., Zandonadi, R.P., Botelho, R.B.A., de Alencar Figueiredo, L.F. (2022). Gluten-Free Sorghum Pasta: Composition and Sensory Evaluation with Different Sorghum Hybrids. *Foods*, 11, 3124.
- Dimić, D., Milenković, D., Avdović, E., Nakarada, Đ., Dimitrić-Marković, J., Marković, Z. (2021). Advanced oxidation processes of coumarins by hydroperoxyl radical: An experimental and theoretical study, and ecotoxicology assessment. *Chem. Eng. J.* 424, 130331.
- Dimić, D., Milenković, D., Dimitrić Marković, J., Marković, Z. (2017). Antiradical activity of catecholamines and metabolites of dopamine: theoretical and experimental study. *Phys. Chem. Chem. Phys.* 19, 12970–12980.
- Dimić, D., Milenković, D., Marković, Z., Dimitrić Marković, J. (2019). The reactivity of dopamine precursors and metabolites towards ABTS<sup>•</sup>: An experimental and theoretical study. *J. Serb. Chem. Soc.* 2019, 1–13.
- Dimitrić Marković, J., Milenković, D., Amić, D., Popović-Bijelić, A., Mojović, M., Pašti, I.A., Marković, Z. (2014). Energy requirements of the reactions of kaempferol and selected radical species in different media: towards the prediction of the possible radical scavenging mechanisms. *Struct. Chem.* 25, 1795.
- Dykes, L. (2019). Tannin Analysis in Sorghum Grains. in: Zhao, Z.Y., Dahlberg J. (Eds.), *Sorghum. Methods in Molecular Biology*, Vol 1931. Humana Press, New York, NY.
- Dykes, L., Rooney, L.W., Waniska, R.D., Rooney, W.L. (2005). Phenolic compounds and antioxidant activity of sorghum grains of varying genotypes. *J. Agri. Food Chem.* 53(17), 6813–6818.
- Dykes, L., Zhao, Z.Y., Dahlberg J. (2019). Tannin Analysis in Sorghum Grains. *Methods in Molecular Biology*. Humana Press, New York, 1931.
- Earp, C. F., Rooney, L. W. (1982). Scanning electron microscopy of the pericarp and testa of several sorghum varieties. *Food Microstruct.* 1, 125-134.
- Espitia-Hernández, P., Chávez González, M.L., Ascacio Valdés, J.A, Dávila-Medina, D., Flores-Nevada, A., Silva, T., Chacón X., Sepúlveda, L. (2020). Sorghum (*Sorghum bicolor* L.) as a potential source of bioactive substances and their biological properties. *Critical Rev. Food Sci. Nutr.*
- EU Ph, 2.8.14. (2013) European Pharmacopoeia – 8th Edition (Ph. Eur. VIII) Vol. 1. (2013). European Pharmacopoeia Commission, and the European Directorate for the Quality of Medicines & HealthCare. (EDQM), Strasbourg, France. 2.8.16. Methods of analysis 01/2008:20814.

- FAOSTAT (FAOSTAT 1994-2020) <https://www.fao.org/faostat/en/#data> (accessed on 10 Feb 2023).
- Foster, J.P., Weinhold, F. (1980). Natural hybrid orbitals. *J. Am. Chem. Soc.* 102, 7211–7218.
- Frankowski, J., Przybylska-Balcerek, A. (2022). Stuper-Szablewska, K. Concentration of Pro-Health Compound of Sorghum Grain-Based Foods. *Foods*, 11(2), 216.
- Frisch, M.J., Trucks, G.W. (2009). Schlegel, H.B.; Scuseria, G.E.; Robb, M.A.; Cheeseman, J.R.; Scalmani, G.; Barone, V.; Mennucci, B.; Petersson, G.A.; Nakatsuji, H.; Caricato, M.; Li, X.; Hratchian, H.P.; Izmaylov, A.F.; Bloino, J.; Zheng, G.; Sonnenberg, J.L et al. Fox, Gaussian 09, Revision C.01, Gaussian Inc., Wallingford CT.
- FSAI. (2010). The Food Safety Authority of Ireland. Accuracy of Nutrition Labelling of Pre-Packaged Food in Ireland.
- Garman, F.E., Geoffrey, W.G. (2005). Elemental analysis of proteins by micropixel. *Prog. Biophys. Mol. Biol.* 2, 173–205.
- Gerrano, A.S., Labuschagne, M.T., van Biljon, A., Shargie, N.G. (2016). Quantification of Mineral Composition and Total Protein Content in Sorghum [*Sorghum Bicolor* (L.) Moench] Genotypes. *Cereal Res. Commun.*, 272-285.
- Girard, A.L., Awika, J.M. (2018). Sorghum polyphenols and other bioactive components as functional and health promoting food ingredients. *J Cereal Sci.* 84,112–124.
- Halliwell, B. (1994). Free radicals and antioxidants: a personal view. *Nutrition Reviews*, 52, 253–265.
- Hassan, S.M. (2023). Nutritional, Functional and Bioactive Properties of Sorghum (*Sorghum Bicolor* L. Moench) with its Future Outlooks: A Review Review Article. *Open J Nutr Food Sci.* 5(1): 1030.
- Hong, S., Pangloli, P., Perumal, R., Cox, S., Noronha, L.E. (2020a). Dia, V.P.; Smolensky, D. A Comparative Study on Phenolic Content, Antioxidant Activity and Anti-Inflammatory Capacity of Aqueous and Ethanolic Extracts of Sorghum in Lipopolysaccharide-Induced RAW 264.7 Macrophages. *Antioxidants*, 9(12), 1297.
- Hong, S., Pangloli, P., Perumal, R., Cox, S., Noronha, L.E., Dia, V.P., Smolensky, D. (2020b). A comparative study on phenolic content, antioxidant and anti-inflammatory capacity of aqueous and ethanolic extracts of sorghum in lipopolysaccharide-induced RAW 264.7 Macrophages. *Antioxidant* (12), 1297.
- Hossain, S., Islam, N., Rahman, M., Mosfora, G.M., Khan, R.A. (2022). Sorghum: A prospective crop for climatic vulnerability, food and nutritional security. *J. Agric. Food Res.* 8, 100300.
- Hubbard, J.E., Hall, H.H., Earle, F.R. (1950). Composition of the component parts of the sorghum kernel. *Cereal Chem.* 27, 415-420.
- Ikem, A., Odumosu, O.P., Udousoro, I. (2023). Elemental composition of cereal grains and the contribution to the dietar intake in the Nigerian population. *J. Food Compost. Anal.* 118, 105207.
- Institute of Medicine. Dietary Reference Intakes for Calcium, Phosphorus, Magnesium, Vitamin D, and Fluoride; Food and Nutrition Board, National Academy of Sciences. The National Academy Press: Washington, DC, USA, 1997.
- Institute of Medicine. Dietary Reference Intakes for Vitamin A, Vitamin K, Arsenic, Boron, Chromium, Copper, Iodine, iron, Manganese, Molybdenum, Nickel, Silicon, Vanadium, and Zinc; Food and Nutrition Board, National Academy of Sciences. The National Academy Press: Washington, DC, USA, 2001.
- Institute of Medicine. Dietary Reference Intakes for Vitamin C, Vitamin E, Selenium, and Carotenoids; Food and Nutrition Board, National Academy of Sciences. The National Academy Press: Washington, DC, USA, 2000.
- Institute of Medicine. Dietary Reference Intakes for Water, Potassium, Sodium, Chloride, and Sulfate; Food and Nutrition Board, National Academy of Sciences. The National Academy Press: Washington, DC, USA, 2005.

- Istrati, D.I., Constantin, O.E., Vizireanu, C., Rodica, D., Furdui, B. (2019). Sorghum as source of functional compounds and their importance in human nutrition. *AUDJG – Food Technol.* 43(2), 189–205.
- Khalid, W., Ali, A., Arshad, M.S., Afzal, F., Akram, R., Siddeeg, A., Kousar, S., Rahim, M. A., Aziz, A., Maqbool, Z., Saeed A. (2022). Nutrients and bioactive compounds of *Sorghum bicolor* L. used to prepare functional foods: a review on the efficacy against different chronic disorders. *Int. J. Food Prop.* 25, 1045–1062.
- Khan, A., Khan, N.A., Bean, S.R., Chen, J., Xin, Z., Jiao, Y. (2023). Variations in Total Protein and Amino Acids in the Sequenced Sorghum Mutant Library. *Plants*, 12, 1662. <https://doi.org/10.3390/plants12081662>
- Kolozsvári, I., Kun, A., Jancs, M., Palágyi, A., Bozán, C., Gyuricza, C. (2022). Agronomic Performance of Grain Sorghum (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) Cultivars under Intensive Fish Farm Effluent Irrigation. *Agronomy*, 12(5), 1185.
- Kovtunov, V.V., Kovtunova, N.A., Popov, A.S. (2021). The indices of sorghum seed quality in dependence on ecological and geographical origin. *IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science*, 843, 012007.
- Kumari, P.K., Umakanth, A.V., Bala Narsaiah, T., Uma, A. (2021). Exploring anthocyanins, antioxidant capacity and  $\alpha$ -glucosidase inhibition in bran and flour extracts of selected sorghum genotypes. *Food Biosci.* 41, 100979.
- Lee, J., Durst, R.W., Wrolstad, R.E. (2005). Determination of total monomeric anthocyanin pigment content of fruit juices, beverages, natural colorants, and wines by the pH differential method: collaborative study. *J. AOAC Int.* 88, 1269–1278.
- Lee, S., Kim, H., Park, J. (2023). Evaluation of the nutritional quality of 23 sorghum breeding lines: Protein and oil content analysis. *J. Cereal Sci.* 104, 103343.
- Lee, S.H., Lee, J., Herald, T., Cox, S., Noronha, L., Perumal, R., Lee, H.S., Smolensky, D. (2020). Anticancer activity of a novel high phenolic sorghum bran in human colon cancer cells. *Oxid. Med. Cell Longev.*, 11.
- Li, Z., Zhao, X., Zhang, X., Liu, H. (2021). Bioactive Compounds and Biological Activities of Sorghum Grains. *Foods*, 10, 2868.
- Madhusudhan, R., Hariprasanna, K., Aruna, C., Sajjanar, G.M., Hanamaratti, N.G., Sameera, S., Tonapi, V.A. (2023). Genetic variability, G  $\times$  E interaction and stability for iron and zinc content in sorghum grains in advanced breeding lines. *J. Cereal Sci.* 110, 103653.
- Makkar, H.P. (2003). Quantification of tannins in tree and shrub foliage: a laboratory manual. Springer Science & Business Media.
- Marenich, A.V., Cramer, C.J., Truhlar, D.G. (2009). Universal solvation model based on solute electron density and on a continuum model of the solvent defined by the bulk dielectric constant and atomic surface tensions. *J. Phys. Chem.* 113, 6378–6396.
- Medeiros, R.J., dos Santos, L.M.G., Freire, A.S., Santelli, R.E., Braga, A.M.C.B., Krauss, T.M., Jacob, S.C. (2012). Determination of inorganic trace elements in edible marine fish from Rio de Janeiro State, Brazil. *Food Control* 23, 535–541.
- Meena, K., Visarada, K.B.R.S., Meena, D.K. (2022). Sorghum bicolor (L.) Moench a multifarious crop -fodder to therapeutic potential and biotechnological applications: A future food for the millennium. *Future Foods*, 100188.
- Milenković, D., Dimić, D., Avdović, E., Amić, A., Dimitrić-Marković, J., Marković, Z. (2020). Advanced oxidation process of coumarins by hydroxyl radical: Towards the new mechanism leading to less toxic products, *Chem. Eng. J.* 395, 124971.
- Miller, F.R., Smith, J.A., Haug, R. L. (1972). Effect of different nutrient levels on the growth of sorghum. *J. Agric. Sci.* 78(2), 350–355.
- Mitevski, J., Pantelić, Đ. N., Dodevska, S.M., Kojić, J., Vulić, J., Zlatanović, S., Gorjanović, S., Laličić-Petronijević, J., Marjanović, S., Antić, V. (2023). Effect of Beetroot Powder Incorporation on Functional Properties and Shelf Life of Biscuits. *Foods*, 12(2), 322.

- Motlhaodi, T., Bryngelsson, T., Chite, S., Fatih, M., Ortiz, R., Geleta, M. (2018). Nutritional variation in sorghum [*Sorghum bicolor* (L.) Moench] accessions from southern Africa revealed by protein and mineral composition. *J. Cereal Sci.* 83, 123–129.
- Mundia, W.C., Secchi, S., Akamani, K., Wang, G. (2019). A Regional Comparison of Factors Affecting Global Sorghum Production: The Case of North America, Asia and Africa's Sahel. *Sustainability*, 11, 2135.
- Munteanu, I.G., Apetrei, C. (2022). Assessment of the Antioxidant Activity of Catechin in Nutraceuticals: Comparison between a Newly Developed Electrochemical Method and Spectrophotometric Methods. *Int. J. Mol. Sci.* 23(15), 8110.
- Nagy, R., Szöllősi, E., Molnár, P.B., Murányi, E., Czimbalmos, R., Sipos, P. (2021). Condensed Tannin Content and Antioxidant Activity of Hungarian Sorghum Varieties Grown at Research Institute in Karcag. *Acta Agrar. Debr.* 11, 155–160.
- Nakarada, Đ., Pejin, B., Tommonaro, G., Mojović, M. (2019). Liposomal integration method for assessing antioxidative activity of water insoluble compounds towards biologically relevant free radicals: example of avarol. *J. Liposome Res.* 30, 218–226.
- Nazari, L., Ropelewska, E., Zadeh, M.A. (2022). Micronutrient Content and Geometrical Features of Grain Sorghum Subjected to Water Stress. *Chem. Proc.* 10(1), 25.
- Official Methods of Analysis of AOAC INTERNATIONAL. (2012) 19th Ed., AOAC INTERNATIONAL, Gaithersburg, MD, USA, Official Method 2008.01. Revised October 2013.
- Ofosu, F.K., Elahi, F., Daliri, E.B.M., Yeon, S.J., Ham, H.J., Kim, J.H., Oh, D.H. (2020). Flavonoids in decorticated sorghum grains exert antioxidant, antidiabetic and antiobesity activities. *Molecules*, 25(12), 2854.
- Paiva, C.L., Queiroz, V.A.V., Simeone, M.L.F., Schaffert, R.E., de Oliveira, A.C., da Silva, C.S. (2017). Mineral content of sorghum genotypes and the influence of water stress. *Food Chem.* 214, 400–405.
- Palacios, C.E., Nagai, A., Torres, P., Avelino Rodrigues, J., Salatino, A. (2021). Contents of tannins of cultivars of sorghum cultivated in Brazil, as determined by four quantification methods. *Food Chem.*, 127970.
- Palavecino, P.M., Ribotta, P.D., León, A.E., Bustos, M.C. (2019). Gluten-free sorghum pasta: Starch digestibility and antioxidant capacity compared with commercial products. *J. Sci. Food Agric.* 99, 1351–1357.
- Panda, S.K. (2012). Assay guided comparison for enzymatic and non-enzymatic antioxidant activities with special reference to medicinal plants. *Antioxidant Enzyme* 14, 382.
- Park, J.H., Darvin, P., Lim, E.J., Joung, Y.H., Hong, D.Y., Park, E.U., Park, S.H., Choi, S.K., Moon, E.S., Cho, B.W., Park, K.D., Lee, H.K., Kim, M.J., Park, D.S., Chung, I.M., Yang, Y.M. (2012). Hwanggeumchal sorghum induces cell cycle arrest, and suppresses tumor growth and metastasis through Jak2/STAT pathways in breast cancer xenografts. *PLoS One* 7, e40531.
- Pękal, A., Pyrzynska K. (2014). Evaluation of aluminium complexation reaction for flavonoid content assay. *Food Anal. Methods* 7, 1776–782.
- Pinheiro, S.S., Cardoso, L. de M., Anunciação, P.C., de Menezes, C.B., Queiroz, V.A.V., Martino, H.S.D., Della Lucia, C.M., Pinheiro Sant'Ana, H.M. (2021). Water stress increased the flavonoid content in tannin-free sorghum grains. *J. Food Composit. Anal.*, 100, 103892.
- Pontieri, P., Mamone, G., De Caro, S., Tuinstra, M.R., Roemer, E., Okot, J., De Vita, P., Ficco, D.B., Alifano, P., Pignone, D. (2013). Sorghum, a healthy and gluten-free food for celiac patients as demonstrated by genome, biochemical and immunochemical analyses. *J. Agric. Food Chem.* 61, 2565–2571.
- Pontieri, P., Troisi, J., Calcagnile, M., Aramouni, F., Tilley, M., Smolensky, D., Guida, M., Del Giudice, F., Merciai, A., Samoylenko, I., et al. (2024). Nutritional Composition, Fatty



- Acid Content, and Mineral Content of Nine Sorghum (*Sorghum bicolor*) Inbred Varieties. *Foods*, 13, 3634.
- Pontieri, P., Troisi, J., Calcagnile, M., Bean, S.R., Tilley, M., Aramouni, F., Boffa, A., Pepe, G., Campiglia, P., Del Giudice, F., Chessa, A.L., Smolensky, D., Aletta, M., Alifano, P., Del Giudice, L. (2022). Chemical Composition, Fatty Acid and Mineral Content of Food-Grade White, Red and Black Sorghum Varieties Grown in the Mediterranean Environment. *Foods*, 11(3), 436.
- Pontieri, P., Troisi, J., Di Fiore, R., Di Maro, A., Bean S.R., Tuinstra, M.R., Roemer, E., Boffa, A., Del Giudice, A., Pizzolante, G., Alifano, P., Del Giudice, L. (2014). Mineral contents in grains of seven food-grade sorghum hybrids grown in a Mediterranean environment. *Aust. J. Crop Sci.* 8(11), 1550–1559.
- Pravilnik o metodama uzimanja uzoraka i vršenja hemijskih i fizičkih analiza belančevinastih proizvoda za prehrambenu industriju. (1985). *Službeni list SFRJ*, 41, 1257–1262. ISSN: 2787-1959.
- Prevolnik, M., Andronikov, D., Tlender, B., Font-i-Furnols, M., Kovač, M., Škorjanc, D., andek-Potokar, M. (2014). Classification of dry-cured hams according to the maturation time using near-infrared spectra and artificial neural networks, *Meat Science*, 96(1): 14–20.
- Rakshit, S., Bellundagi, A. (2019). Conventional Breeding Techniques in Sorghum. *Breeding Sorghum for Diverse End Uses*, 77–91.
- Rani R., Kumar M. H. S., Sabikhi L. (2016). Process optimisation for a ready-to-serve breakfast smoothie from a composite milk-sorghum base. *Int. J. Dairy Technol.* 69, 372–379.
- Rao, S., Santhakumar, A.B., Chinkwo, K.A., Wu, G., Johnson, S.K., Blanchard, C.L. (2018). Characterization of phenolic compounds and antioxidant activity in sorghum grains. *J. Cereal Sci.* 84, 103–111.
- Rashwan, A.K., Yones, H.A., Karim, N., Taha, E.M., Chen, W. (2021). Potential processing technologies for developing sorghum-based food products: An update and comprehensive review. *Trends in Food Science & Technology*, 110, 168-182.
- Ratnavathi, C.V. (2016). Sorghum Biochemistry: an industrial perspective. *Sorghum Grain Quality*, 1–61.
- Ratnavathi, C.V. (2019). Grain Structure, Quality, and Nutrition. Eds: Aruna, C., Visarada, K. B. R. S., Venkatesh Bhat, B., Tonapi, A. In *Food Science, Technology and Nutrition, Breeding Sorghum for Diverse End Uses*, Woodhead Publishing. 193-207, ISBN 9780081018798
- Rooney, W.L., Pflugfelder, D.R. (1986). Sorghum grain quality for food and feed: A review. *Field Crops Research*, 14(1), 1-35.
- Sang, Y., Bean, S., Seib, P.A., Pedersen, J., Shi, Y.C. (2008). The structure and functional properties of sorghum starches differing in amylose content. *J Agri Food Chem.* 56(15):6680-5.
- Savić, A.G., Mojović, M. (2012). Free radicals identification from the complex EPR signals by applying higher order statistics. *Anal. Chem.* 84(7), 3398–3402.
- Shakoor, A., Ali, A., Ullah, F. (2021). Health benefits of sorghum: A review on its nutritional, therapeutic, and medicinal properties. *Frontiers in Nutrition*, 8, 668028.
- Shih, C.H., Siu, S.O., Ng, R., Wong, E., Chiu, L.C.M., Chu, I.K., Lo, C. (2007). Quantitative analysis of anticancer 3-deoxyanthocyanidins in infected sorghum seedlings. *J. Agric. Food Chem.* 55, 254–259.
- 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: 200-222.
- Spackman D.H., Stein W.H., Moose, S. (1958). Automatic recording apparatus for use in the chromatography of amino acids. *Analytical Chemistry*, 30, 1190–1206.

- SRPS EN ISO 712:2012. Cereals and cereal products - Determination of moisture content - Reference method (ISO 712:2009).
- SRPS EN ISO 8589:2015. Senzorske analize — Opšte uputstvo za projektovanje prostorija za ispitivanje.
- SRPS ISO 9648:2013. Sorghum - Determination of tannin content.
- Taylor J.R.N., Schober T.J., Bean S.R. (2006). Novel food and non-food uses for sorghum and millets. *J. Cereal. Sci.* 44, 252–271.
- Tomičić, Z., Pezo, L., Spasevski, N., Lazarević, J., Čabarkapa, I., Tomićić, R. (2022). Diversity of amino acids composition in cereals. *Food and Feed Research*, 49 (1), 11-22.
- Tovignan, T.K., Bash, Y., Windpassinger, S., Augustine, S.M., Snowdon, R., Vukasovic S. (2023). Precision Phenotyping of Agro-Physiological Responses and Water Use of Sorghum under Different Drought Scenarios. *Agronomy*, 13(3), 722.
- Verma, S., Hussain, M.E. (2017). Obesity and diabetes: an update. *Diab. Metabolic Syndrome* 11, 73–79.
- Victoria, C.G., Christian, P., Vidaletti, L.P., Gatica-Domínguez, G., Menon, P., Black, R.E. (2021). Revisiting maternal and child undernutrition in low-income and middle-income countries: variable progress towards an unfinished agenda. *Lancet*, 397.
- Villamena, F.A., Hadad, C.M., Zweier, J.L. (2023). Kinetic study and theoretical analysis of hydroxyl radical trapping and spin adduct decay of alkoxycarbonyl and dialkoxyphosphoryl nitrones in aqueous media. *J. Phys. Chem.* 107(22), 4407–4414.
- Wang, X., Han, X., Li, L., Zheng, X. (2020). Optimization for quantification of sorghum tannins by ferric ammonium citrate assay. *G.O.S.T.* 4, 146-53.
- Widowati, S., Luna, P. (2022). Nutritional and functional properties of sorghum (*Sorghum bicolor* (L.) Moench)-based products and potential valorisation of Sorghum Bran. In *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*; IOP Publishing: Bristol, UK, 012031.
- Wu, G.C., Bennett, S.J., Bornman, J.F., Clarke, M.W., Fang, Z.X., Johnson, S.K. (2017a). Phenolic profile and content of sorghum grains under different irrigation managements. *Food Res. Int.* 97, 347–355.
- Wu, G.C., Bornman, J.E., Bennett, S.J., Clarke, M.W., Fang, Z.X., Johnson, S.K. (2017b). Individual polyphenolic profiles and antioxidant activity in sorghum grains are influenced by very low and high solar UV radiation and genotype. *J. Cereal Sci.* 77, 17–23.
- Wu, G.C., Johnson, S.K., Bornman, J.F., Bennett, S.J., Fang, Z.X. (2017c). Changes in whole grain polyphenols and antioxidant activity of six sorghum genotypes under different irrigation treatments. *Food Chem.* 214, 199–207.
- Wu, Y., Wang, Y., Liu, Z., Wang J. (2023). Extraction, Identification and Antioxidant Activity of 3-Deoxyanthocyanidins from *Sorghum bicolor* L. Moench Cultivated in China. *Antioxidants*, 12(2), 468.
- Xiong, Y., Zhang, P., Warner, R.D., Fang, Z. (2019a). 3-Deoxyanthocyanidin colorant: Nature, health, synthesis and food applications. *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.* 18(5), 1533–1549.
- Xiong, Y., Zhang, P., Warner, R.D., Fang, Z. (2019b). Sorghum grain: from genotype, nutrition, and phenolic profile to its health benefits and food applications. *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.* 2025–2046.
- Xiong, Y., Zhang, P., Warner, R.D., Shen, S., Johnson, S., Fang, Z. (2020). Comprehensive profiling of phenolic compounds by HPLC-DAD-ESI-QTOF-MS/MS to reveal their location and form of presence in different sorghum grain genotypes. *Food Res. Int.* 137, 109671.
- Xu, J., Wang, W., Zhao Y. (2021). Phenolic Compounds in Whole Grain Sorghum and Their Health Benefits. *Foods*, 10(8), 1921.
- Yoon, Y., Swales, G., Silvia, E. M. (1993). A comparison of discriminant analysis versus artificial neural networks. *Journal of the Operational Research Society*, 44(1): 51–60.

- Zeb, A. (2018). Ellagic acid in suppressing in vivo and in vitro oxidative stresses. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 448(1–2), 27–41.
- Zeb, A. (2020). Concept, mechanism, and applications of phenolic antioxidants in foods. *J Food Biochem*, 1-22.
- Zlotkin, S., Dewey, K.G. (2021). Perspective: Putting the youngest among us into the nutrition “call for action” for food fortification strategies. *Am. J. Clin. Nutr.* 114(4), 1257–1260.

## PRILOZI

**Prilog 1.** Lista 172 restorer (R) linije sirka iz kolekcije Instituta za ratarstvo i povrtarstvo u Novom Sadu, Instituta od nacionalnog značaja za Republiku Srbiju.

| Oznaka | Uzorak | Genotip          | Poreklo kolekcije                            |
|--------|--------|------------------|----------------------------------------------|
| 1.     | Re1    | AK-10-1          | Gabonatermesztesi Kutato Intezet Szeged, HUN |
| 2.     | Re2    | AK 3001          | Gabonatermesztesi Kutato Intezet Szeged, HUN |
| 3.     | Re5    | Combine Milo     | Gabonatermesztesi Kutato Intezet Szeged, HUN |
| 4.     | Re6    | DD Ey Ey Hegary  | Gabonatermesztesi Kutato Intezet Szeged, HUN |
| 5.     | Re7    | DD White Sonner  | Gabonatermesztesi Kutato Intezet Szeged, HUN |
| 7.     | Re10   | 28/8221          | Gabonatermesztesi Kutato Intezet Szeged, HUN |
| 8.     | Re12   | 25/2221          | Gabonatermesztesi Kutato Intezet Szeged, HUN |
| 9.     | Re17   | KS-54            | Gabonatermesztesi Kutato Intezet Szeged, HUN |
| 10.    | Re19   | KS-27            | Gabonatermesztesi Kutato Intezet Szeged, HUN |
| 11.    | Re20   | Mini hegari      | Gabonatermesztesi Kutato Intezet Szeged, HUN |
| 12.    | Re23   | OKY 8            | Oklahoma State University Stillwater, USA    |
| 13.    | Re24   | OKY 15           | Oklahoma State University Stillwater, USA    |
| 15.    | Re26   | OKY 31           | Oklahoma State University Stillwater, USA    |
| 16.    | Re31   | ROKY 78          | Oklahoma State University Stillwater, USA    |
| 17.    | Re41   | Sze 140          | Gabonatermesztesi Kutato Intezet Szeged, HUN |
| 18.    | Re43   | BR 71            | Gabonatermesztesi Kutato Intezet Szeged, HUN |
| 19.    | Re44   | Sze TC 73        | Gabonatermesztesi Kutato Intezet Szeged, HUN |
| 20.    | Re45   | NK R 310         | Gabonatermesztesi Kutato Intezet Szeged, HUN |
| 22.    | Re63   | Early hegary     | Agrobotanikai Kozpont Tapioszele, HUN        |
| 23.    | Re61   | Heegary B        | Agrobotanikai Kozpont Tapioszele, HUN        |
| 24.    | Re64   | DDY Sooner       | Agrobotanikai Kozpont Tapioszele, HUN        |
| 25.    | Re65   | Redbine          | Agrobotanikai Kozpont Tapioszele, HUN        |
| 26.    | Re66   | Midland          | Agrobotanikai Kozpont Tapioszele, HUN        |
| 27.    | Re68   | Caprock II       | Agrobotanikai Kozpont Tapioszele, HUN        |
| 28.    | Re69   | Early Kalo       | Agrobotanikai Kozpont Tapioszele, HUN        |
| 29.    | Re75   | Red seed Combine | Agrobotanikai Kozpont Tapioszele, HUN        |

|     |       |                        |                                           |
|-----|-------|------------------------|-------------------------------------------|
| 30. | Re76  | DD Ey Ey               | Agrobotanikai Kozpont Tapioszele, HUN     |
| 31. | Re77  | DD Early Hegary        | Agrobotanikai Kozpont Tapioszele, HUN     |
| 32. | Re78  | Wai-box hang No 3      | Agrobotanikai Kozpont Tapioszele, HUN     |
| 33. | Re86  | Kubanskoe Krasnoe 1677 | Agrobotanikai Kozpont Tapioszele, HUN     |
| 34. | Re91  | IS-50-59               | Agrobotanikai Kozpont Tapioszele, HUN     |
| 35. | Re98  | IS 9809-1              | Ocsa, HUN                                 |
| 36. | Re101 | RTx 430                | Texas A&M University College Station, USA |
| 37. | Re102 | RTx 432                | Texas A&M University College Station, USA |
| 38. | Re105 | SCO 108 sel # P3       | Texas A&M University College Station, USA |
| 39. | Re108 | SCO 599-11E            | Texas A&M University College Station, USA |
| 40. | Re109 | GKR 140                | Karcag, HUN                               |
| 41. | Re111 | GKR 137                | Karcag, HUN                               |
| 42. | Re112 | GKR 216                | Karcag, HUN                               |
| 43. | Re113 | GKR 239                | Karcag, HUN                               |
| 44. | Re114 | GKR 234                | Karcag, HUN                               |
| 45. | Re116 | GKR 208                | Karcag, HUN                               |
| 46. | Re117 | GKR 242                | Karcag, HUN                               |
| 47. | Re118 | GKR 105                | Karcag, HUN                               |
| 48. | Re119 | GKR 221                | Karcag, HUN                               |
| 49. | Re120 | GKR 172                | Karcag, HUN                               |
| 50. | Re125 | R OKY 31               | Oklahoma State University Stillwater, USA |
| 51. | Re127 | RTx 414                | Texas A&M University College Station, USA |
| 52. | Re128 | RTAM 428               | Texas A&M University College Station, USA |
| 53. | Re130 | RTx 432                | Texas A&M University College Station, USA |
| 54. | Re132 | RTx 434                | Texas A&M University College Station, USA |
| 55. | Re139 | RTx 7000 (Caprock)     | Oklahoma State University Stillwater, USA |
| 56. | Re140 | RTx 7005               | Oklahoma State University Stillwater, USA |
| 57. | Re142 | RTx 2567               | Oklahoma State University Stillwater, USA |
| 58. | Re143 | RTx 2737               | Oklahoma State University Stillwater, USA |
| 59. | Re147 | RTx 433                | Oklahoma State University Stillwater, USA |
| 60. | Re149 | RTx 435                | Oklahoma State University Stillwater, USA |
| 61. | Re150 | RBMR 6                 | Oklahoma State University Stillwater, USA |
| 62. | Re153 | RP-721                 | Oklahoma State University Stillwater, USA |

|     |       |                  |                                           |
|-----|-------|------------------|-------------------------------------------|
| 63. | Re154 | RTx 2786         | Oklahoma State University Stillwater, USA |
| 64. | Re156 | RQL-3 India      | Oklahoma State University Stillwater, USA |
| 65. | Re157 | RCS 3541         | Oklahoma State University Stillwater, USA |
| 68. | Re161 | ROKY 27          | Oklahoma State University Stillwater, USA |
| 69. | Re166 | ROKY 40          | Oklahoma State University Stillwater, USA |
| 70. | Re168 | ROKY 78          | Oklahoma State University Stillwater, USA |
| 71. | Re169 | ROKY 78          | Oklahoma State University Stillwater, USA |
| 72. | Re172 | RF4 78xAS-I-II-I | Oklahoma State University Stillwater, USA |
| 73. | Re175 | IA 2             | Iowa State University Ames, USA           |
| 74. | Re176 | IA 3             | Iowa State University Ames, USA           |
| 75. | Re177 | IA 4             | Iowa State University Ames, USA           |
| 76. | Re178 | IA 5             | Iowa State University Ames, USA           |
| 77. | Re181 | IA 8             | Iowa State University Ames, USA           |
| 78. | Re182 | IA 9             | Iowa State University Ames, USA           |
| 79. | Re183 | IA 10            | Iowa State University Ames, USA           |
| 80. | Re184 | IA 11            | Iowa State University Ames, USA           |
| 81. | Re185 | IA 12            | Iowa State University Ames, USA           |
| 82. | Re187 | IA 14            | Iowa State University Ames, USA           |
| 83. | Re188 | IA 15            | Iowa State University Ames, USA           |
| 84. | Re189 | IA 16            | Iowa State University Ames, USA           |
| 85. | Re190 | IA 17            | Iowa State University Ames, USA           |
| 86. | Re192 | IA 19            | Iowa State University Ames, USA           |
| 87. | Re193 | IA 20            | Iowa State University Ames, USA           |
| 88. | Re194 | IA 21            | Iowa State University Ames, USA           |
| 89. | Re195 | IA 22            | Iowa State University Ames, USA           |
| 90. | Re196 | IA 23            | Iowa State University Ames, USA           |
| 91. | Re197 | IA 24            | Iowa State University Ames, USA           |
| 92. | Re199 | IA 26            | Iowa State University Ames, USA           |
| 93. | Re200 | IA 27            | Iowa State University Ames, USA           |
| 94. | Re201 | IA 28            | Iowa State University Ames, USA           |
| 95. | Re203 | RNB 13           | University of Nebraska Lincoln, USA       |
| 96. | Re204 | RNB 14           | University of Nebraska Lincoln, USA       |
| 97. | Re205 | N 3494           | University of Nebraska Lincoln, USA       |

|      |       |                     |                                              |
|------|-------|---------------------|----------------------------------------------|
| 98.  | Re206 | N 4610              | University of Nebraska Linkoln, USA          |
| 99.  | Re208 | N 6250              | University of Nebraska Linkoln, USA          |
| 100. | Re210 | KS 25               | University of Nebraska Linkoln, USA          |
| 101. | Re214 | KS 29               | University of Nebraska Linkoln, USA          |
| 102. | Re216 | RTx 432             | Texas A&M University College Station, USA    |
| 103. | Re217 | RTx 433             | Texas A&M University College Station, USA    |
| 104. | Re218 | RTx 434             | Texas A&M University College Station, USA    |
| 105. | Re219 | RTAM 428            | Texas A&M University College Station, USA    |
| 106. | Re223 | RTx 2737            | Texas Agric. Experiment Station Lubbock, USA |
| 107. | Re224 | RTx 2738            | Texas Agric. Experiment Station Lubbock, USA |
| 108. | Re225 | RTx 2739            | Texas Agric. Experiment Station Lubbock, USA |
| 109. | Re230 | RTx 2744            | Texas Agric. Experiment Station Lubbock, USA |
| 110. | Re234 | RTx 2748            | Texas Agric. Experiment Station Lubbock, USA |
| 111. | Re236 | RTx 2793            | Texas Agric. Experiment Station Lubbock, USA |
| 112. | Re237 | RTx 2794            | Texas Agric. Experiment Station Lubbock, USA |
| 113. | Re238 | RTx 2795            | Texas Agric. Experiment Station Lubbock, USA |
| 114. | Re241 | RTx 2798            | Texas Agric. Experiment Station Lubbock, USA |
| 115. | Re245 | RTAMU 28            | Texas Agric. Experiment Station Lubbock, USA |
| 116. | Re247 | RTx 7078            | Texas Agric. Experiment Station Lubbock, USA |
| 117. | Re248 | 32612 T             | Unknown                                      |
| 118. | Re252 | SC 599-11E          | Texas A&M University College Station, USA    |
| 119. | Re258 | NK 115 978/90       | Northrup King, USA                           |
| 120. | Re261 | NK 90 970/90        | Northrup King, USA                           |
| 121. | Re262 | Pioneer 8910 968/90 | Pioneer, USA                                 |
| 122. | Re264 | Tx 2819             | Texas A&M University College Station, USA    |
| 123. | Re265 | Tx 2820             | Texas A&M University College Station, USA    |
| 124. | Re275 | Tx 2830             | Texas A&M University College Station, USA    |
| 125. | Re276 | Tx 2831             | Texas A&M University College Station, USA    |
| 126. | Re279 | Tx 2834             | Texas A&M University College Station, USA    |
| 127. | Re281 | Tx 2836             | Texas A&M University College Station, USA    |
| 128. | Re283 | Tx 2838             | Texas A&M University College Station, USA    |
| 129. | Re284 | Tx 2839             | Texas A&M University College Station, USA    |
| 130. | Re286 | Tx 2841             | Texas A&M University College Station, USA    |

|      |       |                   |                                              |
|------|-------|-------------------|----------------------------------------------|
| 131. | Re294 | Tx 2849           | Texas A&M University College Station, USA    |
| 132. | Re296 | Tx 2851           | Texas A&M University College Station, USA    |
| 133. | Re298 | Tx 2853           | Texas A&M University College Station, USA    |
| 134. | Re299 | Tx 2854           | Texas A&M University College Station, USA    |
| 135. | Re302 | Tx 2857           | Texas A&M University College Station, USA    |
| 136. | Re303 | SCP 363 83 L 6309 | Unknow                                       |
| 137. | Re307 | RTx 433           | Texas A&M University College Station, USA    |
| 138. | Re308 | RTx 2737          | Texas A&M University College Station, USA    |
| 139. | Re309 | Tx 2786           | Texas A&M University College Station, USA    |
| 140. | Re310 | Tx 2898           | Texas A&M University College Station, USA    |
| 141. | Re312 | IS2508C (SC 414)  | Unknow                                       |
| 142. | Re314 | RTAM 428          | Texas Agric. Experiment Station Lubbock, USA |
| 143. | Re316 | RTx 414           | Texas A&M University College Station, USA    |
| 144. | Re317 | RTx 2783          | Texas A&M University College Station, USA    |
| 145. | Re318 | RTx 2817          | Texas A&M University College Station, USA    |
| 146. | Re319 | SC 326-6          | Texas A&M University College Station, USA    |
| 147. | Re320 | SC 991            | Unknow                                       |
| 148. | Re322 | BP-334/21         | IFVCNS, SRB                                  |
| 149. | Re324 | BP-335/21         | IFVCNS, SRB                                  |
| 150. | Re325 | BP-336/21         | IFVCNS, SRB                                  |
| 151. | Re326 | BP-337/21         | IFVCNS, SRB                                  |
| 152. | Re327 | BP-338/21         | IFVCNS, SRB                                  |
| 153. | Re328 | BP-328/21         | IFVCNS, SRB                                  |
| 154. | Re329 | BP-340/21         | IFVCNS, SRB                                  |
| 155. | Re330 | BP-341/21         | IFVCNS, SRB                                  |
| 156. | Re331 | BP-342/21         | IFVCNS, SRB                                  |
| 157. | Re332 | BP-343/21         | IFVCNS, SRB                                  |
| 158. | Re333 | BP-344/21         | IFVCNS, SRB                                  |
| 159. | Re334 | BP-345/21         | IFVCNS, SRB                                  |
| 160. | Re335 | BP-346//21        | IFVCNS, SRB                                  |
| 161. | Re336 | BP-347/21         | IFVCNS, SRB                                  |
| 162. | Re337 | BP-348/21         | IFVCNS, SRB                                  |
| 163. | Re338 | BP-349/21         | IFVCNS, SRB                                  |



|      |       |           |             |
|------|-------|-----------|-------------|
| 164. | Re339 | BP-350/21 | IFVCNS, SRB |
| 165. | Re340 | BP-351/21 | IFVCNS, SRB |
| 166. | Re341 | BP-352/21 | IFVCNS, SRB |
| 167. | Re342 | BP-353/21 | IFVCNS, SRB |
| 168. | Re343 | BP-354/21 | IFVCNS, SRB |
| 169. | Re345 | BP-355/21 | IFVCNS, SRB |
| 170. | Re346 | BP-356/21 | IFVCNS, SRB |
| 171. | Re348 | BP-357/21 | IFVCNS, SRB |
| 173. | Re350 | BP-359/21 | IFVCNS, SRB |
| 174. | Re351 | BP-360/21 | IFVCNS, SRB |
| 175. | Re352 | BP-361/21 | IFVCNS, SRB |
| 176. | Re353 | BP-362/21 | IFVCNS, SRB |
| 177. | Re354 | BP-363/21 | IFVCNS, SRB |
| 178. | Re355 | BP-364/21 | IFVCNS, SRB |

---

**Prilog 2a.** Sadržaj vlage, pepela, skroba, proteina i ulja u semenu sirka ( $\bar{X} \pm \text{SD}$ ) izražene kao % u odnosu na apsolutno suhu masu semena (s.m.).

| Uzorak | Vlaga        | Suva materija | Pepao       | Skrob        | Proteini     | Ulje        |
|--------|--------------|---------------|-------------|--------------|--------------|-------------|
| 1      | 10,83 ± 0,03 | 89,17 ± 0,03  | 1,79 ± 0,04 | 82,95 ± 0,50 | 14,47 ± 0,13 | 4,14 ± 0,18 |
| 2      | 10,92 ± 0,04 | 89,08 ± 0,04  | 2,19 ± 0,01 | 77,61 ± 0,10 | 12,87 ± 0,00 | 2,13 ± 0,11 |
| 3      | 10,95 ± 0,04 | 89,05 ± 0,04  | 1,60 ± 0,05 | 75,23 ± 0,08 | 14,19 ± 0,10 | 4,63 ± 0,42 |
| 4      | 10,54 ± 0,01 | 89,46 ± 0,01  | 2,28 ± 0,00 | 79,55 ± 0,25 | 13,18 ± 0,03 | 3,82 ± 0,14 |
| 5      | 10,41 ± 0,00 | 89,59 ± 0,00  | 3,02 ± 0,06 | 82,72 ± 0,49 | 13,55 ± 0,06 | 4,08 ± 0,29 |
| 7      | 10,34 ± 0,01 | 89,66 ± 0,01  | 2,05 ± 0,02 | 75,18 ± 0,08 | 12,93 ± 0,01 | 4,20 ± 0,11 |
| 8      | 11,15 ± 0,05 | 88,85 ± 0,05  | 2,02 ± 0,02 | 80,13 ± 0,29 | 13,95 ± 0,09 | 4,01 ± 0,33 |
| 9      | 10,94 ± 0,04 | 89,06 ± 0,04  | 3,25 ± 0,08 | 80,55 ± 0,32 | 13,51 ± 0,05 | 5,39 ± 0,13 |
| 10     | 10,94 ± 0,04 | 89,06 ± 0,04  | 2,08 ± 0,01 | 70,79 ± 0,41 | 14,37 ± 0,12 | 4,22 ± 0,30 |
| 11     | 10,76 ± 0,02 | 89,24 ± 0,02  | 2,24 ± 0,08 | 80,88 ± 0,35 | 12,58 ± 0,02 | 4,09 ± 0,21 |
| 12     | 11,08 ± 0,05 | 88,92 ± 0,05  | 2,87 ± 0,05 | 80,20 ± 0,30 | 11,57 ± 0,09 | 5,03 ± 0,19 |
| 13     | 10,65 ± 0,01 | 89,35 ± 0,01  | 2,72 ± 0,03 | 71,35 ± 0,37 | 12,61 ± 0,01 | 6,62 ± 0,18 |
| 15     | 10,88 ± 0,03 | 89,12 ± 0,03  | 2,41 ± 0,01 | 83,43 ± 0,54 | 12,55 ± 0,02 | 4,48 ± 0,18 |
| 16     | 11,15 ± 0,05 | 88,85 ± 0,05  | 2,27 ± 0,00 | 83,68 ± 0,56 | 10,30 ± 0,19 | 3,84 ± 0,05 |
| 17     | 10,53 ± 0,01 | 89,47 ± 0,01  | 2,29 ± 0,00 | 71,07 ± 0,39 | 13,21 ± 0,03 | 4,04 ± 0,18 |
| 18     | 11,36 ± 0,07 | 88,64 ± 0,07  | 1,84 ± 0,03 | 78,76 ± 0,19 | 13,01 ± 0,02 | 5,84 ± 0,15 |
| 19     | 12,04 ± 0,12 | 87,96 ± 0,12  | 2,52 ± 0,02 | 77,54 ± 0,10 | 12,36 ± 0,03 | 5,17 ± 0,19 |
| 20     | 10,98 ± 0,04 | 89,02 ± 0,04  | 2,24 ± 0,00 | 80,59 ± 0,33 | 12,76 ± 0,00 | 4,12 ± 0,16 |
| 22     | 11,32 ± 0,07 | 88,68 ± 0,07  | 2,14 ± 0,01 | 79,18 ± 0,22 | 11,56 ± 0,09 | 3,94 ± 0,18 |
| 23     | 10,70 ± 0,02 | 89,30 ± 0,02  | 1,96 ± 0,02 | 74,56 ± 0,13 | 13,62 ± 0,06 | 2,99 ± 0,11 |
| 24     | 10,80 ± 0,03 | 89,20 ± 0,03  | 2,65 ± 0,03 | 70,68 ± 0,42 | 14,26 ± 0,11 | 4,29 ± 0,06 |
| 25     | 10,61 ± 0,01 | 89,39 ± 0,01  | 2,45 ± 0,01 | 67,09 ± 0,69 | 15,37 ± 0,19 | 4,69 ± 0,04 |
| 26     | 10,45 ± 0,00 | 89,55 ± 0,00  | 2,16 ± 0,01 | 86,01 ± 0,73 | 14,06 ± 0,09 | 3,98 ± 0,15 |
| 27     | 8,95 ± 0,11  | 91,05 ± 0,11  | 2,05 ± 0,02 | 79,90 ± 0,27 | 14,41 ± 0,12 | 4,92 ± 0,01 |
| 28     | 10,94 ± 0,04 | 89,06 ± 0,04  | 2,14 ± 0,01 | 76,73 ± 0,04 | 11,34 ± 0,11 | 4,29 ± 0,01 |
| 29     | 10,31 ± 0,01 | 89,69 ± 0,01  | 1,92 ± 0,03 | 73,49 ± 0,21 | 16,83 ± 0,30 | 4,59 ± 0,28 |
| 30     | 10,78 ± 0,02 | 89,22 ± 0,02  | 2,05 ± 0,02 | 75,84 ± 0,03 | 11,76 ± 0,08 | 4,96 ± 0,04 |
| 31     | 10,87 ± 0,03 | 89,13 ± 0,03  | 2,23 ± 0,00 | 87,11 ± 0,82 | 12,35 ± 0,03 | 4,25 ± 0,31 |
| 32     | 10,71 ± 0,02 | 89,29 ± 0,02  | 2,27 ± 0,00 | 76,54 ± 0,02 | 11,25 ± 0,12 | 4,56 ± 0,11 |
| 33     | 11,08 ± 0,05 | 88,92 ± 0,05  | 2,54 ± 0,02 | 71,69 ± 0,34 | 13,01 ± 0,02 | 5,47 ± 0,08 |
| 34     | 11,64 ± 0,09 | 88,36 ± 0,09  | 1,99 ± 0,02 | 71,21 ± 0,38 | 11,58 ± 0,09 | 3,21 ± 0,13 |
| 35     | 11,64 ± 0,09 | 88,36 ± 0,09  | 2,29 ± 0,00 | 68,61 ± 0,58 | 12,41 ± 0,03 | 3,67 ± 0,26 |

|    |              |              |             |              |              |             |
|----|--------------|--------------|-------------|--------------|--------------|-------------|
| 36 | 10,64 ± 0,01 | 89,36 ± 0,01 | 1,90 ± 0,03 | 74,68 ± 0,12 | 12,49 ± 0,02 | 5,14 ± 0,40 |
| 37 | 11,31 ± 0,06 | 88,69 ± 0,06 | 2,23 ± 0,00 | 70,52 ± 0,43 | 12,37 ± 0,03 | 4,27 ± 0,06 |
| 38 | 11,01 ± 0,04 | 88,99 ± 0,04 | 2,59 ± 0,03 | 70,65 ± 0,42 | 11,67 ± 0,09 | 3,62 ± 0,10 |
| 39 | 10,63 ± 0,01 | 89,37 ± 0,01 | 2,41 ± 0,01 | 79,16 ± 0,22 | 13,25 ± 0,03 | 4,77 ± 0,32 |
| 40 | 10,69 ± 0,02 | 89,31 ± 0,02 | 2,17 ± 0,01 | 68,02 ± 0,62 | 14,74 ± 0,15 | 4,14 ± 0,02 |
| 41 | 11,14 ± 0,05 | 88,86 ± 0,05 | 2,57 ± 0,02 | 76,30 ± 0,00 | 11,42 ± 0,10 | 4,89 ± 0,11 |
| 42 | 10,66 ± 0,02 | 89,34 ± 0,02 | 2,35 ± 0,01 | 77,25 ± 0,07 | 11,10 ± 0,13 | 5,13 ± 0,12 |
| 43 | 10,32 ± 0,01 | 89,68 ± 0,01 | 2,61 ± 0,03 | 74,70 ± 0,12 | 12,84 ± 0,00 | 5,89 ± 0,11 |
| 44 | 10,69 ± 0,02 | 89,31 ± 0,02 | 2,28 ± 0,00 | 74,71 ± 0,12 | 12,05 ± 0,06 | 4,73 ± 0,12 |
| 45 | 10,39 ± 0,00 | 89,61 ± 0,00 | 1,31 ± 0,07 | 75,96 ± 0,02 | 15,81 ± 0,23 | 5,57 ± 0,16 |
| 46 | 10,86 ± 0,03 | 89,14 ± 0,03 | 1,92 ± 0,03 | 74,09 ± 0,16 | 15,40 ± 0,20 | 5,74 ± 0,06 |
| 47 | 10,29 ± 0,01 | 89,71 ± 0,01 | 1,98 ± 0,02 | 88,42 ± 0,92 | 11,54 ± 0,10 | 4,88 ± 0,22 |
| 48 | 10,83 ± 0,03 | 89,17 ± 0,03 | 2,66 ± 0,03 | 73,31 ± 0,22 | 12,10 ± 0,05 | 3,37 ± 0,34 |
| 49 | 10,30 ± 0,01 | 89,70 ± 0,01 | 2,07 ± 0,01 | 81,54 ± 0,40 | 13,20 ± 0,03 | 5,00 ± 0,14 |
| 50 | 10,36 ± 0,01 | 89,64 ± 0,01 | 1,77 ± 0,04 | 80,92 ± 0,35 | 13,06 ± 0,02 | 3,81 ± 0,19 |
| 51 | 10,88 ± 0,03 | 89,12 ± 0,03 | 2,41 ± 0,01 | 74,43 ± 0,14 | 13,40 ± 0,04 | 4,92 ± 0,11 |
| 52 | 10,43 ± 0,00 | 89,57 ± 0,00 | 2,54 ± 0,02 | 75,25 ± 0,08 | 16,14 ± 0,25 | 4,17 ± 0,11 |
| 53 | 10,42 ± 0,00 | 89,58 ± 0,00 | 2,48 ± 0,02 | 78,87 ± 0,20 | 12,85 ± 0,00 | 5,15 ± 0,12 |
| 54 | 10,95 ± 0,04 | 89,05 ± 0,04 | 2,16 ± 0,01 | 75,99 ± 0,02 | 11,85 ± 0,07 | 4,68 ± 0,22 |
| 55 | 10,95 ± 0,04 | 89,05 ± 0,04 | 2,22 ± 0,00 | 77,35 ± 0,08 | 12,26 ± 0,04 | 4,92 ± 0,29 |
| 56 | 11,11 ± 0,05 | 88,89 ± 0,05 | 2,35 ± 0,01 | 74,92 ± 0,10 | 13,53 ± 0,05 | 4,76 ± 0,21 |
| 57 | 10,43 ± 0,00 | 89,57 ± 0,00 | 2,45 ± 0,01 | 63,30 ± 0,98 | 12,30 ± 0,04 | 5,41 ± 0,14 |
| 58 | 10,74 ± 0,02 | 89,26 ± 0,02 | 2,62 ± 0,03 | 70,49 ± 0,44 | 14,24 ± 0,11 | 4,84 ± 0,09 |
| 59 | 10,73 ± 0,02 | 89,27 ± 0,02 | 2,25 ± 0,00 | 77,93 ± 0,13 | 10,38 ± 0,18 | 5,10 ± 0,05 |
| 60 | 10,57 ± 0,01 | 89,43 ± 0,01 | 3,65 ± 0,10 | 72,69 ± 0,27 | 15,39 ± 0,19 | 4,30 ± 0,01 |
| 61 | 10,65 ± 0,02 | 89,35 ± 0,02 | 2,70 ± 0,03 | 73,31 ± 0,22 | 14,25 ± 0,11 | 4,32 ± 0,22 |
| 62 | 10,14 ± 0,02 | 89,86 ± 0,02 | 2,49 ± 0,02 | 81,12 ± 0,37 | 11,76 ± 0,08 | 4,85 ± 0,30 |
| 63 | 10,71 ± 0,02 | 89,29 ± 0,02 | 2,58 ± 0,02 | 87,30 ± 0,83 | 12,69 ± 0,01 | 4,14 ± 0,11 |
| 64 | 10,91 ± 0,04 | 89,09 ± 0,04 | 2,07 ± 0,01 | 73,69 ± 0,19 | 11,37 ± 0,11 | 5,91 ± 0,19 |
| 65 | 10,27 ± 0,01 | 89,73 ± 0,01 | 1,93 ± 0,02 | 78,25 ± 0,15 | 13,78 ± 0,07 | 4,09 ± 0,31 |
| 68 | 10,82 ± 0,03 | 89,18 ± 0,03 | 2,18 ± 0,01 | 85,51 ± 0,70 | 13,00 ± 0,01 | 2,70 ± 0,17 |
| 69 | 10,09 ± 0,03 | 89,91 ± 0,03 | 2,18 ± 0,01 | 79,88 ± 0,27 | 12,97 ± 0,01 | 3,56 ± 0,29 |
| 70 | 10,54 ± 0,01 | 89,46 ± 0,01 | 2,41 ± 0,01 | 78,98 ± 0,20 | 11,16 ± 0,12 | 2,34 ± 0,32 |
| 71 | 10,64 ± 0,01 | 89,36 ± 0,01 | 2,31 ± 0,00 | 78,44 ± 0,16 | 11,72 ± 0,08 | 3,03 ± 0,22 |
| 72 | 10,19 ± 0,02 | 89,81 ± 0,02 | 2,39 ± 0,01 | 74,75 ± 0,11 | 14,48 ± 0,13 | 4,61 ± 0,01 |
| 73 | 10,75 ± 0,02 | 89,25 ± 0,02 | 2,33 ± 0,01 | 70,77 ± 0,41 | 13,74 ± 0,07 | 4,73 ± 0,11 |

|     |              |              |             |              |              |             |
|-----|--------------|--------------|-------------|--------------|--------------|-------------|
| 74  | 10,43 ± 0,00 | 89,57 ± 0,00 | 2,20 ± 0,00 | 71,17 ± 0,38 | 13,42 ± 0,05 | 3,86 ± 0,10 |
| 75  | 10,49 ± 0,00 | 89,51 ± 0,00 | 1,92 ± 0,03 | 86,23 ± 0,75 | 13,44 ± 0,05 | 4,13 ± 0,20 |
| 76  | 10,47 ± 0,00 | 89,53 ± 0,00 | 2,11 ± 0,01 | 79,44 ± 0,24 | 12,61 ± 0,01 | 4,55 ± 0,07 |
| 77  | 10,27 ± 0,01 | 89,73 ± 0,01 | 2,27 ± 0,00 | 65,63 ± 0,80 | 14,42 ± 0,12 | 3,79 ± 0,05 |
| 78  | 10,36 ± 0,01 | 89,64 ± 0,01 | 2,59 ± 0,02 | 73,82 ± 0,18 | 16,27 ± 0,26 | 3,24 ± 0,19 |
| 79  | 10,70 ± 0,02 | 89,30 ± 0,02 | 2,19 ± 0,01 | 78,16 ± 0,14 | 12,14 ± 0,05 | 4,08 ± 0,15 |
| 80  | 11,01 ± 0,04 | 88,99 ± 0,04 | 2,25 ± 0,00 | 74,42 ± 0,14 | 13,25 ± 0,03 | 4,78 ± 0,08 |
| 81  | 10,45 ± 0,00 | 89,55 ± 0,00 | 2,24 ± 0,00 | 79,00 ± 0,21 | 11,40 ± 0,11 | 4,26 ± 0,11 |
| 82  | 10,42 ± 0,00 | 89,58 ± 0,00 | 2,14 ± 0,01 | 82,79 ± 0,49 | 12,60 ± 0,02 | 3,67 ± 0,11 |
| 83  | 10,00 ± 0,03 | 90,00 ± 0,03 | 2,37 ± 0,01 | 78,35 ± 0,16 | 11,04 ± 0,13 | 4,31 ± 0,10 |
| 84  | 10,54 ± 0,01 | 89,46 ± 0,01 | 2,61 ± 0,03 | 78,75 ± 0,19 | 10,72 ± 0,16 | 4,63 ± 0,08 |
| 85  | 10,45 ± 0,00 | 89,55 ± 0,00 | 2,34 ± 0,01 | 79,79 ± 0,27 | 10,76 ± 0,15 | 3,82 ± 0,09 |
| 86  | 10,48 ± 0,00 | 89,52 ± 0,00 | 2,23 ± 0,00 | 81,59 ± 0,40 | 10,57 ± 0,17 | 3,87 ± 0,03 |
| 87  | 10,12 ± 0,02 | 89,88 ± 0,02 | 2,78 ± 0,04 | 73,02 ± 0,24 | 10,95 ± 0,14 | 4,74 ± 0,09 |
| 88  | 10,09 ± 0,03 | 89,91 ± 0,03 | 1,91 ± 0,03 | 90,85 ± 1,10 | 11,27 ± 0,12 | 4,79 ± 0,10 |
| 89  | 11,18 ± 0,06 | 88,82 ± 0,06 | 2,15 ± 0,01 | 57,14 ± 1,44 | 9,72 ± 0,23  | 4,26 ± 0,10 |
| 90  | 10,88 ± 0,03 | 89,12 ± 0,03 | 2,17 ± 0,01 | 76,53 ± 0,02 | 10,94 ± 0,14 | 4,37 ± 0,08 |
| 91  | 10,06 ± 0,03 | 89,94 ± 0,03 | 2,47 ± 0,02 | 71,06 ± 0,39 | 12,41 ± 0,03 | 4,76 ± 0,21 |
| 92  | 10,03 ± 0,03 | 89,97 ± 0,03 | 2,35 ± 0,01 | 82,64 ± 0,48 | 12,53 ± 0,02 | 4,79 ± 0,03 |
| 93  | 10,27 ± 0,01 | 89,73 ± 0,01 | 2,25 ± 0,00 | 69,24 ± 0,53 | 11,93 ± 0,07 | 4,17 ± 0,23 |
| 94  | 10,09 ± 0,03 | 89,91 ± 0,03 | 1,97 ± 0,02 | 66,50 ± 0,74 | 9,76 ± 0,23  | 3,82 ± 0,08 |
| 95  | 10,41 ± 0,00 | 89,59 ± 0,00 | 2,30 ± 0,00 | 72,10 ± 0,31 | 14,24 ± 0,11 | 4,37 ± 0,18 |
| 96  | 10,33 ± 0,01 | 89,67 ± 0,01 | 1,59 ± 0,05 | 66,67 ± 0,72 | 14,14 ± 0,10 | 4,35 ± 0,19 |
| 97  | 10,48 ± 0,00 | 89,52 ± 0,00 | 2,20 ± 0,00 | 75,59 ± 0,05 | 12,52 ± 0,02 | 4,25 ± 0,18 |
| 98  | 10,18 ± 0,02 | 89,82 ± 0,02 | 2,12 ± 0,01 | 65,22 ± 0,83 | 14,65 ± 0,14 | 4,67 ± 0,02 |
| 99  | 10,43 ± 0,00 | 89,57 ± 0,00 | 2,12 ± 0,01 | 83,34 ± 0,53 | 11,84 ± 0,07 | 3,56 ± 0,07 |
| 100 | 9,73 ± 0,05  | 90,27 ± 0,05 | 1,61 ± 0,05 | 63,91 ± 0,93 | 15,58 ± 0,21 | 2,76 ± 0,13 |
| 101 | 10,40 ± 0,00 | 89,60 ± 0,00 | 2,62 ± 0,03 | 76,86 ± 0,05 | 13,80 ± 0,07 | 2,80 ± 0,12 |
| 102 | 9,88 ± 0,04  | 90,12 ± 0,04 | 2,30 ± 0,00 | 67,54 ± 0,66 | 13,37 ± 0,04 | 5,26 ± 0,06 |
| 103 | 10,53 ± 0,01 | 89,47 ± 0,01 | 2,49 ± 0,02 | 72,00 ± 0,32 | 12,80 ± 0,00 | 4,91 ± 0,04 |
| 104 | 10,49 ± 0,00 | 89,51 ± 0,00 | 1,44 ± 0,06 | 69,08 ± 0,54 | 12,62 ± 0,01 | 4,04 ± 0,03 |
| 105 | 10,26 ± 0,01 | 89,74 ± 0,01 | 2,73 ± 0,04 | 69,69 ± 0,49 | 15,24 ± 0,18 | 3,55 ± 0,07 |
| 106 | 10,30 ± 0,01 | 89,70 ± 0,01 | 2,72 ± 0,03 | 74,99 ± 0,10 | 14,36 ± 0,12 | 4,41 ± 0,21 |
| 107 | 9,94 ± 0,04  | 90,06 ± 0,04 | 2,22 ± 0,00 | 69,26 ± 0,53 | 12,88 ± 0,01 | 4,15 ± 0,25 |
| 108 | 10,74 ± 0,02 | 89,26 ± 0,02 | 2,82 ± 0,04 | 72,17 ± 0,31 | 13,19 ± 0,03 | 4,36 ± 0,20 |
| 109 | 9,79 ± 0,05  | 90,21 ± 0,05 | 1,31 ± 0,07 | 64,13 ± 0,91 | 12,96 ± 0,01 | 4,54 ± 0,18 |

|     |              |              |             |              |              |             |
|-----|--------------|--------------|-------------|--------------|--------------|-------------|
| 110 | 9,76 ± 0,05  | 90,24 ± 0,05 | 1,85 ± 0,03 | 66,92 ± 0,70 | 15,15 ± 0,18 | 4,16 ± 0,16 |
| 111 | 10,53 ± 0,01 | 89,47 ± 0,01 | 2,31 ± 0,00 | 81,15 ± 0,37 | 9,97 ± 0,21  | 4,30 ± 0,19 |
| 112 | 10,06 ± 0,03 | 89,94 ± 0,03 | 2,74 ± 0,04 | 78,40 ± 0,16 | 13,64 ± 0,06 | 4,91 ± 0,27 |
| 113 | 9,61 ± 0,06  | 90,39 ± 0,06 | 1,84 ± 0,03 | 79,77 ± 0,26 | 12,35 ± 0,03 | 4,41 ± 0,00 |
| 114 | 10,28 ± 0,01 | 89,72 ± 0,01 | 2,37 ± 0,01 | 81,17 ± 0,37 | 11,33 ± 0,11 | 3,93 ± 0,04 |
| 115 | 9,68 ± 0,06  | 90,32 ± 0,06 | 2,75 ± 0,04 | 75,82 ± 0,03 | 14,87 ± 0,16 | 4,56 ± 0,08 |
| 116 | 10,06 ± 0,03 | 89,94 ± 0,03 | 2,66 ± 0,03 | 80,49 ± 0,32 | 13,60 ± 0,06 | 4,74 ± 0,02 |
| 117 | 9,94 ± 0,04  | 90,06 ± 0,04 | 2,09 ± 0,01 | 78,43 ± 0,16 | 14,60 ± 0,13 | 4,40 ± 0,06 |
| 118 | 10,41 ± 0,00 | 89,59 ± 0,00 | 2,27 ± 0,00 | 80,13 ± 0,29 | 11,96 ± 0,06 | 4,72 ± 0,12 |
| 119 | 9,85 ± 0,05  | 90,15 ± 0,05 | 1,45 ± 0,06 | 82,15 ± 0,44 | 12,95 ± 0,01 | 4,36 ± 0,08 |
| 120 | 11,03 ± 0,04 | 88,97 ± 0,04 | 2,13 ± 0,01 | 93,27 ± 1,28 | 12,20 ± 0,05 | 4,10 ± 0,12 |
| 121 | 10,54 ± 0,01 | 89,46 ± 0,01 | 2,12 ± 0,01 | 79,34 ± 0,23 | 12,83 ± 0,00 | 4,37 ± 0,21 |
| 122 | 10,48 ± 0,00 | 89,52 ± 0,00 | 1,83 ± 0,03 | 87,16 ± 0,82 | 14,23 ± 0,11 | 5,39 ± 0,07 |
| 123 | 10,37 ± 0,01 | 89,63 ± 0,01 | 2,21 ± 0,00 | 67,64 ± 0,65 | 13,67 ± 0,06 | 4,88 ± 0,03 |
| 124 | 10,57 ± 0,01 | 89,43 ± 0,01 | 2,15 ± 0,01 | 80,63 ± 0,33 | 12,92 ± 0,01 | 4,04 ± 0,03 |
| 125 | 10,32 ± 0,01 | 89,68 ± 0,01 | 2,12 ± 0,01 | 77,82 ± 0,12 | 12,73 ± 0,01 | 5,68 ± 0,09 |
| 126 | 10,51 ± 0,00 | 89,49 ± 0,00 | 1,17 ± 0,08 | 85,31 ± 0,68 | 11,25 ± 0,12 | 3,27 ± 0,09 |
| 127 | 10,36 ± 0,01 | 89,64 ± 0,01 | 2,13 ± 0,01 | 75,03 ± 0,09 | 13,15 ± 0,03 | 4,09 ± 0,03 |
| 128 | 9,73 ± 0,05  | 90,27 ± 0,05 | 1,83 ± 0,03 | 62,47 ± 1,04 | 14,32 ± 0,11 | 3,13 ± 0,10 |
| 129 | 10,00 ± 0,03 | 90,00 ± 0,03 | 1,20 ± 0,08 | 79,02 ± 0,21 | 14,04 ± 0,09 | 3,82 ± 0,05 |
| 130 | 9,88 ± 0,04  | 90,12 ± 0,04 | 1,76 ± 0,04 | 79,54 ± 0,25 | 15,97 ± 0,24 | 1,55 ± 0,22 |
| 131 | 10,00 ± 0,03 | 90,00 ± 0,03 | 2,42 ± 0,01 | 81,86 ± 0,42 | 12,80 ± 0,00 | 3,73 ± 0,05 |
| 132 | 10,43 ± 0,00 | 89,57 ± 0,00 | 2,55 ± 0,02 | 79,46 ± 0,24 | 14,64 ± 0,14 | 4,85 ± 0,03 |
| 133 | 10,20 ± 0,02 | 89,80 ± 0,02 | 2,42 ± 0,01 | 78,19 ± 0,15 | 12,65 ± 0,01 | 4,97 ± 0,04 |
| 134 | 10,29 ± 0,01 | 89,71 ± 0,01 | 2,45 ± 0,01 | 82,40 ± 0,46 | 11,47 ± 0,10 | 3,46 ± 0,07 |
| 135 | 10,19 ± 0,02 | 89,81 ± 0,02 | 2,36 ± 0,01 | 78,47 ± 0,17 | 15,80 ± 0,23 | 3,99 ± 0,03 |
| 136 | 10,70 ± 0,02 | 89,30 ± 0,02 | 2,46 ± 0,02 | 83,10 ± 0,52 | 10,05 ± 0,21 | 3,71 ± 0,06 |
| 137 | 10,36 ± 0,01 | 89,64 ± 0,01 | 2,67 ± 0,03 | 70,94 ± 0,40 | 13,31 ± 0,04 | 3,47 ± 0,07 |
| 138 | 10,59 ± 0,01 | 89,41 ± 0,01 | 2,74 ± 0,04 | 79,73 ± 0,26 | 12,24 ± 0,04 | 2,49 ± 0,15 |
| 139 | 10,67 ± 0,02 | 89,33 ± 0,02 | 2,20 ± 0,00 | 69,11 ± 0,54 | 12,75 ± 0,00 | 4,30 ± 0,01 |
| 140 | 10,73 ± 0,02 | 89,27 ± 0,02 | 2,24 ± 0,00 | 84,52 ± 0,62 | 12,26 ± 0,04 | 4,37 ± 0,01 |
| 141 | 10,53 ± 0,01 | 89,47 ± 0,01 | 2,56 ± 0,02 | 73,70 ± 0,19 | 12,00 ± 0,06 | 4,85 ± 0,03 |
| 142 | 10,24 ± 0,02 | 89,76 ± 0,02 | 2,51 ± 0,02 | 74,64 ± 0,12 | 14,84 ± 0,15 | 4,02 ± 0,03 |
| 143 | 10,71 ± 0,02 | 89,29 ± 0,02 | 2,37 ± 0,01 | 69,39 ± 0,52 | 12,33 ± 0,04 | 4,99 ± 0,04 |
| 144 | 9,97 ± 0,04  | 90,03 ± 0,04 | 1,70 ± 0,04 | 74,86 ± 0,11 | 10,31 ± 0,19 | 4,53 ± 0,01 |
| 145 | 10,06 ± 0,03 | 89,94 ± 0,03 | 1,66 ± 0,04 | 77,29 ± 0,08 | 12,27 ± 0,04 | 5,00 ± 0,04 |

|     |              |              |             |              |              |             |
|-----|--------------|--------------|-------------|--------------|--------------|-------------|
| 146 | 10,45 ± 0,00 | 89,55 ± 0,00 | 2,62 ± 0,03 | 62,74 ± 1,02 | 12,52 ± 0,02 | 6,44 ± 0,15 |
| 147 | 10,81 ± 0,03 | 89,19 ± 0,03 | 2,21 ± 0,00 | 74,68 ± 0,12 | 12,48 ± 0,03 | 6,32 ± 0,14 |
| 148 | 10,34 ± 0,01 | 89,66 ± 0,01 | 2,14 ± 0,01 | 81,14 ± 0,37 | 10,11 ± 0,20 | 4,85 ± 0,24 |
| 149 | 10,36 ± 0,01 | 89,64 ± 0,01 | 2,26 ± 0,00 | 78,59 ± 0,18 | 9,80 ± 0,23  | 5,25 ± 0,06 |
| 150 | 10,14 ± 0,02 | 89,86 ± 0,02 | 2,59 ± 0,02 | 73,64 ± 0,20 | 9,96 ± 0,21  | 5,81 ± 0,10 |
| 151 | 10,40 ± 0,00 | 89,60 ± 0,00 | 2,03 ± 0,02 | 72,84 ± 0,26 | 8,67 ± 0,31  | 4,44 ± 0,31 |
| 152 | 10,23 ± 0,02 | 89,77 ± 0,02 | 1,23 ± 0,08 | 70,08 ± 0,47 | 13,44 ± 0,05 | 4,94 ± 0,04 |
| 153 | 10,23 ± 0,02 | 89,77 ± 0,02 | 2,56 ± 0,02 | 75,53 ± 0,06 | 12,40 ± 0,03 | 5,80 ± 0,10 |
| 154 | 10,59 ± 0,01 | 89,41 ± 0,01 | 2,42 ± 0,01 | 74,49 ± 0,13 | 14,15 ± 0,10 | 4,66 ± 0,02 |
| 155 | 10,20 ± 0,02 | 89,80 ± 0,02 | 2,17 ± 0,01 | 75,06 ± 0,09 | 12,89 ± 0,01 | 4,77 ± 0,02 |
| 156 | 10,32 ± 0,01 | 89,68 ± 0,01 | 2,43 ± 0,01 | 76,79 ± 0,04 | 12,57 ± 0,02 | 5,73 ± 0,10 |
| 157 | 9,94 ± 0,04  | 90,06 ± 0,04 | 2,72 ± 0,03 | 72,63 ± 0,27 | 13,69 ± 0,07 | 4,96 ± 0,04 |
| 158 | 10,27 ± 0,01 | 89,73 ± 0,01 | 2,97 ± 0,05 | 74,81 ± 0,11 | 19,76 ± 0,52 | 5,31 ± 0,07 |
| 159 | 9,15 ± 0,10  | 90,85 ± 0,10 | 2,41 ± 0,01 | 70,72 ± 0,42 | 12,64 ± 0,01 | 6,40 ± 0,15 |
| 160 | 9,60 ± 0,06  | 90,40 ± 0,06 | 2,65 ± 0,03 | 76,47 ± 0,02 | 14,60 ± 0,14 | 5,78 ± 0,10 |
| 161 | 9,35 ± 0,08  | 90,65 ± 0,08 | 1,86 ± 0,03 | 79,47 ± 0,24 | 12,07 ± 0,06 | 5,58 ± 0,09 |
| 162 | 9,80 ± 0,05  | 90,20 ± 0,05 | 2,28 ± 0,00 | 77,12 ± 0,07 | 15,06 ± 0,17 | 5,11 ± 0,05 |
| 163 | 9,85 ± 0,05  | 90,15 ± 0,05 | 2,30 ± 0,00 | 72,66 ± 0,27 | 12,86 ± 0,00 | 5,84 ± 0,11 |
| 164 | 9,73 ± 0,05  | 90,27 ± 0,05 | 2,33 ± 0,01 | 87,90 ± 0,88 | 13,13 ± 0,02 | 4,41 ± 0,00 |
| 165 | 10,33 ± 0,01 | 89,67 ± 0,01 | 2,39 ± 0,01 | 73,36 ± 0,22 | 12,47 ± 0,03 | 4,19 ± 0,02 |
| 166 | 10,03 ± 0,03 | 89,97 ± 0,03 | 1,63 ± 0,05 | 80,78 ± 0,34 | 11,98 ± 0,06 | 4,68 ± 0,02 |
| 167 | 9,69 ± 0,06  | 90,31 ± 0,06 | 2,01 ± 0,02 | 72,12 ± 0,31 | 12,33 ± 0,04 | 3,55 ± 0,07 |
| 168 | 10,15 ± 0,02 | 89,85 ± 0,02 | 2,25 ± 0,00 | 77,87 ± 0,12 | 11,68 ± 0,08 | 3,65 ± 0,06 |
| 169 | 9,97 ± 0,04  | 90,03 ± 0,04 | 2,06 ± 0,01 | 73,70 ± 0,19 | 12,36 ± 0,03 | 3,92 ± 0,04 |
| 170 | 9,73 ± 0,05  | 90,27 ± 0,05 | 1,99 ± 0,02 | 70,06 ± 0,47 | 14,59 ± 0,13 | 4,82 ± 0,07 |
| 171 | 10,44 ± 0,00 | 89,56 ± 0,00 | 2,47 ± 0,02 | 68,15 ± 0,61 | 10,54 ± 0,17 | 3,99 ± 0,13 |
| 173 | 10,66 ± 0,02 | 89,34 ± 0,02 | 2,65 ± 0,03 | 80,23 ± 0,30 | 12,47 ± 0,03 | 5,22 ± 0,16 |
| 174 | 9,83 ± 0,05  | 90,17 ± 0,05 | 2,56 ± 0,02 | 74,30 ± 0,15 | 14,94 ± 0,16 | 5,25 ± 0,19 |
| 175 | 10,84 ± 0,03 | 89,16 ± 0,03 | 2,10 ± 0,01 | 84,69 ± 0,64 | 9,50 ± 0,25  | 4,86 ± 0,11 |
| 176 | 9,88 ± 0,04  | 90,12 ± 0,04 | 1,83 ± 0,03 | 81,53 ± 0,40 | 11,09 ± 0,13 | 4,22 ± 0,30 |
| 177 | 10,21 ± 0,02 | 89,79 ± 0,02 | 2,40 ± 0,01 | 79,74 ± 0,26 | 12,47 ± 0,03 | 5,74 ± 0,05 |
| 178 | 10,79 ± 0,03 | 89,21 ± 0,03 | 2,02 ± 0,02 | 75,54 ± 0,05 | 10,39 ± 0,18 | 4,75 ± 0,12 |

**Prilog 2b.** Sadržaj ukupnih polifenola (TP), tanina (TT), proantocijanidina (ProA), flavonoida (TF) i antocijana (TA) u metanolnom (MeOH) i acetonskom (A) ekstraktu sirka i antioksidativna aktivnost ( $\bar{X} \pm SD$ ) izraženi kao % u odnosu na apsolutno suhu masu semena (s.m.).

| Uzorak | TP MeOH     | TT MeOH     | TF MeOH     | TA MeOH     | TP A        | TT A        | Pro A       | DPPH         |
|--------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|--------------|
| 1      | 0,16 ± 0,00 | 0,10 ± 0,01 | 0,03 ± 0,00 | 0,01 ± 0,00 | 0,26 ± 0,03 | 0,09 ± 0,03 | 0,02 ± 0,00 | 47,42 ± 0,14 |
| 2      | 0,44 ± 0,07 | 0,38 ± 0,08 | 0,03 ± 0,00 | 0,00 ± 0,00 | 0,57 ± 0,01 | 0,42 ± 0,01 | 0,51 ± 0,05 | 75,30 ± 0,42 |
| 3      | 0,14 ± 0,02 | 0,08 ± 0,01 | 0,02 ± 0,00 | 0,01 ± 0,00 | 0,25 ± 0,01 | 0,13 ± 0,02 | 0,06 ± 0,00 | 48,12 ± 5,47 |
| 4      | 0,19 ± 0,04 | 0,11 ± 0,03 | 0,03 ± 0,00 | 0,01 ± 0,00 | 0,35 ± 0,07 | 0,15 ± 0,04 | 0,02 ± 0,00 | 55,80 ± 1,05 |
| 5      | 0,15 ± 0,05 | 0,07 ± 0,04 | 0,03 ± 0,01 | 0,01 ± 0,00 | 0,26 ± 0,00 | 0,10 ± 0,00 | 0,01 ± 0,00 | 42,51 ± 1,47 |
| 7      | 0,17 ± 0,02 | 0,10 ± 0,02 | 0,03 ± 0,00 | 0,02 ± 0,00 | 0,38 ± 0,03 | 0,16 ± 0,05 | 0,03 ± 0,00 | 45,54 ± 0,98 |
| 8      | 0,11 ± 0,03 | 0,06 ± 0,02 | 0,03 ± 0,01 | 0,00 ± 0,00 | 0,23 ± 0,03 | 0,09 ± 0,06 | 0,01 ± 0,00 | 70,19 ± 0,49 |
| 9      | 0,15 ± 0,02 | 0,09 ± 0,02 | 0,03 ± 0,01 | 0,01 ± 0,00 | 0,38 ± 0,06 | 0,19 ± 0,06 | 0,03 ± 0,00 | 58,43 ± 2,95 |
| 10     | 0,13 ± 0,02 | 0,06 ± 0,01 | 0,02 ± 0,00 | 0,01 ± 0,00 | 0,27 ± 0,03 | 0,10 ± 0,02 | 0,02 ± 0,00 | 68,95 ± 1,82 |
| 11     | 0,17 ± 0,03 | 0,10 ± 0,02 | 0,03 ± 0,00 | 0,01 ± 0,00 | 0,31 ± 0,02 | 0,15 ± 0,03 | 0,08 ± 0,01 | 59,62 ± 1,26 |
| 12     | 0,17 ± 0,00 | 0,09 ± 0,00 | 0,03 ± 0,00 | 0,00 ± 0,00 | 0,27 ± 0,05 | 0,10 ± 0,05 | 0,02 ± 0,00 | 48,91 ± 1,40 |
| 13     | 0,13 ± 0,01 | 0,06 ± 0,01 | 0,01 ± 0,00 | 0,01 ± 0,00 | 0,27 ± 0,04 | 0,12 ± 0,03 | 0,01 ± 0,00 | 34,42 ± 1,26 |
| 15     | 0,18 ± 0,03 | 0,10 ± 0,02 | 0,01 ± 0,00 | 0,01 ± 0,00 | 0,35 ± 0,01 | 0,19 ± 0,00 | 0,03 ± 0,00 | 54,96 ± 0,84 |
| 16     | 0,66 ± 0,03 | 0,57 ± 0,04 | 0,02 ± 0,00 | 0,01 ± 0,00 | 1,07 ± 0,22 | 0,72 ± 0,19 | 0,95 ± 0,01 | 82,66 ± 0,49 |
| 17     | 0,18 ± 0,01 | 0,10 ± 0,00 | 0,01 ± 0,01 | 0,01 ± 0,00 | 0,30 ± 0,01 | 0,17 ± 0,01 | 0,08 ± 0,00 | 53,42 ± 0,91 |
| 18     | 0,54 ± 0,03 | 0,47 ± 0,03 | 0,01 ± 0,00 | 0,00 ± 0,00 | 0,65 ± 0,06 | 0,52 ± 0,05 | 0,62 ± 0,00 | 82,44 ± 1,12 |
| 19     | 0,53 ± 0,05 | 0,45 ± 0,04 | 0,01 ± 0,00 | 0,00 ± 0,00 | 1,34 ± 0,01 | 0,00 ± 0,00 | 0,67 ± 0,02 | 81,20 ± 0,35 |
| 20     | 0,38 ± 0,01 | 0,32 ± 0,01 | 0,01 ± 0,00 | 0,00 ± 0,00 | 0,77 ± 0,01 | 0,00 ± 0,00 | 0,31 ± 0,02 | 72,43 ± 2,24 |
| 22     | 0,13 ± 0,01 | 0,06 ± 0,01 | 0,01 ± 0,00 | 0,00 ± 0,00 | 0,34 ± 0,04 | 0,00 ± 0,00 | 0,08 ± 0,00 | 65,72 ± 0,49 |
| 23     | 0,15 ± 0,02 | 0,08 ± 0,02 | 0,01 ± 0,00 | 0,00 ± 0,00 | 0,34 ± 0,00 | 0,13 ± 0,07 | 0,08 ± 0,00 | 63,10 ± 1,40 |
| 24     | 0,16 ± 0,01 | 0,08 ± 0,01 | 0,02 ± 0,00 | 0,01 ± 0,00 | 0,42 ± 0,02 | 0,10 ± 0,01 | 0,05 ± 0,00 | 60,37 ± 0,35 |
| 25     | 0,19 ± 0,07 | 0,11 ± 0,04 | 0,02 ± 0,00 | 0,01 ± 0,00 | 0,53 ± 0,00 | 0,26 ± 0,07 | 0,06 ± 0,00 | 53,03 ± 1,75 |
| 26     | 0,09 ± 0,00 | 0,04 ± 0,00 | 0,02 ± 0,01 | 0,01 ± 0,00 | 0,37 ± 0,01 | 0,09 ± 0,01 | 0,04 ± 0,00 | 61,86 ± 0,91 |
| 27     | 0,07 ± 0,01 | 0,03 ± 0,01 | 0,01 ± 0,00 | 0,01 ± 0,00 | 0,35 ± 0,00 | 0,07 ± 0,01 | 0,04 ± 0,00 | 70,73 ± 1,26 |
| 28     | 0,14 ± 0,04 | 0,06 ± 0,02 | 0,02 ± 0,00 | 0,01 ± 0,00 | 0,36 ± 0,00 | 0,10 ± 0,02 | 0,04 ± 0,00 | 62,35 ± 1,61 |
| 29     | 0,11 ± 0,02 | 0,06 ± 0,01 | 0,01 ± 0,00 | 0,00 ± 0,00 | 0,32 ± 0,01 | 0,07 ± 0,09 | 0,04 ± 0,00 | 47,37 ± 1,47 |
| 30     | 0,12 ± 0,04 | 0,06 ± 0,02 | 0,01 ± 0,00 | 0,01 ± 0,00 | 0,38 ± 0,04 | 0,13 ± 0,12 | 0,07 ± 0,00 | 65,18 ± 3,51 |
| 31     | 0,10 ± 0,00 | 0,04 ± 0,01 | 0,01 ± 0,00 | 0,00 ± 0,00 | 0,36 ± 0,02 | 0,18 ± 0,02 | 0,05 ± 0,00 | 58,53 ± 2,53 |
| 32     | 0,09 ± 0,00 | 0,03 ± 0,00 | 0,01 ± 0,00 | 0,00 ± 0,00 | 0,28 ± 0,03 | 0,09 ± 0,01 | 0,03 ± 0,00 | 51,44 ± 0,35 |
| 33     | 0,15 ± 0,06 | 0,07 ± 0,03 | 0,02 ± 0,00 | 0,01 ± 0,00 | 0,42 ± 0,04 | 0,09 ± 0,13 | 0,05 ± 0,00 | 56,94 ± 1,54 |

|    |             |             |             |             |             |             |             |              |
|----|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|--------------|
| 34 | 0,14 ± 0,02 | 0,07 ± 0,02 | 0,02 ± 0,00 | 0,00 ± 0,00 | 0,31 ± 0,04 | 0,09 ± 0,12 | 0,08 ± 0,00 | 51,44 ± 1,19 |
| 35 | 0,12 ± 0,00 | 0,05 ± 0,00 | 0,01 ± 0,00 | 0,00 ± 0,00 | 0,35 ± 0,01 | 0,18 ± 0,00 | 0,06 ± 0,00 | 52,88 ± 1,12 |
| 36 | 0,08 ± 0,03 | 0,03 ± 0,02 | 0,01 ± 0,00 | 0,00 ± 0,00 | 0,23 ± 0,01 | 0,06 ± 0,00 | 0,01 ± 0,00 | 57,44 ± 1,12 |
| 37 | 0,14 ± 0,03 | 0,08 ± 0,02 | 0,01 ± 0,00 | 0,01 ± 0,00 | 0,42 ± 0,00 | 0,21 ± 0,00 | 0,05 ± 0,00 | 53,27 ± 0,28 |
| 38 | 0,09 ± 0,01 | 0,04 ± 0,00 | 0,01 ± 0,00 | 0,00 ± 0,00 | 0,26 ± 0,02 | 0,10 ± 0,01 | 0,01 ± 0,00 | 59,23 ± 1,68 |
| 39 | 0,09 ± 0,01 | 0,04 ± 0,01 | 0,01 ± 0,00 | 0,00 ± 0,00 | 0,25 ± 0,00 | 0,09 ± 0,01 | 0,01 ± 0,00 | 51,34 ± 0,91 |
| 40 | 0,11 ± 0,02 | 0,07 ± 0,02 | 0,02 ± 0,00 | 0,00 ± 0,00 | 0,28 ± 0,03 | 0,12 ± 0,02 | 0,01 ± 0,00 | 59,72 ± 1,40 |
| 41 | 0,14 ± 0,01 | 0,07 ± 0,01 | 0,02 ± 0,00 | 0,00 ± 0,00 | 0,38 ± 0,03 | 0,22 ± 0,03 | 0,02 ± 0,00 | 50,05 ± 0,35 |
| 42 | 0,15 ± 0,00 | 0,08 ± 0,00 | 0,02 ± 0,00 | 0,01 ± 0,00 | 0,39 ± 0,01 | 0,20 ± 0,00 | 0,04 ± 0,00 | 54,91 ± 1,61 |
| 43 | 0,11 ± 0,01 | 0,06 ± 0,01 | 0,02 ± 0,00 | 0,00 ± 0,00 | 0,30 ± 0,02 | 0,13 ± 0,00 | 0,01 ± 0,00 | 48,31 ± 0,42 |
| 44 | 0,36 ± 0,01 | 0,30 ± 0,00 | 0,02 ± 0,00 | 0,00 ± 0,00 | 0,81 ± 0,05 | 0,62 ± 0,07 | 0,26 ± 0,01 | 66,72 ± 0,91 |
| 45 | 0,62 ± 0,01 | 0,56 ± 0,03 | 0,02 ± 0,01 | 0,01 ± 0,00 | 1,00 ± 0,05 | 0,85 ± 0,03 | 0,52 ± 0,02 | 87,15 ± 0,77 |
| 46 | 0,14 ± 0,04 | 0,08 ± 0,03 | 0,02 ± 0,00 | 0,00 ± 0,00 | 0,25 ± 0,03 | 0,11 ± 0,04 | 0,04 ± 0,00 | 62,00 ± 2,10 |
| 47 | 0,15 ± 0,00 | 0,09 ± 0,00 | 0,04 ± 0,00 | 0,00 ± 0,00 | 0,41 ± 0,03 | 0,23 ± 0,02 | 0,01 ± 0,00 | 56,40 ± 2,03 |
| 48 | 0,73 ± 0,01 | 0,61 ± 0,05 | 0,03 ± 0,01 | 0,01 ± 0,00 | 1,49 ± 0,07 | 1,19 ± 0,06 | 0,70 ± 0,02 | 86,01 ± 0,42 |
| 49 | 0,16 ± 0,01 | 0,07 ± 0,01 | 0,04 ± 0,00 | 0,00 ± 0,00 | 0,38 ± 0,04 | 0,18 ± 0,06 | 0,05 ± 0,00 | 56,45 ± 2,39 |
| 50 | 0,23 ± 0,08 | 0,16 ± 0,06 | 0,04 ± 0,00 | 0,00 ± 0,00 | 0,59 ± 0,04 | 0,43 ± 0,04 | 0,19 ± 0,00 | 60,62 ± 1,82 |
| 51 | 0,18 ± 0,01 | 0,07 ± 0,01 | 0,02 ± 0,00 | 0,01 ± 0,00 | 0,44 ± 0,06 | 0,21 ± 0,05 | 0,06 ± 0,00 | 50,00 ± 0,98 |
| 52 | 0,11 ± 0,03 | 0,03 ± 0,01 | 0,01 ± 0,00 | 0,00 ± 0,00 | 0,31 ± 0,01 | 0,16 ± 0,02 | 0,03 ± 0,00 | 58,53 ± 1,12 |
| 53 | 0,10 ± 0,00 | 0,02 ± 0,01 | 0,01 ± 0,00 | 0,00 ± 0,00 | 0,29 ± 0,01 | 0,11 ± 0,03 | 0,02 ± 0,00 | 59,62 ± 1,40 |
| 54 | 0,13 ± 0,00 | 0,04 ± 0,02 | 0,02 ± 0,00 | 0,00 ± 0,00 | 0,37 ± 0,01 | 0,19 ± 0,05 | 0,02 ± 0,00 | 54,61 ± 1,33 |
| 55 | 0,19 ± 0,02 | 0,09 ± 0,04 | 0,02 ± 0,00 | 0,01 ± 0,00 | 0,52 ± 0,03 | 0,27 ± 0,00 | 0,06 ± 0,01 | 56,15 ± 0,84 |
| 56 | 0,15 ± 0,00 | 0,05 ± 0,00 | 0,01 ± 0,01 | 0,01 ± 0,00 | 0,47 ± 0,03 | 0,23 ± 0,03 | 0,05 ± 0,00 | 48,21 ± 2,81 |
| 57 | 0,11 ± 0,01 | 0,04 ± 0,00 | 0,02 ± 0,00 | 0,00 ± 0,00 | 0,33 ± 0,03 | 0,16 ± 0,01 | 0,04 ± 0,00 | 52,13 ± 1,19 |
| 58 | 0,09 ± 0,00 | 0,02 ± 0,01 | 0,00 ± 0,00 | 0,00 ± 0,00 | 0,32 ± 0,07 | 0,13 ± 0,09 | 0,01 ± 0,00 | 49,95 ± 0,91 |
| 59 | 0,21 ± 0,00 | 0,11 ± 0,01 | 0,01 ± 0,00 | 0,01 ± 0,00 | 0,35 ± 0,07 | 0,06 ± 0,09 | 0,03 ± 0,00 | 62,75 ± 0,91 |
| 60 | 0,19 ± 0,01 | 0,09 ± 0,01 | 0,01 ± 0,01 | 0,00 ± 0,00 | 0,35 ± 0,01 | 0,07 ± 0,02 | 0,01 ± 0,00 | 37,45 ± 0,35 |
| 61 | 0,12 ± 0,01 | 0,05 ± 0,01 | 0,01 ± 0,01 | 0,00 ± 0,00 | 0,25 ± 0,03 | 0,06 ± 0,01 | 0,00 ± 0,00 | 43,15 ± 0,28 |
| 62 | 0,12 ± 0,04 | 0,06 ± 0,02 | 0,01 ± 0,00 | 0,00 ± 0,00 | 0,18 ± 0,01 | 0,02 ± 0,01 | 0,00 ± 0,00 | 50,69 ± 0,28 |
| 63 | 0,18 ± 0,03 | 0,06 ± 0,03 | 0,01 ± 0,00 | 0,00 ± 0,00 | 0,30 ± 0,02 | 0,08 ± 0,03 | 0,01 ± 0,00 | 56,85 ± 1,40 |
| 64 | 0,16 ± 0,00 | 0,11 ± 0,01 | 0,03 ± 0,00 | 0,01 ± 0,00 | 0,35 ± 0,03 | 0,14 ± 0,03 | 0,02 ± 0,00 | 61,36 ± 0,49 |
| 65 | 0,08 ± 0,01 | 0,04 ± 0,01 | 0,03 ± 0,00 | 0,00 ± 0,00 | 0,27 ± 0,05 | 0,09 ± 0,05 | 0,01 ± 0,00 | 63,69 ± 1,96 |
| 68 | 0,98 ± 0,12 | 0,84 ± 0,08 | 0,02 ± 0,01 | 0,00 ± 0,00 | 1,06 ± 0,08 | 0,38 ± 0,04 | 0,70 ± 0,01 | 89,03 ± 0,28 |
| 69 | 0,12 ± 0,00 | 0,06 ± 0,01 | 0,00 ± 0,00 | 0,01 ± 0,00 | 0,33 ± 0,03 | 0,12 ± 0,02 | 0,02 ± 0,00 | 63,79 ± 0,56 |



|            |             |             |             |             |             |             |             |              |
|------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|--------------|
| <b>70</b>  | 0,76 ± 0,00 | 0,61 ± 0,04 | 0,02 ± 0,00 | 0,00 ± 0,00 | 0,95 ± 0,11 | 0,23 ± 0,07 | 0,50 ± 0,01 | 86,51 ± 1,19 |
| <b>71</b>  | 0,96 ± 0,03 | 0,76 ± 0,11 | 0,03 ± 0,01 | 0,00 ± 0,00 | 1,02 ± 0,10 | 0,11 ± 0,02 | 0,61 ± 0,01 | 90,37 ± 0,07 |
| <b>72</b>  | 0,17 ± 0,01 | 0,09 ± 0,01 | 0,01 ± 0,00 | 0,00 ± 0,00 | 0,26 ± 0,00 | 0,11 ± 0,01 | 0,01 ± 0,00 | 42,36 ± 1,12 |
| <b>73</b>  | 0,17 ± 0,00 | 0,10 ± 0,01 | 0,01 ± 0,00 | 0,01 ± 0,00 | 0,34 ± 0,01 | 0,16 ± 0,02 | 0,05 ± 0,00 | 62,05 ± 1,75 |
| <b>74</b>  | 0,16 ± 0,01 | 0,08 ± 0,01 | 0,02 ± 0,01 | 0,01 ± 0,00 | 0,27 ± 0,02 | 0,12 ± 0,01 | 0,02 ± 0,00 | 59,23 ± 1,40 |
| <b>75</b>  | 0,18 ± 0,02 | 0,10 ± 0,03 | 0,03 ± 0,00 | 0,01 ± 0,00 | 0,30 ± 0,01 | 0,11 ± 0,01 | 0,02 ± 0,00 | 61,46 ± 0,21 |
| <b>76</b>  | 0,18 ± 0,00 | 0,09 ± 0,02 | 0,01 ± 0,00 | 0,01 ± 0,00 | 0,34 ± 0,02 | 0,13 ± 0,03 | 0,02 ± 0,00 | 56,35 ± 0,56 |
| <b>77</b>  | 0,15 ± 0,01 | 0,07 ± 0,01 | 0,01 ± 0,00 | 0,01 ± 0,00 | 0,34 ± 0,00 | 0,12 ± 0,01 | 0,02 ± 0,00 | 55,41 ± 1,61 |
| <b>78</b>  | 0,17 ± 0,01 | 0,09 ± 0,01 | 0,01 ± 0,00 | 0,01 ± 0,00 | 0,36 ± 0,02 | 0,16 ± 0,01 | 0,02 ± 0,00 | 56,10 ± 1,05 |
| <b>79</b>  | 0,16 ± 0,00 | 0,07 ± 0,01 | 0,01 ± 0,00 | 0,01 ± 0,00 | 0,29 ± 0,03 | 0,11 ± 0,03 | 0,02 ± 0,00 | 55,11 ± 1,33 |
| <b>80</b>  | 0,15 ± 0,00 | 0,08 ± 0,00 | 0,02 ± 0,00 | 0,01 ± 0,00 | 0,38 ± 0,02 | 0,20 ± 0,00 | 0,02 ± 0,00 | 62,10 ± 1,96 |
| <b>81</b>  | 0,18 ± 0,01 | 0,10 ± 0,01 | 0,02 ± 0,00 | 0,01 ± 0,00 | 0,34 ± 0,04 | 0,14 ± 0,01 | 0,02 ± 0,00 | 52,83 ± 1,47 |
| <b>82</b>  | 0,76 ± 0,04 | 0,64 ± 0,03 | 0,01 ± 0,00 | 0,00 ± 0,00 | 0,71 ± 0,17 | 0,40 ± 0,02 | 0,55 ± 0,02 | 89,03 ± 0,14 |
| <b>83</b>  | 0,16 ± 0,02 | 0,09 ± 0,01 | 0,01 ± 0,00 | 0,01 ± 0,00 | 0,31 ± 0,04 | 0,15 ± 0,02 | 0,02 ± 0,00 | 54,71 ± 1,75 |
| <b>84</b>  | 0,46 ± 0,06 | 0,38 ± 0,04 | 0,02 ± 0,00 | 0,00 ± 0,00 | 0,71 ± 0,07 | 0,59 ± 0,08 | 0,41 ± 0,04 | 84,23 ± 0,56 |
| <b>85</b>  | 0,16 ± 0,00 | 0,08 ± 0,01 | 0,02 ± 0,00 | 0,00 ± 0,00 | 0,30 ± 0,02 | 0,15 ± 0,02 | 0,05 ± 0,01 | 48,76 ± 2,31 |
| <b>86</b>  | 0,61 ± 0,22 | 0,41 ± 0,10 | 0,02 ± 0,00 | 0,01 ± 0,00 | 1,57 ± 0,45 | 1,12 ± 0,29 | 0,75 ± 0,02 | 83,70 ± 0,42 |
| <b>87</b>  | 0,11 ± 0,06 | 0,05 ± 0,04 | 0,02 ± 0,01 | 0,00 ± 0,00 | 0,25 ± 0,01 | 0,09 ± 0,00 | 0,02 ± 0,00 | 41,82 ± 0,21 |
| <b>88</b>  | 0,11 ± 0,03 | 0,02 ± 0,01 | 0,01 ± 0,00 | 0,00 ± 0,00 | 0,18 ± 0,02 | 0,07 ± 0,02 | 0,01 ± 0,00 | 50,64 ± 1,75 |
| <b>89</b>  | 1,07 ± 0,01 | 0,78 ± 0,10 | 0,03 ± 0,00 | 0,00 ± 0,00 | 1,71 ± 0,06 | 1,43 ± 0,11 | 1,04 ± 0,02 | 87,30 ± 0,56 |
| <b>90</b>  | 1,13 ± 0,15 | 0,80 ± 0,07 | 0,03 ± 0,00 | 0,00 ± 0,00 | 1,48 ± 0,04 | 1,21 ± 0,00 | 0,84 ± 0,18 | 89,34 ± 0,21 |
| <b>91</b>  | 0,15 ± 0,01 | 0,07 ± 0,01 | 0,02 ± 0,01 | 0,00 ± 0,00 | 0,33 ± 0,07 | 0,17 ± 0,06 | 0,02 ± 0,00 | 51,88 ± 1,40 |
| <b>92</b>  | 0,12 ± 0,01 | 0,04 ± 0,02 | 0,01 ± 0,00 | 0,00 ± 0,00 | 0,21 ± 0,03 | 0,07 ± 0,01 | 0,00 ± 0,00 | 51,93 ± 1,47 |
| <b>93</b>  | 0,15 ± 0,01 | 0,06 ± 0,00 | 0,03 ± 0,00 | 0,00 ± 0,00 | 0,26 ± 0,02 | 0,10 ± 0,04 | 0,01 ± 0,00 | 49,26 ± 1,75 |
| <b>94</b>  | 0,27 ± 0,01 | 0,18 ± 0,01 | 0,01 ± 0,00 | 0,01 ± 0,00 | 0,53 ± 0,02 | 0,33 ± 0,02 | 0,07 ± 0,00 | 59,08 ± 2,17 |
| <b>95</b>  | 0,15 ± 0,03 | 0,07 ± 0,03 | 0,02 ± 0,00 | 0,00 ± 0,00 | 0,27 ± 0,05 | 0,08 ± 0,04 | 0,02 ± 0,00 | 52,38 ± 0,42 |
| <b>96</b>  | 0,14 ± 0,01 | 0,06 ± 0,01 | 0,01 ± 0,00 | 0,00 ± 0,00 | 0,22 ± 0,02 | 0,06 ± 0,03 | 0,00 ± 0,00 | 54,37 ± 1,96 |
| <b>97</b>  | 0,17 ± 0,01 | 0,09 ± 0,02 | 0,02 ± 0,00 | 0,00 ± 0,00 | 0,32 ± 0,01 | 0,12 ± 0,02 | 0,01 ± 0,00 | 51,19 ± 0,84 |
| <b>98</b>  | 0,14 ± 0,00 | 0,07 ± 0,00 | 0,02 ± 0,01 | 0,00 ± 0,00 | 0,24 ± 0,03 | 0,03 ± 0,01 | 0,02 ± 0,00 | 58,53 ± 0,84 |
| <b>99</b>  | 0,11 ± 0,01 | 0,04 ± 0,00 | 0,02 ± 0,00 | 0,00 ± 0,00 | 0,20 ± 0,02 | 0,06 ± 0,02 | 0,01 ± 0,00 | 61,21 ± 0,98 |
| <b>100</b> | 0,12 ± 0,00 | 0,05 ± 0,00 | 0,02 ± 0,01 | 0,00 ± 0,00 | 0,18 ± 0,01 | 0,04 ± 0,03 | 0,01 ± 0,00 | 54,27 ± 1,82 |
| <b>101</b> | 0,11 ± 0,00 | 0,05 ± 0,01 | 0,01 ± 0,01 | 0,00 ± 0,00 | 0,26 ± 0,02 | 0,09 ± 0,03 | 0,02 ± 0,00 | 56,65 ± 1,26 |
| <b>102</b> | 0,11 ± 0,01 | 0,03 ± 0,00 | 0,02 ± 0,00 | 0,00 ± 0,00 | 0,20 ± 0,01 | 0,04 ± 0,01 | 0,00 ± 0,00 | 49,70 ± 0,70 |
| <b>103</b> | 0,16 ± 0,02 | 0,07 ± 0,02 | 0,01 ± 0,00 | 0,01 ± 0,00 | 0,33 ± 0,03 | 0,13 ± 0,01 | 0,02 ± 0,00 | 57,74 ± 1,12 |

|     |             |             |             |             |             |             |             |              |
|-----|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|--------------|
| 104 | 0,12 ± 0,00 | 0,05 ± 0,01 | 0,01 ± 0,00 | 0,00 ± 0,00 | 0,19 ± 0,02 | 0,02 ± 0,00 | 0,01 ± 0,00 | 59,63 ± 0,21 |
| 105 | 0,13 ± 0,01 | 0,05 ± 0,01 | 0,01 ± 0,00 | 0,00 ± 0,00 | 0,21 ± 0,02 | 0,07 ± 0,00 | 0,01 ± 0,00 | 56,75 ± 0,56 |
| 106 | 0,13 ± 0,00 | 0,06 ± 0,01 | 0,01 ± 0,00 | 0,00 ± 0,00 | 0,27 ± 0,04 | 0,09 ± 0,04 | 0,02 ± 0,00 | 50,64 ± 1,33 |
| 107 | 0,16 ± 0,01 | 0,08 ± 0,00 | 0,02 ± 0,00 | 0,00 ± 0,00 | 0,29 ± 0,06 | 0,08 ± 0,04 | 0,02 ± 0,00 | 57,34 ± 0,98 |
| 108 | 0,21 ± 0,03 | 0,11 ± 0,04 | 0,02 ± 0,00 | 0,02 ± 0,00 | 0,45 ± 0,00 | 0,16 ± 0,01 | 0,04 ± 0,00 | 54,37 ± 0,56 |
| 109 | 0,10 ± 0,00 | 0,04 ± 0,01 | 0,01 ± 0,00 | 0,00 ± 0,00 | 0,14 ± 0,02 | 0,03 ± 0,01 | 0,00 ± 0,00 | 57,76 ± 2,86 |
| 110 | 0,12 ± 0,01 | 0,07 ± 0,00 | 0,01 ± 0,00 | 0,00 ± 0,00 | 0,19 ± 0,05 | 0,04 ± 0,00 | 0,01 ± 0,00 | 51,54 ± 1,05 |
| 111 | 0,19 ± 0,04 | 0,12 ± 0,04 | 0,02 ± 0,01 | 0,00 ± 0,00 | 0,35 ± 0,06 | 0,14 ± 0,08 | 0,02 ± 0,00 | 54,17 ± 0,14 |
| 112 | 0,13 ± 0,00 | 0,07 ± 0,00 | 0,00 ± 0,00 | 0,00 ± 0,00 | 0,25 ± 0,00 | 0,08 ± 0,00 | 0,01 ± 0,00 | 56,65 ± 1,40 |
| 113 | 0,11 ± 0,01 | 0,06 ± 0,01 | 0,01 ± 0,00 | 0,00 ± 0,00 | 0,19 ± 0,03 | 0,07 ± 0,01 | 0,01 ± 0,00 | 42,61 ± 1,33 |
| 114 | 0,13 ± 0,01 | 0,05 ± 0,01 | 0,02 ± 0,00 | 0,00 ± 0,00 | 0,22 ± 0,01 | 0,07 ± 0,00 | 0,01 ± 0,00 | 50,15 ± 1,89 |
| 115 | 0,13 ± 0,01 | 0,04 ± 0,01 | 0,01 ± 0,00 | 0,00 ± 0,00 | 0,20 ± 0,01 | 0,04 ± 0,02 | 0,01 ± 0,00 | 61,51 ± 0,98 |
| 116 | 0,15 ± 0,00 | 0,07 ± 0,00 | 0,01 ± 0,00 | 0,01 ± 0,00 | 0,33 ± 0,02 | 0,09 ± 0,02 | 0,02 ± 0,00 | 54,81 ± 0,77 |
| 117 | 0,75 ± 0,17 | 0,62 ± 0,16 | 0,01 ± 0,00 | 0,01 ± 0,00 | 0,96 ± 0,17 | 0,42 ± 0,06 | 0,95 ± 0,03 | 87,94 ± 0,28 |
| 118 | 0,18 ± 0,02 | 0,10 ± 0,02 | 0,01 ± 0,00 | 0,00 ± 0,00 | 0,30 ± 0,06 | 0,17 ± 0,06 | 0,09 ± 0,01 | 39,83 ± 0,35 |
| 119 | 0,64 ± 0,17 | 0,56 ± 0,19 | 0,02 ± 0,00 | 0,00 ± 0,00 | 0,80 ± 0,11 | 0,23 ± 0,14 | 0,84 ± 0,05 | 87,80 ± 0,91 |
| 120 | 0,71 ± 0,08 | 0,62 ± 0,11 | 0,01 ± 0,00 | 0,00 ± 0,00 | 0,69 ± 0,07 | 0,23 ± 0,04 | 0,84 ± 0,10 | 86,81 ± 0,77 |
| 121 | 0,54 ± 0,10 | 0,44 ± 0,13 | 0,01 ± 0,00 | 0,00 ± 0,00 | 0,84 ± 0,03 | 0,17 ± 0,02 | 0,89 ± 0,05 | 83,50 ± 1,40 |
| 122 | 0,09 ± 0,02 | 0,04 ± 0,01 | 0,01 ± 0,00 | 0,00 ± 0,00 | 0,18 ± 0,01 | 0,04 ± 0,02 | 0,00 ± 0,00 | 42,21 ± 3,30 |
| 123 | 0,09 ± 0,01 | 0,03 ± 0,00 | 0,01 ± 0,00 | 0,00 ± 0,00 | 0,21 ± 0,00 | 0,03 ± 0,04 | 0,01 ± 0,00 | 55,16 ± 2,10 |
| 124 | 0,11 ± 0,01 | 0,05 ± 0,01 | 0,02 ± 0,01 | 0,00 ± 0,00 | 0,20 ± 0,02 | 0,08 ± 0,02 | 0,00 ± 0,00 | 48,51 ± 0,28 |
| 125 | 0,17 ± 0,05 | 0,08 ± 0,03 | 0,01 ± 0,00 | 0,01 ± 0,00 | 0,35 ± 0,02 | 0,15 ± 0,01 | 0,02 ± 0,00 | 59,23 ± 1,82 |
| 126 | 0,10 ± 0,01 | 0,04 ± 0,01 | 0,01 ± 0,01 | 0,01 ± 0,00 | 0,26 ± 0,03 | 0,11 ± 0,01 | 0,01 ± 0,00 | 63,19 ± 2,31 |
| 127 | 0,11 ± 0,03 | 0,04 ± 0,02 | 0,01 ± 0,00 | 0,00 ± 0,00 | 0,26 ± 0,02 | 0,11 ± 0,04 | 0,00 ± 0,00 | 56,94 ± 2,24 |
| 128 | 0,08 ± 0,01 | 0,02 ± 0,01 | 0,00 ± 0,00 | 0,00 ± 0,00 | 0,20 ± 0,02 | 0,07 ± 0,01 | 0,00 ± 0,00 | 61,81 ± 0,56 |
| 129 | 0,09 ± 0,02 | 0,02 ± 0,02 | 0,01 ± 0,00 | 0,00 ± 0,00 | 0,17 ± 0,02 | 0,03 ± 0,01 | 0,00 ± 0,00 | 58,60 ± 1,54 |
| 130 | 0,18 ± 0,01 | 0,07 ± 0,01 | 0,05 ± 0,00 | 0,00 ± 0,00 | 0,34 ± 0,01 | 0,15 ± 0,01 | 0,00 ± 0,00 | 60,47 ± 2,17 |
| 131 | 0,12 ± 0,00 | 0,03 ± 0,00 | 0,01 ± 0,00 | 0,00 ± 0,00 | 0,23 ± 0,00 | 0,11 ± 0,02 | 0,00 ± 0,00 | 50,10 ± 2,39 |
| 132 | 0,08 ± 0,01 | 0,02 ± 0,01 | 0,01 ± 0,00 | 0,00 ± 0,00 | 0,23 ± 0,03 | 0,10 ± 0,02 | 0,00 ± 0,00 | 46,38 ± 0,35 |
| 133 | 0,12 ± 0,00 | 0,04 ± 0,02 | 0,00 ± 0,00 | 0,01 ± 0,01 | 0,28 ± 0,01 | 0,15 ± 0,03 | 0,02 ± 0,00 | 57,44 ± 2,53 |
| 134 | 0,16 ± 0,00 | 0,05 ± 0,04 | 0,04 ± 0,00 | 0,00 ± 0,00 | 0,33 ± 0,01 | 0,15 ± 0,02 | 0,00 ± 0,00 | 62,25 ± 0,77 |
| 135 | 0,10 ± 0,01 | 0,02 ± 0,01 | 0,01 ± 0,00 | 0,00 ± 0,00 | 0,23 ± 0,00 | 0,10 ± 0,01 | 0,00 ± 0,00 | 66,72 ± 1,75 |
| 136 | 0,09 ± 0,02 | 0,04 ± 0,01 | 0,00 ± 0,00 | 0,00 ± 0,00 | 0,27 ± 0,01 | 0,14 ± 0,01 | 0,05 ± 0,00 | 57,09 ± 1,61 |
| 137 | 0,12 ± 0,01 | 0,01 ± 0,01 | 0,01 ± 0,00 | 0,01 ± 0,00 | 0,32 ± 0,01 | 0,10 ± 0,00 | 0,02 ± 0,00 | 46,78 ± 0,63 |

|     |             |             |             |             |             |             |             |              |
|-----|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|--------------|
| 138 | 0,10 ± 0,00 | 0,02 ± 0,01 | 0,02 ± 0,01 | 0,00 ± 0,00 | 0,20 ± 0,00 | 0,08 ± 0,02 | 0,00 ± 0,00 | 65,82 ± 1,05 |
| 139 | 0,15 ± 0,00 | 0,04 ± 0,01 | 0,01 ± 0,00 | 0,01 ± 0,00 | 0,29 ± 0,06 | 0,10 ± 0,02 | 0,02 ± 0,00 | 54,02 ± 2,17 |
| 140 | 0,11 ± 0,01 | 0,03 ± 0,02 | 0,00 ± 0,00 | 0,00 ± 0,00 | 0,14 ± 0,00 | 0,00 ± 0,00 | 0,00 ± 0,00 | 58,53 ± 2,53 |
| 141 | 0,12 ± 0,00 | 0,02 ± 0,01 | 0,01 ± 0,00 | 0,00 ± 0,00 | 0,19 ± 0,01 | 0,07 ± 0,01 | 0,00 ± 0,00 | 44,94 ± 1,68 |
| 142 | 0,13 ± 0,01 | 0,00 ± 0,00 | 0,01 ± 0,00 | 0,00 ± 0,00 | 0,20 ± 0,03 | 0,02 ± 0,01 | 0,00 ± 0,00 | 59,97 ± 0,49 |
| 143 | 0,12 ± 0,03 | 0,01 ± 0,02 | 0,02 ± 0,00 | 0,01 ± 0,00 | 0,27 ± 0,04 | 0,05 ± 0,01 | 0,02 ± 0,00 | 49,40 ± 0,42 |
| 144 | 0,14 ± 0,01 | 0,00 ± 0,00 | 0,01 ± 0,00 | 0,01 ± 0,00 | 0,24 ± 0,01 | 0,11 ± 0,00 | 0,02 ± 0,00 | 66,52 ± 0,07 |
| 145 | 0,12 ± 0,02 | 0,06 ± 0,01 | 0,01 ± 0,00 | 0,00 ± 0,00 | 0,11 ± 0,01 | 0,01 ± 0,00 | 0,06 ± 0,07 | 62,50 ± 1,26 |
| 146 | 0,18 ± 0,03 | 0,10 ± 0,02 | 0,01 ± 0,00 | 0,00 ± 0,00 | 0,24 ± 0,01 | 0,07 ± 0,00 | 0,02 ± 0,00 | 43,20 ± 1,33 |
| 147 | 0,92 ± 0,12 | 0,76 ± 0,10 | 0,04 ± 0,00 | 0,01 ± 0,00 | 0,97 ± 0,02 | 0,00 ± 0,00 | 1,05 ± 0,04 | 88,29 ± 0,28 |
| 148 | 0,15 ± 0,03 | 0,08 ± 0,02 | 0,01 ± 0,00 | 0,01 ± 0,00 | 0,23 ± 0,02 | 0,07 ± 0,04 | 0,01 ± 0,00 | 54,22 ± 0,21 |
| 149 | 0,13 ± 0,02 | 0,06 ± 0,01 | 0,01 ± 0,00 | 0,00 ± 0,00 | 0,18 ± 0,01 | 0,05 ± 0,02 | 0,00 ± 0,00 | 54,12 ± 0,07 |
| 150 | 0,21 ± 0,01 | 0,14 ± 0,00 | 0,02 ± 0,00 | 0,00 ± 0,00 | 0,27 ± 0,01 | 0,14 ± 0,01 | 0,11 ± 0,02 | 63,29 ± 1,54 |
| 151 | 0,64 ± 0,01 | 0,57 ± 0,00 | 0,03 ± 0,00 | 0,00 ± 0,00 | 0,76 ± 0,12 | 0,38 ± 0,08 | 0,72 ± 0,06 | 85,91 ± 0,70 |
| 152 | 0,10 ± 0,02 | 0,03 ± 0,01 | 0,02 ± 0,00 | 0,00 ± 0,00 | 0,14 ± 0,00 | 0,01 ± 0,00 | 0,01 ± 0,00 | 58,88 ± 3,58 |
| 153 | 0,12 ± 0,02 | 0,06 ± 0,02 | 0,02 ± 0,00 | 0,00 ± 0,00 | 0,19 ± 0,00 | 0,03 ± 0,00 | 0,01 ± 0,00 | 45,63 ± 1,82 |
| 154 | 0,13 ± 0,00 | 0,06 ± 0,00 | 0,01 ± 0,00 | 0,00 ± 0,00 | 0,15 ± 0,06 | 0,02 ± 0,01 | 0,01 ± 0,00 | 40,13 ± 0,49 |
| 155 | 0,14 ± 0,04 | 0,08 ± 0,03 | 0,01 ± 0,00 | 0,01 ± 0,00 | 0,22 ± 0,01 | 0,07 ± 0,01 | 0,01 ± 0,00 | 49,60 ± 0,42 |
| 156 | 0,13 ± 0,01 | 0,06 ± 0,01 | 0,02 ± 0,00 | 0,00 ± 0,00 | 0,18 ± 0,02 | 0,07 ± 0,01 | 0,00 ± 0,00 | 44,00 ± 0,91 |
| 157 | 0,12 ± 0,02 | 0,06 ± 0,01 | 0,01 ± 0,00 | 0,01 ± 0,00 | 0,27 ± 0,05 | 0,13 ± 0,03 | 0,01 ± 0,00 | 47,87 ± 3,72 |
| 158 | 0,12 ± 0,02 | 0,05 ± 0,01 | 0,01 ± 0,00 | 0,01 ± 0,00 | 0,23 ± 0,04 | 0,06 ± 0,04 | 0,01 ± 0,00 | 57,84 ± 0,98 |
| 159 | 0,10 ± 0,03 | 0,03 ± 0,01 | 0,02 ± 0,00 | 0,00 ± 0,00 | 0,15 ± 0,02 | 0,00 ± 0,00 | 0,01 ± 0,00 | 44,49 ± 0,63 |
| 160 | 0,10 ± 0,00 | 0,04 ± 0,00 | 0,01 ± 0,00 | 0,00 ± 0,00 | 0,19 ± 0,02 | 0,00 ± 0,00 | 0,01 ± 0,00 | 47,82 ± 0,98 |
| 161 | 0,08 ± 0,00 | 0,02 ± 0,00 | 0,01 ± 0,00 | 0,00 ± 0,00 | 0,16 ± 0,01 | 0,03 ± 0,01 | 0,01 ± 0,00 | 52,23 ± 1,61 |
| 162 | 0,08 ± 0,02 | 0,02 ± 0,02 | 0,01 ± 0,00 | 0,00 ± 0,00 | 0,21 ± 0,00 | 0,08 ± 0,02 | 0,01 ± 0,00 | 67,36 ± 0,28 |
| 163 | 0,11 ± 0,02 | 0,04 ± 0,03 | 0,01 ± 0,00 | 0,01 ± 0,00 | 0,20 ± 0,01 | 0,06 ± 0,00 | 0,02 ± 0,00 | 53,42 ± 1,75 |
| 164 | 0,09 ± 0,01 | 0,03 ± 0,01 | 0,02 ± 0,00 | 0,00 ± 0,00 | 0,20 ± 0,01 | 0,03 ± 0,01 | 0,00 ± 0,00 | 60,22 ± 1,96 |
| 165 | 0,06 ± 0,00 | 0,01 ± 0,00 | 0,01 ± 0,00 | 0,00 ± 0,00 | 0,15 ± 0,01 | 0,02 ± 0,00 | 0,00 ± 0,00 | 49,85 ± 1,05 |
| 166 | 0,09 ± 0,00 | 0,03 ± 0,01 | 0,01 ± 0,00 | 0,00 ± 0,00 | 0,21 ± 0,01 | 0,05 ± 0,02 | 0,01 ± 0,00 | 60,81 ± 0,98 |
| 167 | 0,09 ± 0,01 | 0,03 ± 0,01 | 0,01 ± 0,00 | 0,01 ± 0,00 | 0,17 ± 0,00 | 0,00 ± 0,00 | 0,01 ± 0,00 | 25,55 ± 0,21 |
| 168 | 0,07 ± 0,02 | 0,01 ± 0,01 | 0,01 ± 0,00 | 0,00 ± 0,00 | 0,19 ± 0,01 | 0,03 ± 0,02 | 0,00 ± 0,00 | 25,69 ± 0,98 |
| 169 | 0,10 ± 0,01 | 0,03 ± 0,00 | 0,01 ± 0,00 | 0,00 ± 0,00 | 0,19 ± 0,01 | 0,00 ± 0,00 | 0,01 ± 0,00 | 64,53 ± 2,03 |
| 170 | 0,12 ± 0,00 | 0,03 ± 0,00 | 0,01 ± 0,00 | 0,00 ± 0,00 | 0,17 ± 0,02 | 0,00 ± 0,00 | 0,01 ± 0,00 | 64,43 ± 1,33 |
| 171 | 0,11 ± 0,02 | 0,04 ± 0,02 | 0,01 ± 0,00 | 0,00 ± 0,00 | 0,18 ± 0,01 | 0,00 ± 0,00 | 0,01 ± 0,00 | 59,42 ± 1,96 |

|            |             |             |             |             |             |             |             |              |
|------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|--------------|
| <b>173</b> | 0,11 ± 0,01 | 0,04 ± 0,01 | 0,01 ± 0,00 | 0,00 ± 0,00 | 0,17 ± 0,02 | 0,02 ± 0,00 | 0,01 ± 0,00 | 63,39 ± 1,40 |
| <b>174</b> | 0,13 ± 0,01 | 0,05 ± 0,01 | 0,02 ± 0,00 | 0,01 ± 0,00 | 0,22 ± 0,00 | 0,05 ± 0,00 | 0,01 ± 0,00 | 60,47 ± 1,75 |
| <b>175</b> | 0,14 ± 0,01 | 0,06 ± 0,01 | 0,01 ± 0,00 | 0,00 ± 0,00 | 0,21 ± 0,01 | 0,07 ± 0,03 | 0,02 ± 0,00 | 68,15 ± 2,10 |
| <b>176</b> | 0,14 ± 0,00 | 0,05 ± 0,01 | 0,01 ± 0,00 | 0,00 ± 0,00 | 0,18 ± 0,01 | 0,00 ± 0,00 | 0,01 ± 0,00 | 64,78 ± 1,40 |
| <b>177</b> | 0,12 ± 0,00 | 0,05 ± 0,00 | 0,01 ± 0,00 | 0,00 ± 0,00 | 0,14 ± 0,01 | 0,00 ± 0,00 | 0,00 ± 0,00 | 64,78 ± 2,10 |
| <b>178</b> | 0,09 ± 0,00 | 0,03 ± 0,00 | 0,01 ± 0,00 | 0,00 ± 0,00 | 0,13 ± 0,02 | 0,00 ± 0,00 | 0,00 ± 0,00 | 61,06 ± 1,05 |

**Prilog 3.** Leksikon deskriptora korišćen u senzornoj oceni čajnog peciva.

| ATRIBUT / DESKRIPTOR                                         |                                      |                                |
|--------------------------------------------------------------|--------------------------------------|--------------------------------|
| IZGLED                                                       | Oblik (vizuelno)                     | Neujednačenost oblika          |
|                                                              | Izgled površine (vizuelno)           | Neujednačenost površine        |
|                                                              |                                      | S2040-Y20R                     |
|                                                              |                                      | S1020-Y20R                     |
|                                                              |                                      | S0540-Y10R                     |
|                                                              |                                      | S5020-Y30R                     |
|                                                              | Boja                                 | S4040-Y30R                     |
|                                                              |                                      | S4020-Y30R                     |
|                                                              |                                      | S4020-Y20R                     |
|                                                              |                                      | S0530-Y10R                     |
| MIRIS                                                        |                                      | Neujednačenost boje            |
|                                                              |                                      | Tvrdoća (palpatorno)           |
|                                                              | Tekstura poprečnog preseka           | Mrvljivost (vizuelno)          |
|                                                              |                                      | Neujednačenost pora (vizuelno) |
|                                                              |                                      | Slatkast                       |
|                                                              |                                      | Orašast                        |
|                                                              |                                      | Maslac                         |
|                                                              |                                      | Mleko                          |
|                                                              | Nazalno                              | Biljno ulje                    |
|                                                              |                                      | Kokos                          |
| AROMA/UKUS/HEMIJSKI OSEĆAJI U<br>USTIMA/TRIGEMINALNI OSEĆAJI |                                      | Sirak                          |
|                                                              |                                      | Kakao                          |
|                                                              | Ukus: osnovni modaliteti (oralno)    | Sladak                         |
|                                                              |                                      | Gorak                          |
|                                                              |                                      | Slatkasta                      |
|                                                              |                                      | Sirak                          |
|                                                              |                                      | Integralno brašno              |
|                                                              |                                      | Skrob                          |
|                                                              |                                      | Maslac                         |
|                                                              | Nota arome                           | Biljno ulje                    |
|                                                              |                                      | Kokos                          |
|                                                              |                                      | Oporo                          |
|                                                              |                                      | Opšti utisak                   |
|                                                              |                                      | Postojanost                    |
|                                                              |                                      | Naknadna aroma                 |
|                                                              | Početni zalogaj (palpatorno/dodirom) | Lomljivost                     |
|                                                              |                                      | Tvrdoća                        |
|                                                              |                                      |                                |
|                                                              | Taktilne osobine (oralno)            | Hrskavost                      |
|                                                              |                                      | Zrnasto                        |

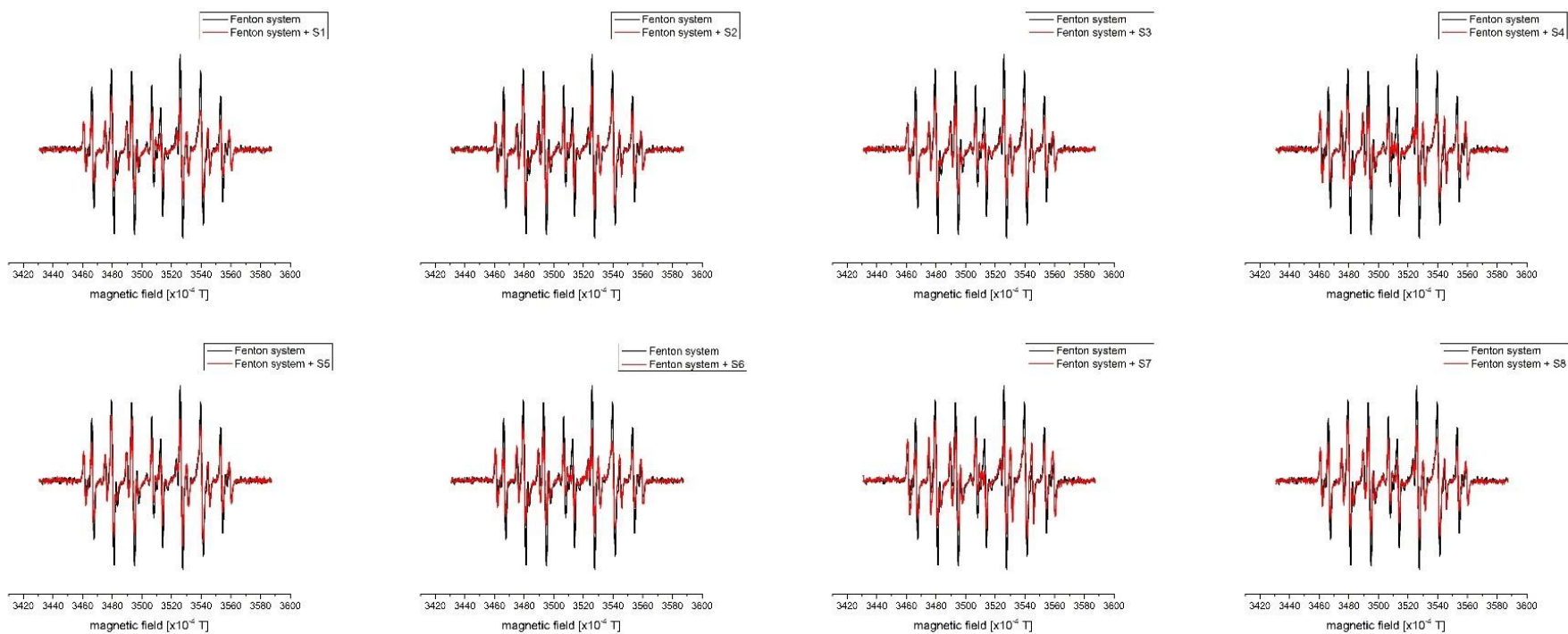
**Lepljivost**  
**Tvrdoća**  
**Žvakljivost**  
**Lomljivost**  
**Suvoća**  
**Masnoća**  
**Kredast osećaj u ustima (naknadni osećaj)**  
**Masni premaz u ustima (naknadni osećaj)**

**Prilog 4.** Kvalitativni i kvantitativni sastav fenolnih jedinjenja ( $\bar{X} \pm SD$ ) prisutnih u ispitivanim uzorcima izraženo kao  $\mu\text{g g}^{-1}$ .

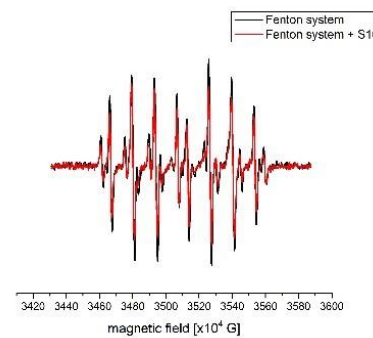
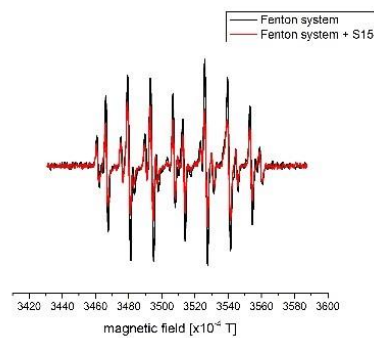
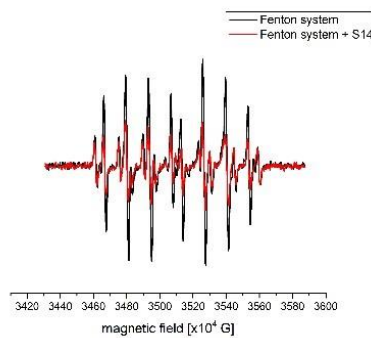
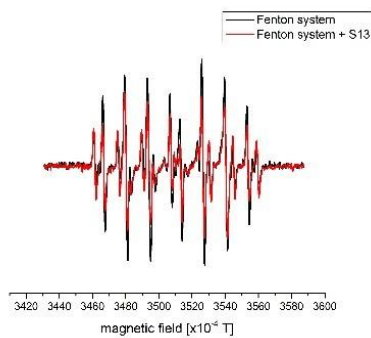
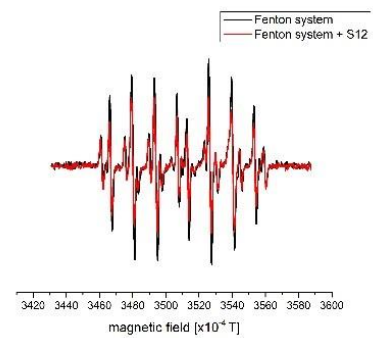
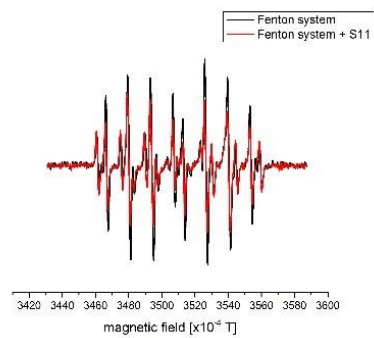
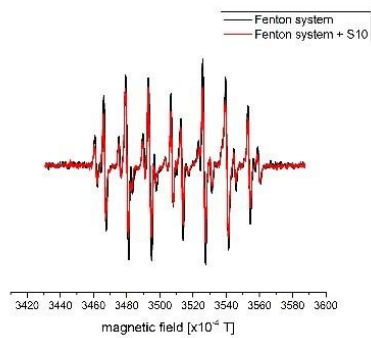
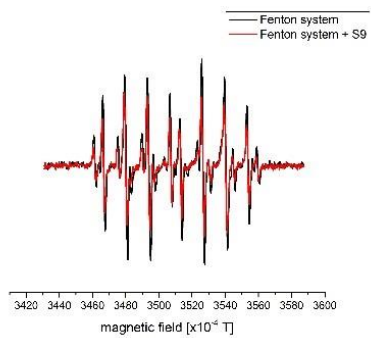
| Uzorak | Luteolinidin | Derivat cijanidina | Apigeninidin | 5-metoksiluteolinidin | 7-metoksiapigeninidin | Apigeninidin glukozid | Derivat luteolidina 1 | Derivat luteolidina 2 | Luteolidin glukozid |
|--------|--------------|--------------------|--------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|---------------------|
| S1     | 2,44±0,00    | 0,65±0,13          | 5,24±0,12    | 1,94±0,10             | 4,12±0,11             | <i>n.d.</i>           | <i>n.d.</i>           | <i>n.d.</i>           | <i>n.d.</i>         |
| S2     | <i>n.d.</i>  | 2,22±0,10          | <i>n.d.</i>  | <i>n.d.</i>           | <i>n.d.</i>           | 12,15±0,22            | 0,84±0,07             | 0,78±0,07             | <i>n.d.</i>         |
| S3     | 3,28±0,00    | <i>n.d.</i>        | 3,28±0,00    | 3,36±0,65             | 3,85±0,02             | 6,28±0,57             | <i>n.d.</i>           | <i>n.d.</i>           | <i>n.d.</i>         |
| S4     | 5,99±0,11    | 4,22±0,32          | 6,88±0,35    | 8,23±0,25             | 5,28±0,22             | <i>n.d.</i>           | <i>n.d.</i>           | <i>n.d.</i>           | <i>n.d.</i>         |
| S5     | <i>n.d.</i>  | 3,26±0,31          | <i>n.d.</i>  | <i>n.d.</i>           | <i>n.d.</i>           | 12,06±0,62            | 0,92±0,06             | 0,84±0,08             | 0,87±0,08           |
| S6     | <i>n.d.</i>  | 5,72±0,10          | <i>n.d.</i>  | <i>n.d.</i>           | <i>n.d.</i>           | 9,98±0,06             | 0,93±0,07             | 0,74±0,09             | 1,32±0,21           |
| S7     | 5,52±0,42    | 3,20±0,24          | 7,13±0,02    | 5,47±0,38             | 5,02±0,10             | 2,64±0,07             | <i>n.d.</i>           | <i>n.d.</i>           | 2,03±0,03           |
| S8     | 24,85±1,42   | 6,74±0,17          | 34,20±3,65   | 15,72±1,39            | 9,72±0,09             | 13,49±0,64            | <i>n.d.</i>           | <i>n.d.</i>           | 2,42±0,09           |
| S9     | 2,31±0,08    | <i>n.d.</i>        | <i>n.d.</i>  | 2,30±0,08             | <i>n.d.</i>           | 2,77±0,22             | <i>n.d.</i>           | <i>n.d.</i>           | <i>n.d.</i>         |
| S10    | <i>n.d.</i>  | <i>n.d.</i>        | 0,97±0,08    | <i>n.d.</i>           | 0,88±0,14             | <i>n.d.</i>           | <i>n.d.</i>           | <i>n.d.</i>           | <i>n.d.</i>         |
| S11    | 18,47±0,23   | 3,51±0,20          | 12,90±0,29   | 6,27±0,05             | 3,84±0,08             | <i>n.d.</i>           | <i>n.d.</i>           | <i>n.d.</i>           | <i>n.d.</i>         |
| S12    | 4,35±0,07    | 2,70±0,28          | 4,57±0,43    | 4,70±0,02             | 3,13±0,14             | 3,70±0,25             | <i>n.d.</i>           | <i>n.d.</i>           | <i>n.d.</i>         |
| S13    | 4,24±0,38    | 1,91±0,07          | 5,50±0,33    | 3,60±0,33             | 2,81±0,47             | 2,28±0,21             | <i>n.d.</i>           | <i>n.d.</i>           | 0,62±0,02           |
| S14    | 6,15±0,15    | 2,39±0,27          | 5,51±0,42    | 5,48±0,09             | 2,50±0,43             | 7,72±0,66             | <i>n.d.</i>           | <i>n.d.</i>           | <i>n.d.</i>         |
| S15    | 2,72±0,20    | <i>n.d.</i>        | 2,20±0,13    | 3,76±0,22             | 2,31±0,06             | 7,12±0,02             | <i>n.d.</i>           | <i>n.d.</i>           | 0,65±0,02           |
| S16    | <i>n.d.</i>  | <i>n.d.</i>        | 5,80±0,90    | <i>n.d.</i>           | 3,69±0,46             | <i>n.d.</i>           | 0,64±0,05             | <i>n.d.</i>           | <i>n.d.</i>         |

*n.d.*: nije detektovano

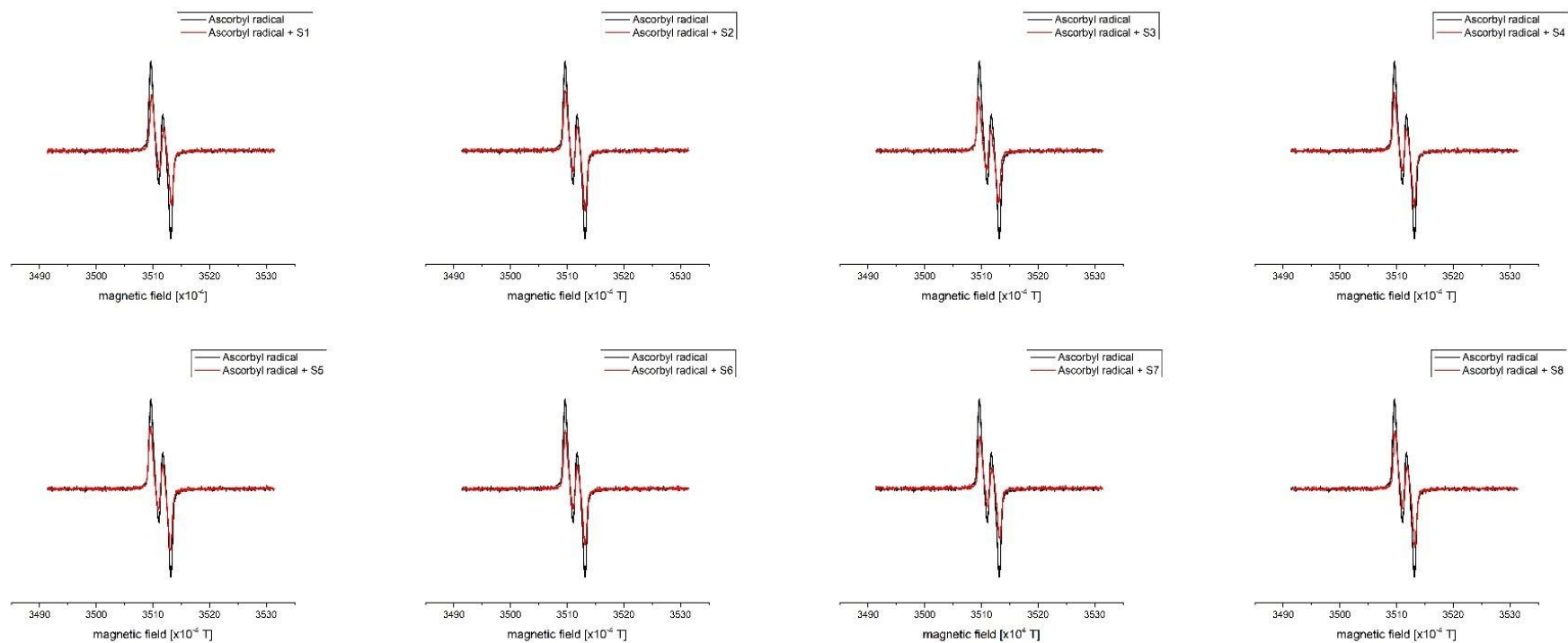
**Prilog 5. EPR spektri DEPMPO/HO<sup>•</sup> sa svim ispitivanim uzorcima S1-S16.**

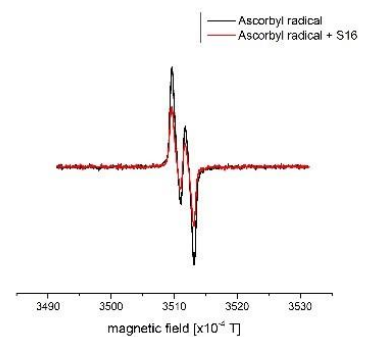
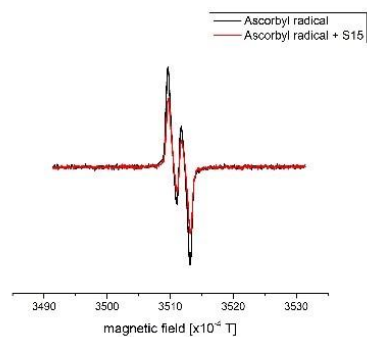
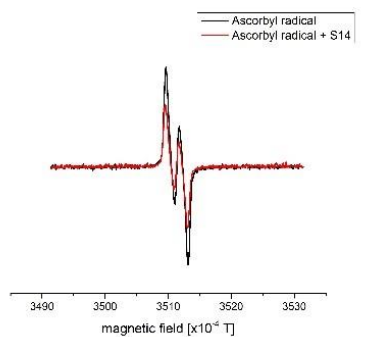
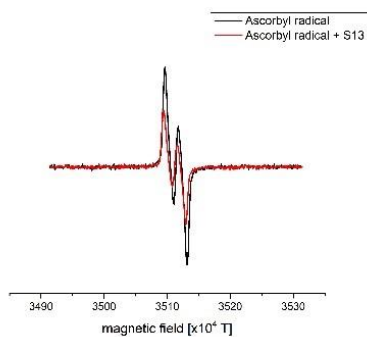
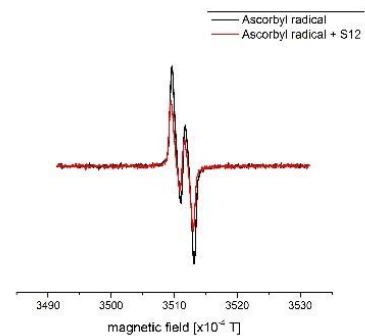
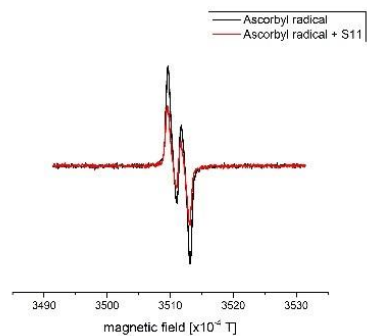
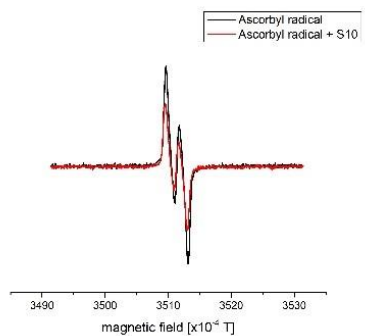
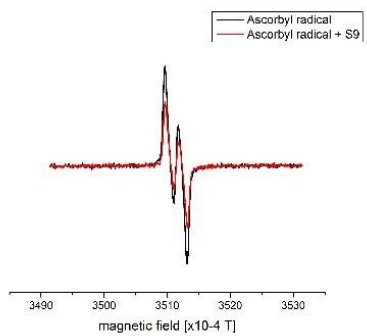






**Prilog 6.** EPR spektri Asc' sa svim ispitivanim uzorcima **S1-S16**.





## Prilog 7. Rešenje Etičke komisije 24-53-3.



Univerzitet u Novom Sadu  
**NAUČNI INSTITUT  
ZA PREHRAMBENE  
TEHNOLOGIJE  
U NOVOM SADU**

Etička komisija Naučnog instituta za prehrambene tehnologije u Novom Sadu

**Odluka o prijavi broj: 24-53-3**

Datum: 28/08/2024. godine

Na osnovu Etičkog kodeksa za rad sa ljudima u okviru istraživanja vezanih za hranu i analitiku podataka i člana 19 Poslovnika o radu Etičke komisije Naučnog instituta za prehrambene tehnologije u Novom Sadu, Etička komisija u sastavu dr Ljubiša Šarić, dr Aleksandra Mišan, dr Marijana Sakač, dr Predrag Ikonić, dr Olivera Đuragić, dr Nemanja Teslić, dr Nataša Čurčić i dr Pavle Jovanov, odlučujući o zahtevu MSc Simone Bukonja 24-53 od 16/08/2024. godine na VII elektronskoj sednici za 2024.g. održanoj 27/08/2024. godine dala je

### SAGLASNOST

MSc Simoni Bukonja za sprovođenje istraživanja pod nazivom **Ispitivanje potencijala sirka (*Sorghum bicolor* L.) kao funkcionalnog dodatka u čajnom pecivu.**

Istraživanje će se sprovesti na Univerzitetu u Novom Sadu, Novi Sad.

### OBRAZLOŽENJE

MSc Simona Bukonja podnela je zahtev broj 24-53 od 16/08/2024. godine u kome se tražila saglasnost za sprovođenje istraživanja pod nazivom **Ispitivanje potencijala sirka (*Sorghum bicolor* L.) kao funkcionalnog dodatka u čajnom pecivu.**

Komisija je održala VII elektronsku sednicu za 2024.g. 27/08/2024. godine na kojoj su razmatrani izveštaji svih članova Etičke komisije koji su odlučivali o prispeloj dokumentaciji koju je kandidat priložio na srpskom jeziku.

Komisija se na osnovu svega dostavljenog (jednoglasno) saglasila sa izradom gorenavedenog istraživanja, smatrajući planirana istraživanja etički korektnim.

Predsednik Etičke komisije,

Dr Marijana Sakač



Bulevar cara Lazara 1, 21000 Novi Sad, Srbija  
telefon: +381(0)21 485 3744, fax: +381(0)21 450 725

[www.fins.uns.ac.rs](http://www.fins.uns.ac.rs), [fins@fins.uns.ac.rs](mailto:fins@fins.uns.ac.rs)

## BIOGRAFIJA

Simona, (rođ. Jaćimović) Bukonja, rođena je 12.10.1996. godine u Kruševcu. Osnovnu školu „Popinski borci“ i Gimnaziju u Vrnjačkoj Banji završila je sa izuzetnim rezultatima i Vukovom diplomom. Poljoprivredni fakultet Univerziteta u Beogradu upisala je 2015. godine (Institut za prehrambenu tehnologiju i biohemiju) na studijskom programu prehrambena tehnologija. Godine 2016. dodeljena joj je nagrada iz zadužbine Nikole Spasića kao najboljem studentu Poljoprivrednog fakulteta za školsku 2015/16 godinu. Za vreme osnovnih studija objavila je više naučnih publikacija i osvojila prvo mesto na nacionalnom takmičenju Ekotrofelijsa Srbija 2018. Kao vođa nacionalnog tima učesvovala je na evropskom takmičenju u kreiranju ekoinovativnih prehrambenih proizvoda *Ecotrophelia Europe*. U 2018. godini proglašena je za studenta generacije Poljoprivrednog fakulteta, dok je 2019. godine primila nagradu za studenta generacije Instituta za prehrambenu tehnologiju i biohemiju. Dobitnica je stipendije za izuzetno nadarene studente Republike Srbije (2017/2019 godine). Diplomski rad odbranila je u julu 2019. godine sa ocenom 10, čime je stekla zvanje diplomirani inženjer tehnologije, sa prosečnom ocenom 10,00 na osnovnim akademskim studijama. Rektorat univerziteta u Beogradu, povodom Dana Univerziteta u Beogradu, uručio joj je povelju „Student generacije“ za školsku 2018/19. godinu, kao i nagradu za najbolji stručni i naučno-istraživački rad studenata za grupaciju fakulteta tehničko-tehnoloških nauka. Nagrađeni rad publikovan je u istaknutom međunarodnom časopisu sa SCI liste. Master akademske studije na Katedri za prehrambenu tehnologiju završila je u septembru 2020. godine sa prosečnom ocenom 10,00 i stekla zvanje master inženjer prehrambene tehnologije. Dobitnica je stipendije Fonda za mlade talente „Dositeja“ na master studijama, i nagrade „Najbolji najboljem, dr Zoran Đinđić“, koju opština Vrnjačka Banja dodeljuje najistaknutijima pojedincima za školsku 2019/20. Doktorske studije na Univerzitetu u Beogradu - Poljoprivrednom fakultetu, upisala je 2020. godine. Zaposlena je na Institutu za ratarstvo i povrtarstvo, Novi Sad (Institut od nacionalnog značaja za Republiku Srbiju) od 2019. godine, gde je u novembru 2020. godine izabrana u naučno zvanje istraživač pripravnik, za naučnu oblast Biotehničke nauke. Za vreme istraživačkog zvanja istraživač pripravnik, angažovana je u okviru Laboratorije za nutritivni kvalitet kao odgovorno lice u Laboratoriji za instrumentalne metode. U aprilu 2023. godine izabrana je u zvanje istraživač saradnik, za naučnu oblast Biotehničke nauke. U toku dosadašnjeg naučno istraživačkog rada Simona je objavila preko 30 radova, objavljenih u međunarodnim naučnim časopisima i prezentovanih na naučnim skupovima u zemlji i inostranstvu.

Govori, čita i piše engleski jezik (C1), služi se francuskim jezikom (A2). Član je Udruženja prehrambenih tehnologa Srbije, Prehrambeno tehnološkog saveta Srbije, Kluba mladih hemičara Srbije i Centra izuzetnih vrednosti za leguminoze. U okviru Udruženja prehrambenih tehnologa Srbije, aktivan je član organizacionog odbora Ekotrofelijsa Srbija od 2019. godine.

Angaživanje na projektima:

1. Angažovanje na projektu Podrška organizaciji nacionalnog takmičenja *Ecotrophelia* 2023 C-100A/2023, HELVETAS Swiss Intercooperation SRB.
2. Angažovanje na projektu USAID CSS APS-2019-01 The best eco-innovative food product - student competition *Ecotrophelia* Serbia.
3. Angažovanje na projektu Ministarstva nauke, tehnološkog razvoja i inovacija Republike Srbije.

4. Kratkoročni projekti Pokrajinskog sekretarijata za visoko obrazovanje i naučnoistraživačku delatnost: „Uticaj tehnološkog procesa mlevenja starih sorti pšenice iz Vojvodine na sadržaj esencijalnih minerala u pšeničnom brašnu" (2022. godina) čiji je rukovodilac dr Dragan Živančev.
5. Bilateralne saradnje Ministarstva prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije: Bilateralna saradnja sa Belorusijom (2022-2024) "Metabolomička studija genotipova crvene deteline, soje i lucerke u Belorusiji i Srbiji: procena i moguća farmaceutska upotreba" (337-00-00230/2022-09/11) čiji je rukovodilac dr Sanja Vasiljević.
6. ECOBREED/Increasing the efficiency and competitiveness of organic crop breeding (H2020-EU.3.2. - SOCIETAL CHALLENGES - Food security, sustainable agriculture and forestry, marine, maritime and inland water research, and the bioeconomy, Grant agreement No 771367, 01.06.2018-29.02.2024.), čiji je koordinator na Institutu dr Vuk Đorđević.
7. ECO-READY/Achieving Ecological Resilient Dynamism for the European food system through consumer-driven policies, socio-ecological challenges, biodiversity, data-driven policy, sustainable futures (HORIZON-CL6-2022-CLIMATE-01-04 - Fostering the resilience of agricultural production: from observation of changes to the development of resilience strategies, Grant agreement No 101084201, 01.12.2022-30.11.2026., čiji je koordinator na Institutu dr Vuk Đorđević.
8. BELIS- Breeding European Legumes for Increased Sustainability (HORIZON -CL6-2022-BIODIV-01-02) Institucija Rukovodilac: Institut National de la Recherche Agronomique (INRA), Francuska, čiji je koordinator na Institutu dr Vuk Đorđević.
9. SoyPredict/ Soybean Yield Prediction Using Multi-omics Data Integration, projekat odobren za finansiranje u oblasti biotehničkih nauka u okviru Programa PRIZMA, čiji je koordinator na Institutu dr Vuk Đorđević.

## IZJAVA O AUTORSTVU

Ime i prezime autora Simona Jaćimović

Broj indeksa 4-TH200003

### IZJAVLJUJEM

da je doktorska disertacija pod naslovom “**Nutritivni kvalitet semena sirka (*Sorghum bicolor* L. Moench) i potencijal primene u prehrambenoj industriji**”

- rezultat sopstvenog istraživačkog rada;
- da disertacija u celini ni u delovima nije bila predložena za sticanje druge diplome prema studijskim programima drugih visokoškolskih ustanova;
- da su rezultati korektno navedeni i
- da nisam kršio/la autorska prava i koristio/la intelektualnu svojinu drugihlica.

**Potpis autora**

U Beogradu,

## Izjava o istovetnosti štampane i elektronske verzije doktorskog rada

Ime i prezime autora: Simona Jaćimović

Broj indeksa: 4-TH200003

Studijski program: Prehrambena tehnologija

Naslov rada: **Nutritivni kvalitet semena sirka (*Sorghum bicolor* L. Moench) i potencijal primene u prehrambenoj industriji**

Mentori:

Dr Nebojša Pantelić, Univerzitet u Beogradu – Poljoprivredni fakultet

Dr Biljana Kiprovski, Institut za ratarstvo i povrtarstvo, Novi Sad

Izjavljujem da je štampana verzija mog doktorskog rada istovetna elektronskoj verziji koju sam predao radi pohranjenja u **Digitalnom repozitorijumu Univerziteta u Beogradu**.

Dozvoljavam da se objave moji lični podaci vezani za dobijanje akademskog naziva doktora nauka, kao što su ime i prezime, godina i mesto rođenja i datum odbrane rada.

Ovi lični podaci mogu se objaviti na mrežnim stranicama digitalne biblioteke, u elektronskom katalogu i u publikacijama Univerziteta u Beogradu.

**Potpis autora**

U Beogradu,



## Izjava o korišćenju

Ovlašćujem Univerzitetsku biblioteku „Svetozar Marković“ da u Digitalni repozitorijum Univerziteta u Beogradu unese moju doktorsku disertaciju pod naslovom:

**„Nutritivni kvalitet semena sirka (*Sorghum bicolor* L. Moench) i potencijal primene u prehrambenoj industriji“**

koja je moje autorsko delo. Disertaciju sa svim prilogima predao sam u elektronskom formatu pogodnom za trajno arhiviranje.

Moju doktorsku disertaciju pohranjenu u Digitalnom repozitorijumu Univerziteta u Beogradu i dostupnu u otvorenom pristupu mogu da koriste svi koji poštuju odredbe sadržane u odabranom tipu licence Kreativne zajednice (Creative Commons) za koju sam se odlučio.

1. Autorstvo (CC BY)
2. Autorstvo – nekomercijalno (CC BY-NC)
3. **Autorstvo – nekomercijalno – bez prerada (CC BY-NC-ND)**
4. Autorstvo – nekomercijalno – deliti pod istim uslovima (CC BY-NC-SA)
5. Autorstvo – bez prerada (CC BY-ND)
6. Autorstvo – deliti pod istim uslovima (CC BY-SA)

**Potpis autora**

U Beogradu,

1. **Autorstvo.** Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, i prerade, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence, čak i u komercijalne svrhe. Ovo je najslobodnija od svih licenci.
2. **Autorstvo – nekomercijalno.** Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, i prerade, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence. Ova licenca ne dozvoljava komercijalnu upotrebu dela.
3. **Autorstvo – nekomercijalno – bez prerada.** Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, bez promena, preoblikovanja ili upotrebe dela u svom delu, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence. Ova licenca ne dozvoljava komercijalnu upotrebu dela. U odnosu na sve ostale licence, ovom licencom se ograničava najveći obim prava korišćenja dela.
4. **Autorstvo – nekomercijalno – deliti pod istim uslovima.** Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, i prerade, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence i ako se prerada distribuira pod istom ili sličnom licencom. Ova licenca ne dozvoljava komercijalnu upotrebu dela i prerada.
5. **Autorstvo – bez prerada.** Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, bez promena, preoblikovanja ili upotrebe dela u svom delu, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence. Ova licenca dozvoljava komercijalnu upotrebu dela.
6. **Autorstvo – deliti pod istim uslovima.** Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, i prerade, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence i ako se prerada distribuira pod istom ili sličnom licencom. Ova licenca dozvoljava komercijalnu upotrebu dela i prerada. Slična je softverskim licencama, odnosno licencama otvorenog