

ANTIOKSIDACIJSKA AKTIVNOST OZIMOGA SLAVONSKOGA ČEŠNJAKA (*ALLIUM SATIVUM* L.)

Nada Parađiković⁽¹⁾, T. Vinković⁽¹⁾, Ivna Štolfa⁽²⁾, Monika Tkalec⁽¹⁾, Elizabeta Has-Schön⁽²⁾, Iva Andračić⁽²⁾, Lea Parađiković⁽¹⁾, Jasna Kraljičak⁽¹⁾

Prethodno priopćenje
Preliminary communication

SAŽETAK

*Brojna istraživanja provedena na češnjaku (*Allium sativum* L.) dokazala su prisutnost antioksidacijskih i fenolnih spojeva, nekoliko sumpornih spojeva i vitamina. Cilj ovog istraživanja bio je ispitati razlike u sadržaju ukupnih fenola, askorbinske kiseline i ukupne antioksidacijske aktivnosti četiri kultivara ozimoga slavonskoga češnjaka te utvrditi postojanje korelacija između tih parametara. Sadržaj askorbinske kiseline, ukupni sadržaj fenolnih spojeva te ukupna antioksidacijska aktivnost četiri kultivara slavonskoga ozimoga češnjaka određeni su spektrofotometrijski. Genetička raznolikost kultivara ozimoga slavonskoga češnjaka značajno je utjecala na sadržaj askorbinske kiseline i ukupnu antioksidacijsku aktivnost. Ukupna antioksidacijska aktivnost bila je u značajnoj pozitivnoj korelaciji sa sadržajem askorbinske kiseline ($r^2=0,64$; $p=0,006$), dok između sadržaja ukupnih fenola i ukupne antioksidacijske aktivnosti nije utvrđena značajna povezanost. Kultivar PFO 1 imao je najveću antioksidacijsku aktivnost (8,006 $\mu\text{mol Trolox/g}$ svježe tvari) i najveći sadržaj askorbinske kiseline (8,57 mg /100 g svježe tvari), a time se pokazao kao najkvalitetniji od četiri ispitivana kultivara.*

Ključne riječi: slavonski češnjak, antioksidacijska aktivnost, askorbinska kiselina, fenolni spojevi

UVOD

Češnjak (lat. *Allium sativum* L.), porodica *Alliaceae*, višegodišnja je biljka visine 35 do 50 cm. Razmnožava se vegetativno. Lukovica je jajastog ili spljoštenog oblika, sastavljena od 10 do 20 malih češnjeva, koji su obavijeni čvrstom bijelom ili zelenkastom ljuskom, a svaki češan je posebnom bjelkastom ili ljubičastom opnom. Lukovica češnjaka predstavlja reproduktivni organ. Svaki češan sastoji se od vanjske čvrste ovojnice, parenhimskog tkiva i klice (Lešić i sur., 2004.; Parađiković, 2009.). Miris i okus češnjaka potječe od alicina. Od ljekovitih tvari prisutna su eterična ulja, minerali (natrij, kalij, magnezij, kalcij, fosfor, željezo, sumpor), aminokiseline, enzimi i vitamini (Parađiković, 2009.). Češnjak ima značajnu ulogu u obrani ljudskog organizma od različitih bolesti i to zahvaljujući visokome sadržaju antioksidacijskih tvari (Kim i sur., 1997.). Nakon upotrebe češnjaka, preko kože i dišnih organa izlučuje se alilsulfid, koji je neugodnoga mirisa. Aminokiseline iz češnjaka utječu na sniženje razine štetnoga kolesterola u plazmi.

Askorbinska kiselina ili vitamin C najjači je antioksidans među vitaminima topljivim u vodi. Vrlo je labilna

molekula, koja se u hrani može izgubiti prilikom obrade ili kuhanja. Najveći izvor askorbinske kiseline su peršinov list, paprika i kelj pupčar, dok je u češnjaku utvrđeno 18 mg u 100 g svježe tvari (Parađiković, 2009.).

Fenolni spojevi su sekundarni metaboliti, prisutni u povrću, voću i žitaricama (Pietta i sur., 1998.), koji imaju veliku antioksidacijsku aktivnost i, stoga, sposobnost smanjenja oksidativnog oštećenja (Kähkönen i sur., 2003.). Češnjak sadrži fenolne spojeve, koji imaju farmakološko značenje i prisutni su u vrlo velikim količinama. Češnjak je na drugome mjestu u poretku po sadržaju ukupnih fenola od 23 vrste povrća koje se najčešće konzumiraju (Vinson i sur., 1998.). Neki produkti češnjaka sadrže povećanu koncentraciju polifenola u odnosu na svježi češnjak (Sato i sur., 2006.; Park i sur., 2009.). Fenolne spojeve u češnjaku i luku kvantificirali su Gorinstein i sur. (2008.). Dokazali su da je zbroj hidroksi-

(1) Prof.dr.sc. Nada Parađiković, dr.sc. Tomislav Vinković, doc.dr.sc. Ivna Štolfa, Monika Tkalec, mag.ing.agr., Lea Parađiković, studentica preddiplomskog studija Hortikulture, Jasna Kraljičak, mag.ing.agr. - Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera, Poljoprivredni fakultet u Osijeku, K.P. Svačića 1d, 31000 Osijek, Hrvatska (nparadj@pfos.hr); (2) Prof. dr.sc. Elizabeta Has-Schön, Iva Andračić, mag.biol. - Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera, Odjel za biologiju, 31000 Osijek, Cara Hadrijana 8/a

cimetnih kiselina (*p*-kumarinska, ferulinska, sinapinska i kafeinska kiselina) dva puta veći u češnjaku nego u luku.

Antioksidacijska aktivnost

Antioksidansi su spojevi koji mogu odgoditi ili spriječiti oksidaciju lipida ili drugih molekula, inhibirajući inicijaciju ili širenje lančanih reakcija (Velioglu i sur., 1998.). Imaju veliku važnost u sprječavanju oksidativnoga stresa i štite metabolizam od visoko reaktivnih kisikovih jedinki, koje mogu prouzročiti degenerativne bolesti ili oštetiti stanice u ljudskom organizmu (Helen i sur. 2000.). Antioksidacijska aktivnost češnjaka ponajprije se pripisuje sumpornim spojevima i njegovim pretečama. Veza između ukupnih fenola i antioksidacijske aktivnosti u biljkama vrlo je specifična (Stratil i sur, 2006.). Kod češnjaka, nakon mjerenja antioksidacijske aktivnosti i ukupnih fenola svježeg uzorka, koncentracija fenola bila je puno veća od antioksidacijske aktivnosti (Quisti i sur., 2010.).

Cilj ovog istraživanja bio je odrediti koncentraciju ukupnih fenola, askorbinske kiseline i ukupnu antioksidacijsku aktivnost u četiri primke ozimoga slavonskoga češnjaka te korelaciju između tih parametara.

MATERIJAL I METODE

U istraživanju je korišten slavonski ozimi češnjak (PFO 1, PFO 2, PFO 3 i PFO 4), koji je posađen 10.10.2010., a vađen 01.07.2011. Pokus je postavljen kao jednofaktorijski na obiteljskome poljoprivrednome gospodarstvu Vinković u Livani. Sva laboratorijska mjerenja napravljena su u biokemijskome laboratoriju Odjela za biologiju u Osijeku. Napravljena su u četiri ponavljanja sa četiri primke kultivara slavonskoga ozimoga češnjaka, pri čemu su se koristile dvije lukovice po ponavljanju. Sve ekstrakcije rađene su s vodom. Analiza navedenih uzoraka provedena je u razdoblju od 11.-15.2011. Od morfoloških parametara određena je prosječna masa lukovice češnjaka te prosječan broj češnjeva u lukovici. Tijekom istraživanja u vodenome su ekstraktu češnjaka određeni ukupna askorbinska kiselina, ukupni fenolni spojevi i ukupna antioksidacijska aktivnost.

Određivanje koncentracije askorbinske kiseline

Odvaže se jedan gram usitnjenoga češnja češnjaka, s točnošću $\pm 0,1$ g, te se ručno homogenizira u tarioniku s 10 ml destilirane H_2O , uz dodatak kvarcnoga pijeska. Nakon toga suspenzije se centrifugiraju 15 minuta na 5000g i iz vodenog ekstrakta spektrofotometrijski se određuje sadržaj ukupne askorbinske kiseline, prema Benderitter i sur. (1998.). Na 500 μ l reakcijske smjese, koja se sastoji od 300 μ l vodenog ekstrakta češnjaka, 100 μ l 13,3% trikloroctene kiseline i 25 μ l destilirane H_2O dodaje se 75 μ l otopine 2,4-dinitrofenilhidrazina (DNPH) otopine. Reakcijske se smjese inkubiraju 3 h na 37 °C i nakon toga u njih se dodaje 500 μ l 65% H_2SO_4 . Slijepa se probe procesiraju na isti način kao i uzorci, ali se u njih otopina DNPH dodaje nakon inkubacije u vodenj kupelji. Apsorbancija tako priređenih uzoraka

određuje se pri 520 nm, a koncentracija ukupne askorbinske kiseline u vodenim ekstraktima češnjaka računa se iz baždarnoga pravca, u kojem se askorbinska kiselina koristi kao standard.

Određivanje koncentracije fenolnih spojeva

Iz prethodno dobivenih vodenih ekstrakta češnjaka koncentracija ukupnih fenolnih spojeva određuje se spektrofotometrijski, metodom po Folin-Ciocalteu (Singleton i Rossi, 1965.). Metoda se bazira na reakciji Folin-Ciocalteu reagensa (kompleks fosfomolibdenske-fosfovolfamske kiseline) s reducirajućim reagensom (fenolni spoj), pri čemu dolazi do pojave plave boje. U reakcijsku smjesu dodaje se 20 μ l vodenog ekstrakta češnjaka, 1,58 ml destilirane H_2O i 100 μ l Folin-Ciocalteu reagensa uz miješanje na rotacijskoj miješalici. Nakon toga treba pričekati najmanje 30 sekundi, a najviše 8 minuta i u tome vremenskome periodu dodati u uzorke 300 μ l zasićene otopine Na_2CO_3 i dobro promiješati. Uzorci se zatim inkubiraju u vodenj kupelji 1 h na 37 °C. Apsorbancija tako priređenih uzoraka određuje se pri 765 nm, a sadržaj ukupnih fenola u vodenim ekstraktima češnjaka računa se iz baždarnoga pravca, u kojem se galna kiselina koristi kao standard.

Određivanje ukupne antioksidacijske aktivnosti

Ukupna antioksidacijska aktivnost vodenih ekstrakata češnjaka određuje se metodom po Brand-Williamsu (Brand-Williams i sur., 1995.), koja se zasniva na redukciji DPPH• (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) radikala. Prati se reakcija između stabilnoga radikala 1,1-difenil-2-pikrilhidrazila (DPPH•) i uzorka u kojem se mjeri antioksidacijska aktivnost. U zatvorene mikropruvete dodaje se 20 μ l vodenog ekstrakta češnjaka i dopuni do volumena od 1 ml 0,094 mM otopinom DPPH. Slijepa proba priređuje se na isti način, samo što se, umjesto uzorka, dodaje destilirana voda. Reakcija se odvija u čvrsto zatvorenim mikropruvetama, uz lagano miješanje pri 20 °C tijekom 15 minuta. Apsorbancija tako priređenih uzoraka određuje se pri 515 nm, a ukupna antioksidacijska aktivnost vodenih ekstrakata češnjaka računa se iz baždarnoga pravca, u kojem se Trolox (6-hidroksi-2,5,7,8-tetrametilokroman-2-karbonska kiselina) koristi kao standard i izražava se u ekvivalentima Troloxa. Ta se metoda temelji na redukciji stabilnoga radikala DPPH, koji, zbog nesparenoga elektrona, pokazuje jaku apsorpciju u vidljivome dijelu elektromagnetskoga spektra. Sparivanjem elektronskoga para stabilnoga radikala DPPH u prisutnosti elektron donora (antioksidans, koji hvata slobodne radikale), ljubičasta se boja mijenja u žutu. Nastali spoj ima smanjeni intenzitet apsorpcije u vidljivome dijelu spektra, a rezultirajuće obezbojenje u stehiometrijskome je odnosu s brojem sparenih elektrona.

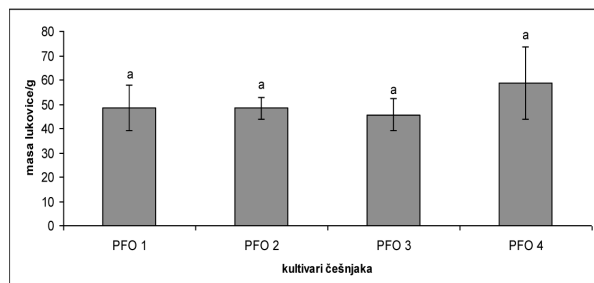
Statistička obrada podataka

U okviru statističke obrade podataka napravljena je analiza varijance (ANOVA), uz post hoc LSD (eng. *least significant difference*) test na razini značajnosti 5% ($p \leq 0,05$) korištenjem statističkoga paketa Statistica 8.

REZULTATI I RASPRAVA

Prosječna masa lukovice češnjaka

Najveću prosječnu masu lukovice imao je kultivar PFO 4 i iznosila je 58,82 g, no ta se vrijednost nije statistički značajno razlikovala od prosječnih masa lukovica ostalih kultivara kultivar PFO 1 - 48,55 g; kultivar PFO 2 - 48,46 g; kultivar PFO 3 - 45,65 g; Slika 1.



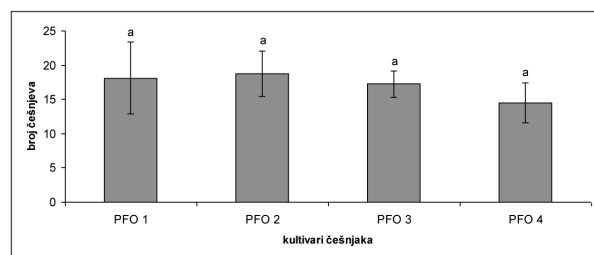
Slika 1. Prosječna masa lukovica četiri kultivara slavonskoga ozimoga češnjaka (standardna devijacija). Prosječne vrijednosti označene istim slovom ne razlikuju se prema LSD testu; $p \leq 0,05$

*PFO 1- prvi kultivar slavonskoga ozimoga češnjaka;
 PFO 2- drugi kultivar slavonskoga ozimoga češnjaka;
 PFO 3- treći kultivar ozimoga slavonskoga češnjaka;
 PFO 4- četvrti kultivar slavonskoga ozimoga češnjaka

Figure 1. Average mass of garlic bulbs: PFO 1- first cultivar Slavonian garlic; PFO 2- second cultivar Slavonian garlic; PFO 3- third cultivar Slavonian garlic; PFO 4- fourth cultivar Slavonian garlic. Average values marked with the same letter do not differ according to LSD test, $p < 0.05$

Prosječan broj češnjeva u lukovici

Od morfoloških parametara određen je broj češnjeva u lukovici i masa lukovica ozimoga slavonskoga češnjaka. Prosječan broj češnjeva u lukovici imali su PFO 1 (18,12) i PFO 2 (18,75), no ta se vrijednost statistički nije značajno razlikovala od prosječnoga broja češnjeva kod ostalih kultivara (PFO 3 - 17,25; PFO 4 - 14,50; Slika 2.).



Slika 2. Prosječan broj češnjeva u lukovici četiri kultivara slavonskoga ozimoga češnjaka. Prosječne vrijednosti označene istim slovom ne razlikuju se prema LSD testu; $p \leq 0,05$

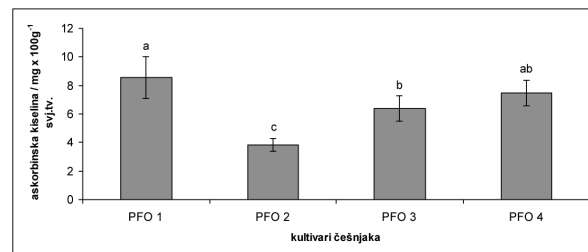
Figure 2. The average number of cloves in a bulb. Average values marked with the same letter do not differ according to LSD test, $p \leq 0.05$

Najveću masu (58,82 g), ali i najmanji broj češnjeva u lukovici (14,50) imao je kultivar PFO 4, što znači da

su njegovi češnjevi bili najveći. Kultivari PFO 1, PFO 2 i PFO 3 imali su gotovo jednaku masu i broj češnjeva u lukovici. Haciseferoğulları i sur. (2004.) u istraživanjima fizikalnih i kemijskih svojstava češnjaka navode da je 86% ispitivanih češnjaka imalo masu od 25 do 50 g, dok je prosječna masa lukovice bila 32,81 g. Prosječan broj češnjeva u lukovici bio je 17,56, a 88% lukovica češnjaka imalo je 15-23 češnjeva u lukovici. Također, Alpers, (2009.) navodi da jedan češanj može težiti od 1,5 do 3 g. Dobiveni podaci o prosječnoj masi i broju češnjeva u četiri ozima slavonska češnjaka ne razlikuju se značajno od podataka dobivenih u spomenutim istraživanjima.

Ukupna koncentracija askorbinske kiseline u češnjaku

Najveću koncentraciju askorbinske kiseline imao je PFO 1 (8,57 mg /100 g svježe tvari) i ta se vrijednost nije statistički značajno razlikovala od koncentracije askorbinske kiseline kod PFO 4 (7,47 mg /100 g svježe tvari). PFO 3 imao je nešto nižu koncentraciju askorbinske kiseline (6,38 mg /100 g svježe tvari), koja se nije značajno razlikovala od vrijednosti kod PFO 4. PFO 2 imao je 2x nižu koncentraciju askorbinske kiseline u odnosu na ostale kultivare (3,82 mg /100 g svježe tvari; Slika 3.).



Slika 3. Ukupna koncentracija askorbinske kiseline kod četiriju kultivara slavonskoga ozimoga češnjaka. Prosječne vrijednosti označene istim slovom ne razlikuju se prema LSD testu; $p \leq 0,05$

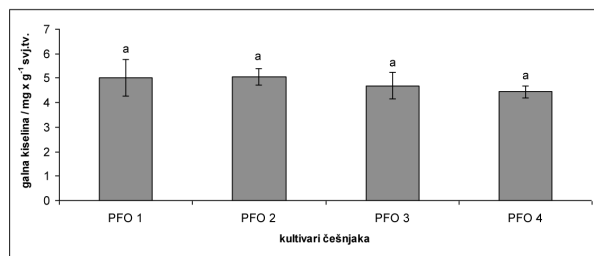
Figure 3. Concentration of ascorbic acid - Average values marked with the same letter do not differ according to LSD test, $p \leq 0.05$.

Askorbinska kiselina također je jedan od važnih nefenolnih antioksidansa prisutnih u češnjaku. U ovom istraživanju utvrđena je značajna pozitivna korelacija između ukupne antioksidacijske aktivnosti i koncentracije askorbinske kiseline ($r^2=0,64$; $p=0,006$). U istraživanju koje su proveli Bahorun i sur. (2004.) određeni su sadržaji askorbinske kiseline različitoga povrća i nije pronađena značajna veza između antioksidacijske aktivnosti i askorbinske kiseline. Slična su istraživanja provedena i ranije te je dokazano da askorbinska kiselina vrlo malo ili nimalo utječe na antioksidacijsku aktivnost voća i povrća (Gardner i sur., 2000.; Szeto i sur., 2002.). Leonard i sur. (2002.) utvrdili su u svježem češnjaku vrlo nizak sadržaj askorbinske kiseline (15,3 mg/100 g) u odnosu na drugo ispitivano voće i povrće. Sadržaj askorbinske kiseline u voću i povrću ovisi o različitim faktorima, kao što su razlike u genotipu, klimatski uvjeti tijekom uzgoja, različiti načini berbe

i uvjeti skladištenja (Lee i Kader, 2000.). Visok intenzitet svjetla i sušni uvjeti također uzrokuju povećanje sadržaja askorbinske kiseline (Reddy i sur., 2004.). Gorinstein i sur. (2008.) u svom su istraživanju koristili povrće iz roda *Allium* i dobili da češnjak ima najmanju koncentraciju askorbinske kiseline (0,74 mg/g suhe tvari) u odnosu na dvije vrste luka.

Ukupna koncentracija fenolnih spojeva u češnjaku

Kultivar PFO 2 imao je najveću koncentraciju fenolnih spojeva (5,05 mg galne kiseline/g svježe tvari), no ta se vrijednost nije statistički značajno razlikovala od koncentracije fenolnih spojeva kod ostalih kultivara (Slika 4.).



Slika 4. Ukupna koncentracija fenolnih spojeva kod četiriju kultivara slavonskoga ozimoga češnjaka. Prosječne vrijednosti označene istim slovom ne razlikuju se prema LSD testu; $p \leq 0,05$

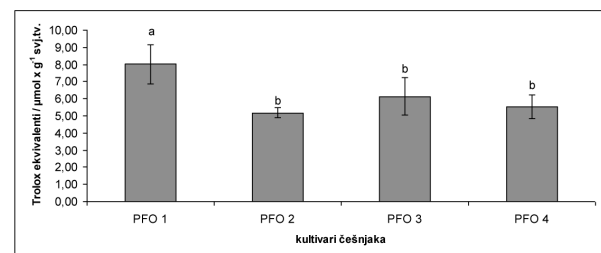
Figure 4. Concentration of phenolic compounds. Average values marked with the same letter do not differ according to LSD test, $p \leq 0,05$

Sadržaj fenolnih spojeva u biljkama ovisi o unutarnjim - genetičkim (rod, vrsta, kultivar) i vanjskim (agronomski, okolišni, uvjeti skladištenja) faktorima (Rapisarda, 1999.). Beato i sur. (2011.) pokazali su da genotip ima značajan utjecaj na sadržaj ukupnih fenola i ferulne kiseline u češnjaku. Ukupni sadržaj fenolnih spojeva varirao je od 3,4-10,8 mg galne kiseline/g suhe tvari. U ovom istraživanju nije utvrđen značajan utjecaj genotipa kultivara na sadržaj ukupnih fenolnih spojeva u slavonskome ozimome češnjaku - sadržaji ukupnih fenolnih spojeva svih četiriju kultivara ozimoga slavonskoga češnjaka nisu se statistički značajno razlikovali (5,05-4,43 mg galne kiseline/g svježe tvari). Dobivene rezultate možemo objasniti i činjenicom da su sva četiri kultivara ozimoga slavonskoga češnjaka bila posađena na istoj lokaciji. Gorinstein i sur. (2005.) dokazali su da postoji razlika u sadržaju fenolnih spojeva između češnjaka posađenoga na različitim lokacijama. U nekim vrstama roda *Allium* također je dokazano da genotip i lokacija na kojoj određena kultura raste utječe na ukupan sadržaj fenolnih spojeva i flavonoida (Rodrigues i sur., 2011.). Qusti i sur. (2010) ispitali su sadržaj ukupnih fenolnih spojeva na svježem i suhome češnjaku, a rezultati koje su dobili pokazali su da je svježiji češnjak imao 61,44 mg galne kiseline/g svježe tvari, dok je suhi češnjak imao značajno veći sadržaj fenolnih spojeva,

čak 367,60 mg galne kiseline/g suhe tvari. Tepe i sur. (2005.) mjerili su antioksidacijsku aktivnost 5 sorti češnjaka na području Turske te su dobili vrijednosti koje se nisu statistički značajno razlikovale.

Ukupna antioksidacijska aktivnost češnjaka

Najveću antioksidacijsku aktivnost vodenih ekstrakata češnjaka imao je PFO 1 (8,006 $\mu\text{mol Trolox/g}$ svježe tvari). Između ostala tri kultivara nije bilo statistički značajne razlike u antioksidacijskoj aktivnosti (Slika 5.). Ukupna antioksidacijska aktivnost vodenih ekstrakata češnjaka bila je u značajnoj pozitivnoj korelaciji s ukupnom koncentracijom askorbinske kiseline ($r^2=0,64$; $p=0,006$).



Slika 5. Ukupna antioksidacijska aktivnost kod četiriju kultivara slavonskoga ozimoga češnjaka. Prosječne vrijednosti označene istim slovom ne razlikuju se prema LSD testu; $p \leq 0,05$

Figure 5. The total antioxidant activity. Average values marked with the same letter do not differ according to LSD test, $p \leq 0,05$

Dosadašnja su istraživanja pokazala proturječne podatke o povezanosti ukupne antioksidacijske aktivnosti i koncentracije fenolnih spojeva. Stratil i sur. (2006.) dokazali su da je veza između fenolnih spojeva i antioksidacijske aktivnosti u biljkama vrlo značajna i pozitivna, dok su drugi autori utvrdili nizak stupanj povezanosti između fenola i antioksidacijske aktivnosti, odnosno uopće nisu utvrdili značajnu vezu (Turkmen, 2007.; Vasco i sur., 2008.). U ovome radu koncentracije ukupnih fenolnih spojeva svih četiriju kultivara ozimoga slavonskoga češnjaka statistički se nisu značajno razlikovale i nisu bile u značajnoj pozitivnoj vezi s ukupnom antioksidacijskom aktivnošću. Bayili i sur. (2011.) pokazali su da češnjak ima najveću ukupnu antioksidacijsku aktivnost od svih istraživanih vrsta povrća, što nije bilo u skladu sa sadržajem ukupnih fenola, koji je bio niži nego u drugim vrstama s manjom antioksidacijskom aktivnošću. To ukazuje na važnu ulogu nefenolnih spojeva, kao što su organo-sumporne komponente, od kojih najviše S-alkil-L-cistein sulfoksidi, i ostalih nefenolnih spojeva koji sudjeluju u determinaciji ukupne antioksidacijske aktivnosti češnjaka (Amagese i sur., 2001.; Borek, 2001.). Slaba korelacija između ukupne antioksidacijske aktivnosti i ukupnoga sadržaja fenolnih spojeva pokazuje nam raznolikost antioksidansa prisutnih u biljkama, čak i kod kultivara iste vrste (Kähkönen i sur., 1999.).

ZAKLJUČAK

Najveću prosječnu masu lukovice i najmanji broj češnjeva imao je kultivar PFO 4, no ta se vrijednost nije statistički značajno razlikovala od prosječnih masa lukovica ostalih kultivara. Genetička raznolikost kultivara ozimoga slavonskoga češnjaka (*Allium sativum* L.) značajno je utjecala na koncentraciju askorbinske kiseline i ukupnu antioksidacijsku aktivnost. Kultivar PFO 1 imao je najveću antioksidacijsku aktivnost, dok se antioksidacijska aktivnost ostala 3 kultivara nije statistički značajno razlikovala. Također, isti je kultivar imao i najveću koncentraciju askorbinske kiseline. Ukupna antioksidacijska aktivnost kultivara ozimoga slavonskoga češnjaka bila je u značajnoj pozitivnoj korelaciji s koncentracijom askorbinske kiseline ($r^2=0,64$; $p=0,006$). Između koncentracija ukupnih fenolnih spojeva i ukupne antioksidacijske aktivnosti nije bila utvrđena značajna povezanost. Dobiveni rezultati pokazuju da je kultivar PFO1 najkvalitetniji od 4 ispitivana kultivara češnjaka, budući da je imao najveću koncentraciju askorbinske kiseline i ukupnu antioksidacijsku aktivnost važnih komponenti funkcionalne hrane, koja ima pozitivan učinak na zdravlje ljudi. Dobiveni rezultati ovog istraživanja ukazuju na potrebu za daljnjim istraživanjima, kao različitost lokacije, tip tla, zahtjev za vodom i genetička raznolikost kultivara.

LITERATURA

- Alpers, D.H. (2009): Garlic and its potential for prevention of colorectal cancer and other conditions. *Curr Opin Gastroenterol.* 25(2): 116-21.
- Amagase, H., Petesch, B. L., Matsuura, H., Kasuga S., Itakura, Y. (2001): Intake of garlic and its bioactive compounds. *J Nutr* (131): 955-962.
- Bahorun, T., Luximon-Ramma, A., Aruoma, O.I. (2004): Total phenol, flavonoid, proanthocyanidin and vitamin C and antioxidant activities of Mauritian vegetables. *J Sci Food Agric* (84): 1553-1561.
- Bayili, R.G., Abdoul-Latif, F., Kone, O.H., Diao, M., Bassole, I.H.N., Dicko, M.H. (2011): Phenolic compounds and antioxidant activities in some fruits and vegetables from Burkina Faso. *Afr J Biotechnol* (10):13543-13547.
- Beato, V.M., Orgaz, F., Mansilla, F., Montaño, A. (2011): Changes in phenolic compounds in garlic (*Allium sativum* L.) owing to the cultivar and location of growth. *Plant Foods Hum Nutr* (66): 218-23.
- Benderitter, M., Mauipoil, V., Vergely, C., Daloz, F., Rochette L. (1998): Studies by electron paramagnetic resonance of the importance of iron in the hydroxyl scavenging properties of ascorbic acid in plasma: effects of iron chelators. *Fund Clin Pharmacol* (12): 510-516.
- Borek, C. (2001): Antioxidant health effects of aged garlic extract. *J Nutr* (131): 1010-5.
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., Berset, C. (1995): Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Leben Wiss Technol* (28): 25-30.
- Gardner, P.T., White, T.A.C., McPhail, D.B., Duthie, G.G. (2000): The relative contributions of vitamin C, carotenoid and phenolics to the antioxidant potential of fruit juices. *Food Chem* 68: 471-474.
- Gorinstein, S., Drzewiecki, J., Leontowicz, H., Leontowicz, M., Najman, K., Jastrzebski, Z., Zachwieja, Z., Barton, H., Shtabsky, B., Katrich, E., Trakhtenberg, S. (2005): Comparison of the bioactive compounds and the antioxidant potentials of fresh and cooked Polish, Ukrainian and Israeli garlic. *J Agric Food Chem* (53): 2726-2732.
- Hacıseferoğulları, H., Özcan, M., Demir, F., Çalışır, S. (2004): Some nutritional and technological properties of garlic (*Allium sativum* L.). *J Food Eng* (68): 463-469.
- Helen, A., Rajasree, C.R., Krishnakumar, K, Augusti, K.T. (2000): Antioxidant effect of onion oil (*Allium sativum* L.) on the damage induced by nicotine in rats as compared to alphatocopher. *Tox Lett* (116): 61-68.
- Kähkönen, M.P., Hopia, A.I., Vuorela, H.J., Jussi-Pekka, R., Kalevi, P., Tytti, S.K., Marina, H. (1999): Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. *J Agric Food Chem* (47): 3954-3962.
- Kähkönen, M.P., Heinämäki, J., Ollilainen, V., Heinonen, M. (2003): Berry anthocyanins: isolation, identification and antioxidant activities. *J Sci Food Agric* (83): 1403-1411.
- Kim, S.M., Kubota, K., Kobayashi, A. (1997): Antioxidative activity of sulfur-containing flavor compounds in garlic. *Biosci Biotechnol Biochem* 61: 1482-1485.
- Lee, S.K., Kader, A.A. (2000): Preharvest and postharvest factors influencing vitamin C content of horticultural crops. *Postharv Biol Techn* (20): 207-220.
- Leonard, S.S., Cutler, D., Ding, M., Vallyathan, V., Castranova, V., Shi, X. (2002): Antioxidant properties of fruit and vegetable juices: more to the story than ascorbic acid. *Ann Clin Lab Sci* (32): 193-200.
- Lešić, R., Borošić, J., Butorac, I., Herak-Čustić, M., Poljak, M., Romić, D. (2004.): Povrčarstvo II. dopunjeno izdanje. Zrinski d.d. Čakovec, 134-142 pp.
- Nuutila, A.M., Puupponen-Pimiä, R., Aarni, M., Oksman-Caldentey, K.M. (2003): Comparison of antioxidant activities of onion and garlic extracts by inhibition of lipid peroxidation and radical scavenging activity. *Food Chem* (81): 485-493.
- Parađiković, N. (2009.): Opće i specijalno povrčarstvo. izdavač, Poljoprivredni fakultet u Osijeku, Tip. Osijek, 189-193 pp.
- Pietta, P., Simonetti, P., Mauri, P. (1998): Antioxidant activity of selected medicinal plants. *J Agri Food Chem* (46): 4487-4490.
- Pietta, P. G. (2000): Flavonoids as antioxidants. *J Nat Prod* (63):1035-1042.
- Qusti, S.Y., Abo-khatwa, A.N., Bin Lahwa, M.A. (2010): Screening of antioxidant activity and phenolic content of selected food items cited in the Holly Quran. *Journal of Biological Sciences.* 2(1):40-51
- Rapisarda, P. (1999): Antioxidant effectiveness as influenced by phenolic content of fresh orange juices *J Agri Food Chem* 47: 4718-4723.

25. Reddy, A.R., Chaitanya, K.V., Vivekanandan, M. (2004): Drought-induced response of photosynthesis and antioxidant metabolism in higher plants. *J Plant Physiol* (161):1189-1202.
26. Robards, K., Prenzler, P. D., Tucker, G., Swatsitang, P., Glover, W. (1999): Phenolic compounds and their role in oxidative processes in fruits. *J Agri Food Chem* 66: 401-436.
27. Rodrigues, A.S., Pérez-Gregorio, M.R., García-Falcón, M.S., Simal-Gándara, J., Almeida, D.P.F. (2011): Effect of meteorological conditions on antioxidant flavonoids in Portuguese cultivars of white and red onions. *Food Chem* (124): 303–308.
28. Sato, E., Kohno, M., Hamano, H., Niwano, Y. (2006): Increased anti-oxidative potency of garlic by spontaneous short-term fermentation. *Plant Foods Hum Nutr* (61): 157-160.
29. Singleton, V.L., Rossi, J.A. (1965): Colorimetry of total phenolics with phospho-molybdic-phosphotungstic acid reagents. *Am J Eno. Vitic* (16): 144-158.
30. Stratil, P., Klejdus, B., Kuban, V. (2006): Determination of total content of phenolic compounds and their antioxidant activity in vegetables evaluation of spectrophotometric methods. *J Agric Food Chem* (54): 607–616.
31. Szeto, Y.T., Tomlinson, B., Benzie, I.F.F. (2002): Total antioxidant and ascorbic acid content of fresh fruits and vegetables: implications for dietary planning and food preservation. *Br J Nutr* (87):55–59.
32. Tepe, B., Sokmen, M., Akpulat, H.A., Sokmen, A. (2005): In vitro antioxidant activities of the methanol extracts of five *Allium* species from Turkey. *Food Chem* (92): 89–92.
33. Turkmen, N., Velioglu, Y.S., Sari, F., Polat, G. (2007): Effect of extraction conditions on measured total polyphenol contents and antioxidant and antibacterial activities of black tea. *Molecules J* (2): 484-496.
34. Vasco, C., Ruales, J., Eldin, A.K. (2008): Total phenolic compounds and antioxidant capacities of major fruits from Ecuador. *Food Chem* (111): 816-823.
35. Velioglu, Y.S., Mazza, G., Gao, L., Oomah, B.D. (1998.): Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits vegetables and grain products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 46(10): 4113-4117
36. Vinson, J.A., Hao, Y., Su, X., Zubik, L. (1998): Phenol antioxidant quantity and quality in foods: Vegetables. *J Agric Food Chem* (46): 3630–3634.

ANTIOXIDANT ACTIVITY OF WINTER SLAVONIAN GARLIC (*Allium sativum* L.)

SUMMARY

Numerous studies conducted on garlic (*Allium sativum* L.), have proved the presence of antioxidants, phenolic compounds, sulfur compounds and several vitamins. The aim of this study was to investigate the differences in the content of total phenols, ascorbic acid; total antioxidant activities of four winter Slavonian garlic cultivars, as well as establishment of correlations between these parameters. The total antioxidant activity and the content of ascorbic acid and total phenols in four cultivars of winter Slavonian garlic were spectrophotometrically determined. Genetic diversity of winter Slavonian garlic cultivars significantly affected the content of ascorbic acid and the total antioxidant activity. The total antioxidant activity significantly positively correlated with the content of ascorbic acid ($r^2 = 0.64$, $p = 0.006$), while the content of total phenols and total antioxidant activity were not significantly related. Cultivar PFO 1 had the highest antioxidant activity (8.006 $\mu\text{mol Trolox/g FW}$) and the highest ascorbic acid content (8.57 mg /100 g FW), thus, the best quality of the four tested garlic cultivars.

Key-words: Slavonian garlic cultivars, antioxidant activities, total phenols, ascorbic acid

(Priljeno 8. studenoga 2012.; prihvaćeno 23. studenoga 2012. - Received on 8 November 2012; accepted on 23 November 2012)