ANTIOKSIDACIJSKA AKTIVNOST OZIMOG SLAVONSKOG ČEŠNJAKA (Allium sativum L.)

Andračić, Iva

Master's thesis / Diplomski rad

2012

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Department of biology / Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Odjel za biologiju**

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:181:000760

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-29**

ODJEL ZA BIOLOGIJU
Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku

Repository / Repozitorij:

Repository of Department of biology, Josip Juraj Strossmayer University of Osijek

zir.nsk.hr

dabar
DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJI

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU
ODJEL ZA BIOLOGIJU
Diplomski znanstveni studij biologije

Iva Andračić

ANTIOKSIDACIJSKA AKTIVNOST OZIMOG SLAVONSKOG ČEŠNJAKA (*Allium sativum* L.)

Diplomski rad

Osijek, 2012.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku **Diplomski rad**

Odjel za biologiju

Diplomski znanstveni studij biologije

Znanstveno područje: Prirodne znanosti

Znanstveno polje: Biologija

ANTIOKSIDACIJSKA AKTIVNOST OZIMOG SLAVONSKOG ČEŠNJAKA (*Allium sativum* L.)

Iva Andračić

Rad je izrađen: Odjel za biologiju, Osijek

Mentor: Dr. sc. *Nada Parađiković,* **red.prof.**

Komentor: Dr.sc. *Ivna Štolfa,* **doc.**

Sažetak:

Češnjak (*Allium sativum* L.) ima značajnu ulogu u obrani ljudskog organizma od različitih bolesti, zahvaljujući visokom sadržaju antioksidacijskih tvari. Brojna istraživanja provedena na češnjaku 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 ozimog slavonskog češnjaka, te utvrditi postojanje korelacija između tih parametara. Sadržaj askorbinske kiseline, ukupni sadržaj fenolnih spojeva, te ukupna antioksidacijska aktivnost četiri kultivara slavonskog ozimog češnjaka određeni su spektrofotometrijski. Genetička raznolikost kultivara ozimog slavonskog 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=0,6495; p=0,006), dok između sadržaja ukupnih fenola i ukupne antioksidacijske aktivnosti nije bila utvrđena značajna povezanost. Kultivar 1 (PFO 1) imao je najveću antioksidacijsku aktivnost (8,006 µmol Trolox/g svj.tv.) i najveći sadržaj askorbinske kiseline (8,5705 mg askorbinske kiseline/100 g svj.tv.), a time se pokazao kao najkvalitetniji od četiri ispitivana kultivara.

Broj stranica: 43

Broj slika: 13

Broj tablica: 4

Broj literaturnih navoda: 107

Broj priloga: 0

Jezik izvornika: Hrvatski

Ključne riječi: češnjak, fenoli, askorbinska kiselina, antioksidacijska aktivnost

Datum obrane:

Stručno povjerenstvo za obranu:

1. Dr.sc. *Elizabeta Has Schön***, izv.prof.**

2. Dr.sc. *Nada Parađiković,* **red.prof.**

3. **Dr.sc.** *Ivna Štolfa,* **doc.**

4. **Dr.sc.** *Janja Horvatić,* **izv.prof.**

Rad je pohranjen u:

Knjižnici Odjela za biologiju Sveučilišta Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku

BASIC DOCUMENTATION CARD

University Josip Juraj Stossmayer in Osijek **MS thesis**

Department of Biology

Graduate Study of Biology

Scinetific Area: Natural science

Scientific Field: Biology

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

Iva Andračić

Thesis performed at: Department of Biology, Osijek

Supervisior: Dr.sc. *Nada Parađiković*, **full prof.**

Cosupervisior: Dr.sc. *Ivna Štolfa*, **assistant prof.**

Short abstract:

Garlic (*Allium sativum* L.) has a significant role in the defence of the human body against various diseases due to the high content of antioxidative substances. Numerous studies conducted on garlic, have proved the presence of antioxidants, phenolic compounds, sulfur compounds and several vitamins. The aim of this sudy was to investigate the differences in the content of total phenols, ascorbic acid and total antioxidant activities of four winter Slavonian garlic cultivars, and to establish correlations between these parameters. The total antioxidant activity and the content of ascorbic acid and total phenols in four cultivars of winter Slavonian garlic (*Allium sativum* L.) were determined spectrophotometrically. Genetic diversity of winter Slavonian garlic cultivars (*Allium sativum* L.) 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 ($r = 0.6495$, $p = 0.006$), while the content of total phenols and total antioxidant activity were not significantly related. Cultivar 1 (PFO 1) had the highest antioxidant activity (8.006 μmol Trolox /g FW) and the highest ascorbic acid content (8.5705 mg ascorbic acid/100 g FW) and therefore the best quality of the four tested garlic cultivars.

Number of pages: 43

Number of figures: 13

Number of tables: 4

Number of references: 107

Original in: Croatian

Key words: garlic, phenols, ascorbic acid, antioxidant activity

Date of the thesis defence:

Reviewers:

Dr.sc. *Elizabeta Has Schön*, **associate prof.**

2. Dr.sc. *Nada Parađiković*, **full prof.**

3. **Dr.sc.** *Ivna Štolfa*, **assistant prof.**

4. **Dr.sc.** *Janja Horvatić*, **associate prof.**

Thesis deposited in:

Library of Department of Biology, Univesity of Josip Juraj Strossmayer in Osijek

Zahvaljujem se mentorici prof.dr.sc. Nadi Parađiković, dr. Tomislavu Vinkoviću i doc.dr.sc. Ivni Štolfa što su mi omogućili izradu ovog diplomskog rada. Doc.dr.sc. Ivni Štolfa također zahvaljujem i na stručnom vodstvu, savjetima i velikoj pomoći tijekom pisanja.

Roditeljima Josipu i Slavici Andračić, sestri Silviji i bratu Borisu veliko hvala na razumijevanju i velikoj podršci tijekom cijelog studija.

Od srca veliko hvala dragim prijateljima.

1. UVOD 1

1.1 ČEŠNJAK (*ALLIUM SATIVUM* L.) 1

1.1.1 Osnovne karakteristike češnjaka 1

1.1.2 Kultivari češnjaka 3

1.1.3 Hranidbena i zdravstvena vrijednost 3

1.1.4 Uzgoj češnjaka 5

1.2 ASKORBINSKA KISELINA 6

1.2.1 Struktura i kemijska svojstva askorbinske kiseline 7

1.2.2 Funkcija askorbinske kiseline 8

1.3 FENOLNI SPOJEVI 9

1.3.1 Struktura i kemijska svojstva fenolnih spojeva 9

1.3.2 Funkcija fenolnih spojeva 10

1.3.3 Fenolni spojevi češnjaka 11

1.4 ANTIOKSIDACIJSKA AKTIVNOST 11

1.4.1 Mjerenje ukupne antioksidacijske aktivnosti 13

1.5 CILJ ISTRAŽIVANJA 14

2. MATERIJALI I METODE 14

2.1 MATERIJALI 15

2.2 METODE RADA 16

2.2.1 Određivanje koncentracije askorbinske kiseline 18

2.2.2 Određivanje koncentracije fenolnih spojeva 18

2.2.3 Određivanje ukupne antioksidacijske aktivnosti 18

2.2.4 Statistička obrada podataka 19

3. REZULTATI 20

3.1 PROSJEČNA MASA LUKOVICE ČEŠNJAKA 21

3.2 PROSJEČAN BROJ ČEŠNJEVA U LUKOVICI 22

3.3 UKUPNA KONCENTRACIJA ASKORBINSKE KISELINE U ČEŠNJAKU 23

3.4 UKUPNA KONCENTRACIJA FENOLNIH SPOJEVA U ČEŠNJAKU 24

3.5 UKUPNA ANTIOKSIDACIJSKA AKTIVNOST ČEŠNJAKA 25

4. RASPRAVA 26

5. ZAKLJUČCI 30

6. LITERATURA 32

1. UVOD

1.1. ČEŠNJAK (*Allium sativum* L.)

1.1.1. Osnovne karakteristike češnjaka

Češnjak (lat. *Allium sativum* L.) poznat pod nazivom bijeli luk, uzgaja se u kulturi već više od 4000 godina. Začinska je biljka iz porodice *Alliaceae* (Tablica 1), srodna luku, poriluku i vlascu. Pradomovina mu je središnja Azija, odakle se proširio po cijelome svijetu (Sukta, 2002; Qusti, 2010). U ostalim dijelovima svijeta, Egiptu, zemljama Bliskog istoka, te u južnoj Europi bio je poznat još prije Krista.

Češnjak je višegodišnja biljka visine 35 do 90 cm (Slika 1). Većina kultivara češnjaka koji se uzgajaju diljem svijeta ne cvate i ne donosi sjeme. Razmnožava se vegetativno, stoga oni predstavljaju klonove. Lukovica je jajastog ili spljoštenog oblika, sastavljena od 10 do 20 malih češnjeva, koji su obavijeni čvrstom bijelom ili zelenkastom ljuskom, a svaki češanj posebnom bjelkastom, crvenkastom ili ljubičastom opnom. Lukovica češnjaka predstavlja reproduktivni organ. Nakon sadnje iz zametka stabljike razvije se slabo adventivno korijenje, koje se prostire u površinskom sloju tla. Stabljika je uspravna, a u donjoj polovici nosi dugačke, linearne listove. Na vrhu stabljike razvija se okruglast cvat, sastavljen od malog broja cvjetova i 20 do 35 rasplodnih pupova. Unutar češnja nalazi s klica koja je sačinjena od 2 do 3 zametnuta lista. Prvi je list bez plojke, dok se sljedeći sastoje od lisnog rukavca i linearne plojke. Lisni rukavci formiraju „lažnu stabljiku“.

Biljka tijekom rasta razvije 10 do 12 listova. Pri završetku rasta listova u pazuhu najmlađeg lista zametne se jedan pup, a na listovima ispod njega do 4. lista po 1 do 6 pupova, a zatim se broj zametnutih pupova smanjuje što su listovi stariji. Najstariji listovi nemaju pupova. Premještanjem asimilata iz lišća pupovi sve više rastu i formiraju češnjeve.



Slika 1. Prikaz biljke češnjaka (Parađiković N., 2009).

Svaki češanj sastoji se od vanjske čvrste ovojnice, parenhimskog tkiva i klice. Lukovica može sadržavati od 12 do 20 češnjeva koji svojim oblikom podsjećaju na polumjesec. Neki ekotipovi razviju cvjetnu stabljiku koja može narasti od 70 do 100 cm i na vrhu nosi zračne češnjiće, te po nekoliko sterilnih cvjetova koji su u početku obavijeni ovojnim listom. Iz zračnih češnjića mogu se razviti nove biljke, ali one razviju sitnu lukovicu sa samo jednim češnjem ili nekoliko sitnih češnjeva (Lešić i sur., 2004; Parađiković, 2009).

Biljka češnjaka otporna je na niske temperature, stoga može dobro prezimiti i u kontinentalnom području. Ipak, postoje kultivari koji su osjetljivi na niske teperature. Tijekom vegetacije rast lukovice pospješuju više temperature i duži dan (Lešić i sur., 2004).

Tablica 1. Sistematika češnjaka (*Allium sativum* L.)

TAKSONOMIJA	
CARSTVO	*Plantae*
PODCARSTVO	*Magnoliophyta*
RAZRED	*Liliopsida*
RED	*Asparagales*
PORODICA	*Alliaceae*
ROD	*Allium*
VRSTA	*Allium sativum* L.

1.1.2. Kultivari češnjaka

Većina kultivara češnjaka dobivena je klonskom selekcijom lokalnih ekotipova. Kultivari se mogu podijeliti u 3 osnovne grupe:

- JESENSKI (OZIMI) - sadi se u jesen, prezimljuje, te u sljedećoj godini razvije vegetativnu masu i lukovicu. Razdoblje mirovanja je kraće stoga se ne može čuvati do proljeća. Ovaj ekotip ima krupnije i šire listove, krupniju lukovicu, te manji broj češnjeva u lukovici.
- PROLJETNI - sadi se u proljeće. Kultivari imaju duže razdoblje mirovanja , te se mogu čuvati do proljeća. Osjetljivi su na niske temperaturi. Listovi i stabljika su tanji i duži, glavice sitnije, ali s većim brojem sitnijih češnjeva u glavici.
- ALTERNATIVNI - mogu se saditi i u proljeće i u jesen. Po morfološkim i biološkim svojstvima su bliži proljetnim kultivarima. Imaju krupniju glavicu i veći prinos kada se sade u jesen.

1.1.3. Hranidbena i zdravstvena vrijednost

Češnjak se zbog svog mirisa i okusa koristi, ne samo kao povrće u užem smislu, već i kao dodatak brojnim jelima. Za miris i okus češnjaka odgovoran je alicin (Block, 1985). Prema svojem sastavu ima veliku hranidbenu vrijednost u odnosu na drugo povrće, ali se ne koristi u velikim količinama, stoga nema veće značenje. Glavni sastojci češnjaka su voda, sirove bjelančevine, sirove masti, ugljikohidrati, vlakna i minerali (Tablica 2; Lešić i sur., 2004). Češnjak sadrži više od 200 biološki aktivnih tvari, dok se većina ljekovitih i začinskih tvari nalazi većinom u lukovici. Od ljekovitih tvari prisutna su eterična ulja, minerali (natrij, kalij, magnezij, kalcij, fosfor, željezo, sumpor), aminokiseline, enzimi i vitamini (Tablica 3; Parađiković, 2009).

Voće i povrće, pa tako i češnjak, ima značajnu ulogu u obrani ljudskog organizma od različitih bolesti i to zahvaljujući visokom sadržaju antioksidacijskih tvari (Diplock i sur., 1998; Kim i sur., 1997). Češnjak ima izrazito visok sadržaj fenolnog spoja kvercetina i njegovih derivata (Herrmann, 1976; Hertog i sur., 1995), askorbinske kiseline i sumpornih spojeva zbog čega mu se pripisuje velika antioksidacijska aktivnost (Kim i sur., 1997; Lampe, 1999). Na antioksidacijska svojstva češnjaka u vrlo maloj koncentraciji utječe i alicin (Lawson, 1998). Fenolni spojevi češnjaka zbog svoje antioksidacijske aktivnosti sudjeluju u obrani stanica od vodikovog peroksida i nitrozamina kako ne bi došlo do oksidativnog oštećenja (Fabiani i sur., 2008; Tsai i sur., 2005).

Tablica 2. Glavni sastojci češnjaka (%) (Lešić i sur., 2004)

Voda	63,0-75,0
Sirove bjelančevine	4,0-6,76
Sirove masti	0,06-0,20
Ugljikohidrati	20,0-27,9
Vlakna	0,77-1,10
Minerali	1,4-1,44

Veću važnost s pozitivnog utjecaja na zdravlje ljudi imaju:

- eterično ulje koje sadrži sumpor te daje okus i miris češnjaku,

- alilpropilsulfid,
- fitoncid alicin - biljni antibiotik koji nastaje iz alina djelovanjem enzima alinaze.

Nakon upotrebe češnjaka preko kože i dišnih organa izlučuje se alilsulfid, koji je neugodnog mirisa. Češnjak ima široku upotrebu. Posjeduje antioksidativna, protuupalna i antimikrobna svojstva (Choi i sur., 2007), a njegova ljekovitost te snažan i djelotvoran učinak na ljudsko zdravlje, poznata je od davnina. Upotrebljava se kao lijek, u ljekarnama se prodaju tablete, kapsule i tinkture od češnjaka koje imaju pozitivan učinak na zdravlje ljudi. Aminokiseline iz češnjaka utječu na sniženje razine štetnog kolesterola u plazmi, a organske komponente iz češnjaka, koje sadrže sumpor, smanjuju razinu kolesterola i djeluju preventivno na razvoj malignih bolesti. Koristi se kod prehlada i gripe, pomaže pri izlučivanju žuči, te normalizira djelovanje jetre (Lešić i sur., 2004; Parađiković, 2009).

Tablica 3. Sastav vitamina i minerala u 3 g (1 češanj) u gramima (Parađiković, 2009)

Vitamin A (IU)	U tragovima
Vitamin B1 (mg)	0,1
Vitamin B2 (mg)	U tragovima
Vitamin C (mg)	U tragovima
Bakar (mg)	0,008
Cink (mg)	0,038
Kalcij (mg)	1
Kalij (mg)	16
Fosfor (mg)	6
Natrij (mg)	1

*IU- internacionalne jedinice

1.1.4. Uzgoj češnjaka

Češnjak se može saditi u proljeće ili u jesen. Za proljetnu sadnju se tlo priprema oranjem u jesen ili zimu kad se pripreme grubo uzdignute gredice, koje omogućuju raniju pripremu za sadnju. Tlo se za jesensku sadnju priprema također oranjem, krajem ljeta ili početkom jeseni na 25 do 30 cm dubine, uz prikladnu gnojidbu kalijem i fosforom. Prije sadnje pripreme se uzdignute gredice, da bi se izbjegla prevelika vlaga u zoni sadnje u slučaju obilnijih oborina tijekom zime, ali također treba izbjegavati i previše usitnjeni površinski sloj, da se ne stvori jača pokorica. Za sadnju se koriste krupnije, neoštećene i zdrave lukovice, pravilnog oblika koje se do početka sadnje čuvaju u zračnom skladištu na prikladnoj temperaturi. Za jesensku sadnju preporučuje se skladištenje na temperaturi od 15 do 16 °C koja uzrokuje dormantnost, a pred sadnju skladištenjem na 5 do 6 °C čime se prekida dormantnost. Niske temperature prije sadnje utječu na razvoj listova, produžuju vegetaciju, a time utječu i na povećanje lukovice. Tijekom vegetacije usjev se štiti od korova, bolesti i štetnika, navodnjava se i prihranjuje. Protiv korova najviše se primjenjuju herbicidi jer su ostale mjere zaštite manje učinkovite i zahtijevaju puno više rada. Češnjak napadaju brojne bolesti, štetnici i nematode, a također je izložen i velikom broju virusa, od kojih je najčešći OYDV (**O**nion **Y**ellow **D**warf **V**irus), kojeg prenose kukci. Vadi se kada lažna stabljika omekša i nadzemni dio počne polijegati jer tada u rezervnom tkivu češnjeva ima najviše šećera. Izvađeni češnjak se ostavlja u gredici 8 do 10 dana pokriven lišćem dok se ne osuši, te se očisti od korijenja. Može se vaditi mehanizirano ili ručno, pri čemu se treba paziti da dođe do što manjeg oštećenja. Češnjak I. klase mora biti cjelovit, pravilnog oblika, te češnjevi moraju biti čvrsto priljubljeni, dok češnjak II. klase smije imati nepravilan oblik lukovice, dopušteno je pucanje vanjskih ljuski, a glavici smije nedostajati najviše 3 češnja (Lešić i sur., 2004; Parađiković, 2009).

1.2. ASKORBINSKA KISELINA

Askorbinska kiselina ili vitamin C je jedan od najviše proučavanih i prvi sintetski proizveden vitamin. Prvi put su je sintetizirali Haworth i Hirst. Otkrivena je još u 17.stoljeću, ali točna uloga za ljudsko zdravlje još je uvijek misterija. 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).

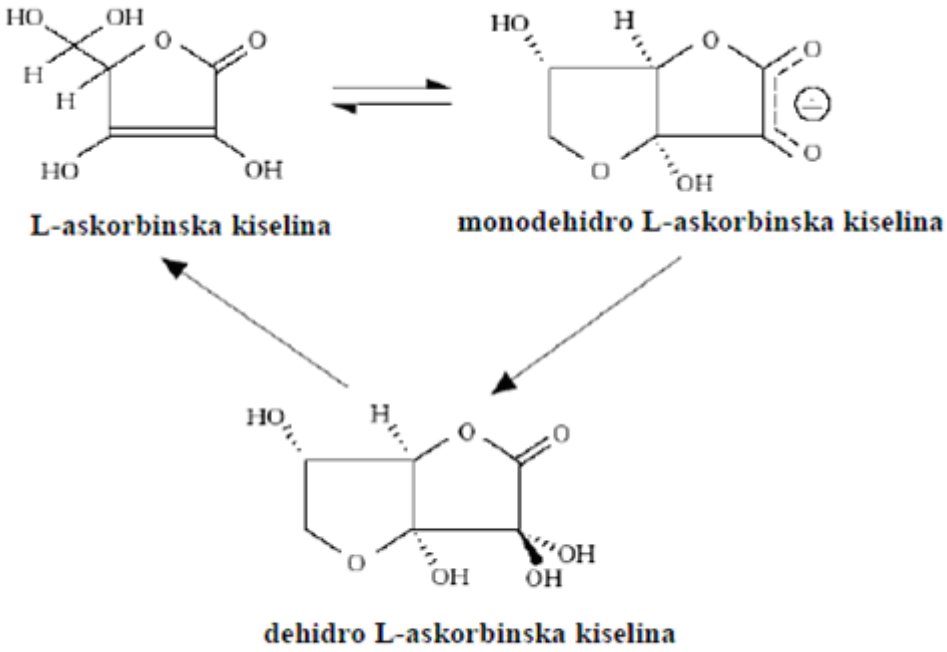
Doprinos vitamina C u ukupnoj antioksidacijskoj aktivnosti voća i povrća općenito iznosi oko 10% (Slinkard i Singleton, 1977). Jedan je od najpopularnijih i najmanje toksičnih antioksidansa, te se većinom koristi kao dodatak prehrani kako bi neutralizirao štetne učinke oksidativnog stresa (Gardner i sur., 2002). Uz voće, povrće sadrži najviše askorbinske kiseline (Tablica 4; Parađiković, 2009).

Tablica 4. Sadržaj askorbinske kiseline u svježem povrću i voću (Johnson i sur., 1998; Parađiković, 2009)

POVRĆE I VOĆE	mg/100 g svježe tvari
Crveni luk	6
Češnjak	18
Rajčica	28
Kelj pupčar	121
Paprika	252
Peršin-list	257
Jabuka	3-30
Banana	8-16
Višnja	15-30
Naranča	30-40
Limun	40-50
Jagoda	40-70

1.2.1. Struktura i kemijska svojstva askorbinske kiseline

Askorbinska kiselina građena je od šest ugljikovih atoma (Slika 2), pa je po strukturi slična glukozi. Glavni prekurzori za sintezu askorbinske kiseline u biljnim stanicama su *L*-galaktoza i L-galaktono-*1,4*-lakton (Barata-Soares i sur., 2004), dok kod ljudi ova reakcija nije moguća zbog nedostatka enzima *L*-gulonolakton oksidaze (Naidu, 2003). Stoga ljudi askorbinsku kiselinu nadoknađuju prehranom ili tabletama. U organizmu se askorbinska kiselina reverzibilno oksidira u monodehidroaskorbatni radikal koji disproporcionira na askorbinsku kiselinu i dehidroaskorbinsku kiselinu (Slika 2) Budući da je dehidroaskorbinska kiselina vrlo nestabilna pri pH većem od 7, potrebno je održavati zalihe askorbinske kiseline u reducirajućem obliku kako bi se spriječio njen gubitak (Smirnoff, 1996). Dehidroaskorbinska kiselina je bijeli kristalni prah, bez mirisa, kiselog okusa, te je osjetljiva na svjetlost. Lako se otapa u alkoholu i vodi, dok je u kloroformu i eteru netopljiva. Jako je nestabilna, lako gubi svojstva skladištenjem i prokuhavanjem, podložna je oksidaciji, posebno na zraku i pod utjecajem metala (željeza i bakra) te alkalnih elemenata (Moser i Bendich, 1991).



Slika 2. Struktura i međusobni odnosi askorbinske kiseline i njenih oksidiranih oblika (Smirnoff, 1996)

1.2.2. Funkcija askorbinske kiseline

Askorbinska kiselina je izuzetno važan antioksidans koji u suradnji s ostalim komponentama antioksidacijskog sustava, djelotvorno štiti od oksidativnih oštećenja (Smirnoff, 1996). Zahvaljujući reaktivnoj endiol skupini (Slika 2) uspješno može neutralizirati slobodne radikale (Naidu, 2003). Osim što ima snažna antioksidacijska svojstva, askorbinska kiselina, neizravno sudjeluje u različitim metaboličkim reakcijama te ima sposobnost regeneracije drugih biološki važnih antioksidansa, kao što su glutation i vitamin E (Halpner i sur., 1998; Jacob, 1995). Također, askorbinska kiselina važan je kofaktor enzima koji sudjeluju u sintezi kolagena, karnitina i neurotransmitera (Levine, 1986). Jedna od funkcija askorbinske kiseline je i redukcija oksidaza uključenih u metabolizam detoksifikacije ksenobiotika (Tsao, 1997).

1.3. FENOLNI SPOJEVI

Fenolni spojevi su sekundarni metaboliti prisutni u povrću, voću i žitaricama (Pietta i sur., 1988) koji imaju veliku antioksidacijsku aktivnost i stoga sposobnost smanjenja oksidativnog oštećenja (Kähkönen i sur., 2003). Postoji nekoliko tisuća poznatih fenolnih spojeva koji se sintetiziraju u biljkama, a broj otkrivenih još uvijek raste (Boudet, 2007). Fenolni spojevi pripadaju velikoj skupini polifenola koja uključuje više od 8000 spojeva s velikom strukturnom raznolikošću (Garcia-Salas i sur., 2010).

1.3.1. Struktura i kemijska svojstva fenolnih spojeva

Fenolni spojevi pripadaju skupini organskih spojeva građenih od aromatskog prstena s jednom ili više hidroksilnih skupina (Urquiaga i Leighton, 2000). Sintetiziraju se u biljkama sekundarnim metaboličkim putevima, šikimatskim ili acetil-malatnim putem, iz primarnih prekurzora ugljikohidrata, aminokiselina i lipida (Harborne, 1980). Neki fenolni spojevi topljivi su samo u organskim otapalima, u vodi su topljivi glikozidi, dok su polimeri u potpunosti netopljivi (Rodney i sur., 2000). Prema osnovnoj kemijskoj strukturi dijele se na fenolne kiseline i flavonoide (Manach i sur., 2008).

Fenolne kiseline građene su od jednog aromatskog prstena (Manach i sur., 2008). U prirodi su prisutne u slobodnom obliku, konjugirane sa šećerima i organskim kiselinama (Schuster i Hermann, 1985; Strack, 1997) ili kao esteri (Macheix i sur., 1990). Nalaze se u

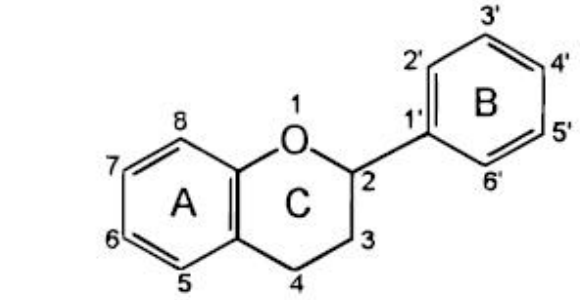
voću, povrću i u vrlo malim koncentracijama u crvenom bobičastom voću (Aytul, 2010). Dijele se na *hidroksibenzojeve kiseline* (C_6-C_1) i *hidroksicimetne kiseline* (C_6-C_3) (Slika 3).



(A) (B)

Slika 3. Kemijska struktura (A) hidroksibenzojevih (Robards i sur., 1999) I (B) hidroksicimetnih kiselina (Macheix i sur., 1990)

Flavonoidi su građeni od dva benzenska prstena povezana piranskim prstenom koji sadrži kisik (Slika 4; Manach i sur., 2008). Mogu se povezivati s monosaharidima ili polisaharidima i tvoriti glikozide ili funkcionalne derivate (estere i metil estere). Prema topljivosti dijele se na lipofilne i hidrofilne flavonoide (Harborne i Baxter, 1999). Nalaze se u voću, povrću, mahunarkama, žitaricama, orašastim plodovima, ljekovitom bilju, začinima i piću (pivo, vino, čaj). Flavonoidi se mogu podijeliti u 13 različitih skupina, a najpoznatije su flavoni, flavonoli, flavanoni, izoflavoni i antocijanini (Aytul, 2010) .



.

Slika 4. Struktura flavonoida (Pietta, 2000)

1.3.2. Funkcija fenolnih spojeva

Glavna funkcija fenolnih spojeva prisutnih u voću, povrću i žitaricama je smanjenje štetnih učinaka oksidativnog stresa (Lee i sur., 2002). Iako se sintetiziraju u biljkama, nemaju ulogu u rastu i razvoju (Rodney i sur., 2000). Flavonoidi (kvercetin, miricetin i kemferol) i flavoni (apigenin, luteolin) pokazuju antioksidacijska i antitumorska svojstva, koriste se kao antibiotici i u liječenju mnogih bolesti kao što su hipertenzija, vaskularne bolesti, te kod alergija i upalnih procesa (Cooks i Samman, 1996; Larson, 1988; Rice-Evans i Miller, 1996). Flavonoidi mogu inhibirati enzime kao što su prostaglandini, lipoksigenaze i ciklooksigenaze, te enzime vezane za tumorogenezu (Laughton i sur., 1991). Antocijanini bojom privlače insekte za oprašivanje, te štite stanice od štetnih oksidacijskih spojeva (Escarpa i Gonzalez, 2001).

Jedna od negativnih funkcija fenolnih spojeva je i da mogu narušiti strukturu i funkciju citoplazmatske membrane stanica bakterija mliječne kiseline, sniziti pH vrijednosti i denaturirati proteine u citoplazmi stanice (Andler, 2011).

1.3.3. Fenolni spojevi češnjaka

Uloga fenolnih spojeva i njihova važnost tema je brojnih istraživanja diljem svijeta. U literaturi postoji dosta podataka o fenolnim spojevima češnjaka. Češnjak sadrži fenolne spojeve koji imaju farmakološko značenje i prisutni su u vrlo velikim količinama. Češnjak je na drugom mjestu u poretku po sadržaju ukupnih fenola, od 23 vrste povrća koja se najčešće konzumiraju (Vinson i sur., 1998). Neki produkti češnjaka, kao što su ekstrakti i crni češnjak, sadrže povećanu koncentraciju polifenola u odnosu na svježi češnjak (Sato i sur., 2006; Park i sur., 2009).

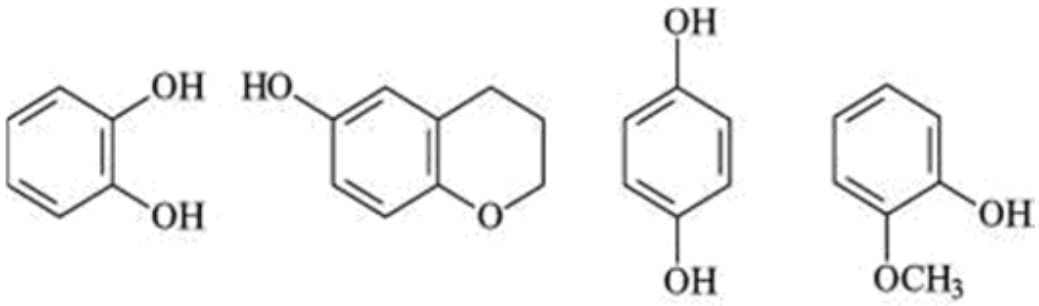
Fenolne spojeve u češnjaku i luku kvantificirali su Gorinstein i sur. (2008). Dokazali su da je zbroj hidroksicimetnih kiselina (*p*-kumarinska, ferulinska, sinapinska i kafeinska kiselina) dva puta veći u češnjaku nego u luku. Povrće iz roda *Allium* (luk, vlasac i češnjak) jedan je od glavnih izvora flavonoida koji se koriste u prehrani (Hertog i sur., 1995; Knekt i sur., 1996). Od flavonoida u češnjaku su pronađeni miricetin, kvercetin, apigenin i kemferol (Mien i Mohamed, 2001; Gorinstein i sur., 2008), dok antocijanini nisu pronađeni (Gorinstein i sur., 2008).

1.4. ANTIOKSIDACIJSKA AKTIVNOST

Antioksidansi (Slika 5) 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 oksidativnog stresa i štite metabolizam od visoko reaktivnih kisikovih jedinki koje mogu uzrokovati degenerativne bolesti ili oštetiti stanice u ljudskom organizmu (Helen i sur. 2000). Reaktivni oblici kisika (**R**eactive **O**xygen **S**pecies-ROS) su vrlo male molekule, koje uključuju hidroksilne (·OH) ili superoksidne radikale (O^{2-}), vodikov peroksid (H_2O_2) i singletni kisik ($^1O_2$). Prisutnost nesparenih elektrona čini ih vrlo reaktivnima. Nastaju uslijed nekompletne redukcije kisika ili oksidacijom vode u lancu transporta elektrona. Reaktivni oblici kisika mogu oštetiti biljne stanice, membrane i DNA, mogu dovesti do pojave karcinoma, ubrzati proces starenja ili dovesti do oksidativnog stresa. Oksidativni stres uzrokuje svako stanje u kojem se narušava homeostaza (Kawanishi i sur., 2001).

Većina voća i povrća su potencijalno korisni za smanjenje rizika od kroničnih bolesti i nekih oblika raka (Block i sur., 1992; Hertog i sur. 1995; Lampe, 1999). Stoga je vrlo važno znati učinkovitost i sadržaj antioksidansa u hrani za očuvanje i zaštitu od oksidativnog oštećenja (Halliwell, 1997). Ti zaštitni učinci se mogu pripisati raznim antioksidacijskim spojevima, kao što su vitamin C i E, *β*-karoteni i polifenoli (Diplock i sur., 1998). Postoje dva izvora antioksidansa: ljudski organizam koji je sposoban sam ih proizvesti uz pomoć vitamina i minerala, dok je drugi, vanjski izvor, hrana koju svakodnevno unosimo. Antioksidanse tradicionalno možemo podijeli u primarne i sekundarne (Antolovich i sur., 2002). Primarni antioksidansi onemogućuju nastajanje slobodnih radikala, dok sekundarni antioksidansi uništavaju već stvorene slobodne radikale (Puljak i sur., 2004).

Antioksidacijska aktivnost češnjaka ponajprije se pripisuje sumpornim spojevima i njegovim pretečama (Kim i sur., 1997; Lampe, 1999). Veza između ukupnih fenola i antioksidacijske aktivnosti u biljkama vrlo je specifična (Stratil i sur, 2006). Kod nekih biljaka (bijelo i crveno grožđe, crna i zelena maslina, đumbir, nar) pronađena je pozitivna veza između antioksidacijske aktivnosti i fenolnih komponenti nakon mjerenja svježih uzoraka, jer su dobivene vrijednosti antioksidacijske aktivnosti i ukupnih fenola bile u oba mjerenja visoke, dok je kod nekih biljaka (češnjak) nakon mjerenja antioksidacijske aktivnosti i ukupnih fenola svježeg uzorka, koncentracija fenola bila puno veća od antioksidacijske aktivnosti (Quisti i sur., 2010). Flavonoidi imaju veću antioksidacijsku aktivnost prema peroksidnim radikalima od vitamina C, vitamina E i glutationa (Cao i sur., 1996).



Slika 5. Kemijska struktura antioksidansa (Pokorny, 2007)

1.4.1. Mjerenje ukupne antioksidacijske aktivnosti

Da bi se odredila antioksidacijska aktivnost razvijen je velik broj metoda koje se temelje na različitim mehanizmima djelovanja obrambenog sustava antioksidansa, poput uklanjanja ili inhibicije slobodnih radikala (Prakash i sur., 2001).

Najbolje bi bilo koristiti dvije ili više metoda za određivanje ukupne antioksidacijske aktivnosti povrća (Nuutila i sur., 2003).

Jedna od najpoznatijih metoda koja je korištena i u ovom radu je:

- **DPPH** (radikal *2,2*-difenil-*2*-pikrilhidrazil-*'hvatač slobodnih radikala'*) **METODA** Jedna je od najstarijih indirektnih metoda koja se temelji na sposobnosti ekstrakta da smanji aktivnost DPPH radikala. Metoda se može uspješno koristiti za čvrste uzorke bez prethodne ekstrakcije i koncentracije koja štedi vrijeme. Redukcija DPPH• sa antioksidansom (AH) prati se smanjenjem apsorbancije pri valnoj duljini od 515nm.

  DPPH• + AH DPPH-H + A•

Ova se metoda temelji na redukciji stabilnog radikala DPPH•, koji radi nesparenog elektrona pokazuje jaku apsorpciju u vidljivom dijelu elektromagnetskog spektra. Sparivanjem elektronskog para stabilnog radikala DPPH• u prisutnosti elektron donora (antioksidans, koji hvata slobodne radikale), ljubičasta se boja mijenja u žutu. Nastali spoj ima smanjeni intenzitet apsorpcije u vidljivom dijelu spektra, a rezultirajuće obezbojenje je u stehiometrijskom odnosu s brojem sparenih elektrona. DPPH metoda je vrlo brza i točna metoda (Prakash i sur., 2001).

1.5. CILJ ISTRAŽIVANJA

Cilj ovog istraživanja bio je ispitati koncentraciju ukupnih fenola, askorbinske kiseline, odrediti ukupnu antioksidacijsku aktivnost četiri primke ozimog slavonskog češnjaka, te utvrditi postojanje korelacija između tih parametara.

2. MATERIJALI I METODE

2.1. MATERIJALI

U istraživanju je korišten slavonski ozimi češnjak koji je posađen 10.10.2010., a vađen 01.07.2011. Pokus sadnje postavljen je kao jednofaktorijalni na obiteljskom poljoprivrednom gospodarstvu Vinković u Livani. Sva laboratorijska mjerenja napravljena su u biokemijskom laboratoriju Odjela za Biologiju u Osijeku. Napravljena su u četiri ponavljanja sa četiri primke kultivara slavonskog ozimog češnjaka pri čemu su se koristile dvije lukovice po ponavljanju (Slika 6). Sve ekstrakcije rađene su s vodom.

Analiza navedenih uzoraka provedena je u razdoblju od 11.07.2011. do 15.07.2011.godine. Od morfoloških parametara određena je prosječna masa lukovice češnjaka (Slika 7), te prosječan broj češnjeva u lukovici (Slika 8).

2.2. METODE RADA

Tijekom istraživanja u vodenom ekstraktu češnjaka određeni su:

- Ukupna askorbinska kiselina
- Ukupni fenolni spojevi
- Ukupna antioksidacijska aktivnost



Slika 6. Četiri primke ozimog slavonskog češnjaka (*Allium sativum* L.) korištene u radu (Foto: N. Parađiković)



Slika 7. Lukovica ozimog slavonskog češnjaka (*Allium sativum* L.; Foto: N. Parađiković)



Slika 8. Češnjevi ozimog slavonskog češnjaka (*Allium sativum* L.; Foto: N. Parađiković)

2.2.1. Određivanje koncentracije askorbinske kiseline

Odvaže se jedan gram usitnjenog češnja češnjaka sa točnošću ± 0,1 g, te se ručno homogenizira u tarioniku sa 10 ml destilirane H_2O uz dodatak kvarcnog pijeska. Nakon toga suspenzije se centrifugiraju 15 minuta na 5000*g* i iz vodenog ekstrakta se spektrofotometrijski određuje sadržaj ukupne askorbinske kiseline prema Benderitter i sur. (1998). Na 500 µl reakcijske smjese koja se sastoji od 300 µl vodenog ekstrakta češnjaka, 100 µl 13,3% trikloroctene kiseline i 25 µl destilirane H_2O dodaje se 75 µl otopine *2,4*-dinitrofenilhidrazina (DNPH) otopine. Reakcijske smjese se inkubiraju 3 h na 37 °C i nakon toga se u njih dodaje 500 µl 65% H_2SO_4. Slijepe probe se procesiraju na isti način kao i uzorci, ali se u njih otopina DNPH dodaje nakon inkubacije u vodenoj kupelji. Apsorbancija tako priređenih uzoraka se određuje pri 520 nm, a koncentracija ukupne askorbinske kiseline u vodenim ekstraktima češnjaka se računa iz baždarnog pravca u kojem se askorbinska kiselina koristi kao standard.

2.2.2. 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-fosfovolframske kiseline) s reducirajućim reagensom (fenolni spoj) pri čemu dolazi do pojave plave boje. U reakcijsku smjesu dodaje se 20 µl vodenog ekstrakta češnjaka, 1,58 ml destilirane H_2O i 100 µl Folin-Ciocalteu reagensa uz miješanje na rotacijskoj miješalici. Nakon toga treba pričekati najmanje 30 sekundi, a najviše 8 minuta i u tom vremenskom periodu dodati u uzorke 300 µl zasićene otopine Na_2CO_3 i dobro promiješati. Uzorci se zatim inkubiraju u vodenoj kupelji 1 h na 37 °C. Apsorbancija tako priređenih uzoraka se određuje pri 765 nm, a sadržaj ukupnih fenola u vodenim ekstraktima češnjaka se računa iz baždarnog pravca u kojem se galna kiselina koristi kao standard.

2.2.3. 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 stabilnog radikala *1,1*-difenil-*2*-pikrilhidrazila (DPPH•) i uzorka u kojem se mjeri antioksidacijska aktivnost.

U zatvorene mikroepruvete se dodaje 20 µl vodenog ekstrakta češnjaka i dopuni se do volumena od 1 ml 0,094 mM otopinom DPPH. Slijepa proba se priređuje na isti način samo što se umjesto uzorka dodaje destilirana voda. Reakcija se odvija u čvrsto zatvorenim mikroepruvetama 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 se računa iz baždarnog pravca u kojem se Trolox (*6*-hidroksi-*2,5,7,8*-tetrametilkroman-*2*-karbonska kiselina) koristi kao standard i izražava se u ekvivalentima Troloxa.

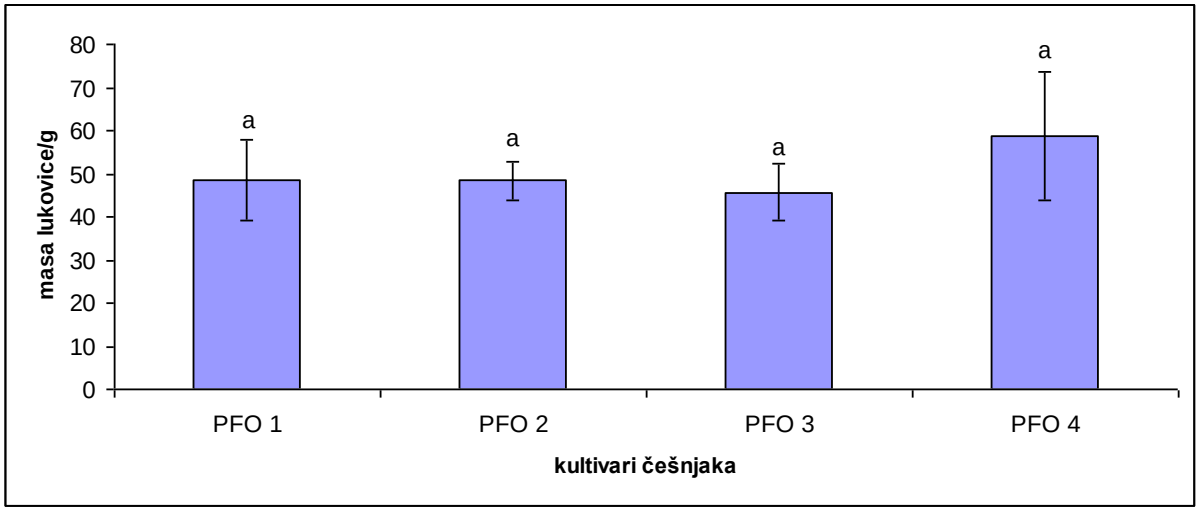
2.2.4. Statistička obrada podataka

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 statističkog paketa Statistica 8.

4. REZULTATI

4.1. PROSJEČNA MASA LUKOVICE ČEŠNJAKA

Najveću prosječnu masu lukovice imao je kultivar 4 (PFO 4) i iznosila je 58,821 g, no ta vrijednost se nije statistički značajno razlikovala od prosječnih masa lukovica ostalih kultivara (kultivar 1 (PFO 1) - 48,5545 g; kultivar 2 (PFO 2) - 48,465 g; kultivar 3 (PFO 3) - 45,654 g; Slika 9)

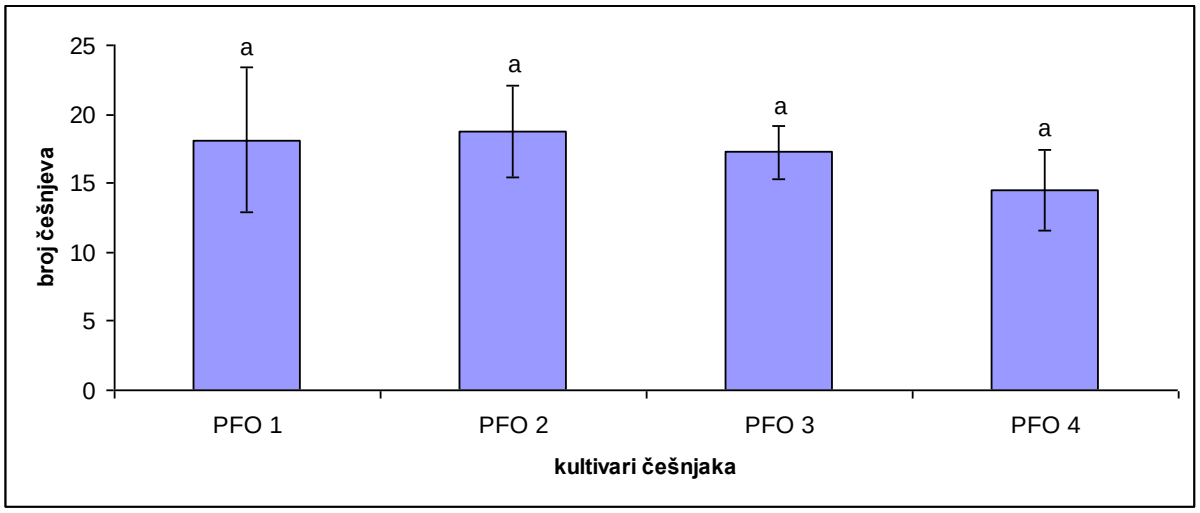


Slika 9. Prosječna masa lukovica četiri kultivara slavonskog ozimog češnjaka. Prosječne vrijednosti označene istim slovom (a,b,c) se ne razlikuju prema LSD testu; $p \leq 0{,}05$.

*PFO 1- prvi kultivar slavonskog ozimog češnjaka; PFO 2- drugi kultivar slavonskog ozimog češnjaka; PFO 3- treći kultivar ozimog slavonskog češnjaka; PFO 4- četvrti kultivar slavonskog ozimog češnjaka

4.2. PROSJEČAN BROJ ČEŠNJEVA U LUKOVICI

Najveći prosječan broj češnjeva u lukovici imali su PFO 1 (18,125) i 2 (18,750), no ta se vrijednost statistički nije značajno razlikovala od prosječnog broja češnjeva kod ostalih kultivara (PFO 3 - 17,250; PFO 4 - 14,500; Slika 10).

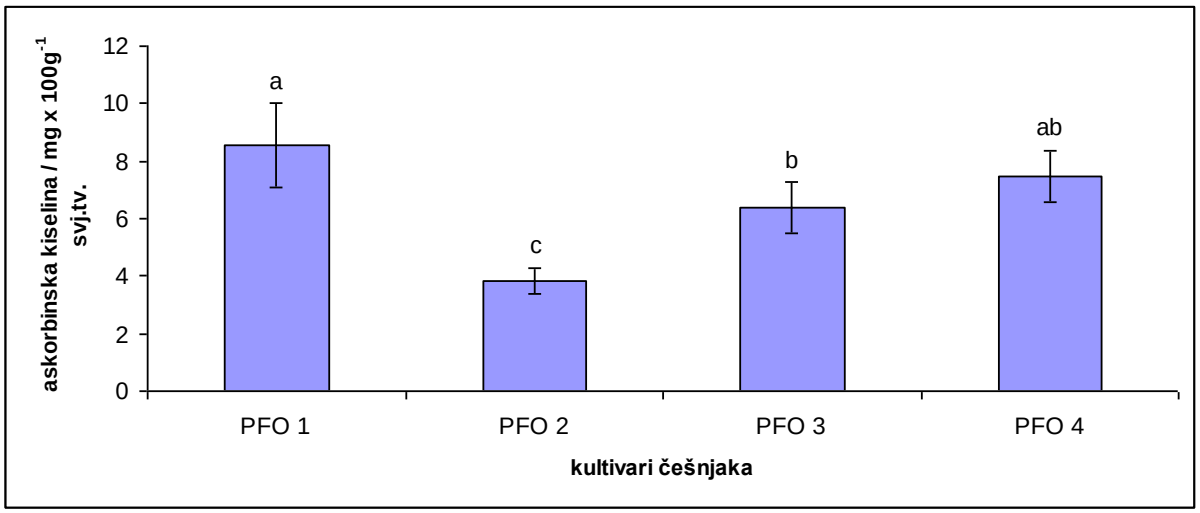


Slika 10. Prosječan broj češnjeva u lukovici četiri kultivara slavonskog ozimog češnjaka. Prosječne vrijednosti označene istim slovom (a,b,c) se ne razlikuju prema LSD testu; $p \leq 0,05$

*PFO 1- prvi kultivar slavonskog ozimog češnjaka; PFO 2- drugi kultivar slavonskog ozimog češnjaka; PFO 3- treći kultivar ozimog slavonskog češnjaka; PFO 4- četvrti kultivar slavonskog ozimog češnjaka

4.3. UKUPNA KONCENTRACIJA ASKORBINSKE KISELINE U ČEŠNJAKU

Najveću koncentraciju askorbinske kiseline imao je PFO 1 (8,5705 mg askorbinske kiseline/100 g svj.tv.) i ta vrijednost se nije statistički značajno razlikovala od koncentracije askorbinske kiseline kod PFO 4 (7,4703 mg askorbinske kiseline /100 g svj.tv.). PFO 3 je imao nešto nižu koncentraciju askorbinske kiseline (6,3835 mg askorbinske kiseline /100 g svj.tv.) koja se nije značajno razlikovala od vrijednosti kod PFO 4. PFO 2 je imao 2x nižu koncentraciju askorbinske kiseline u odnosu na ostale kultivare (3,8215 mg askorbinske kiseline /100 g svj.tv.; Slika 11).

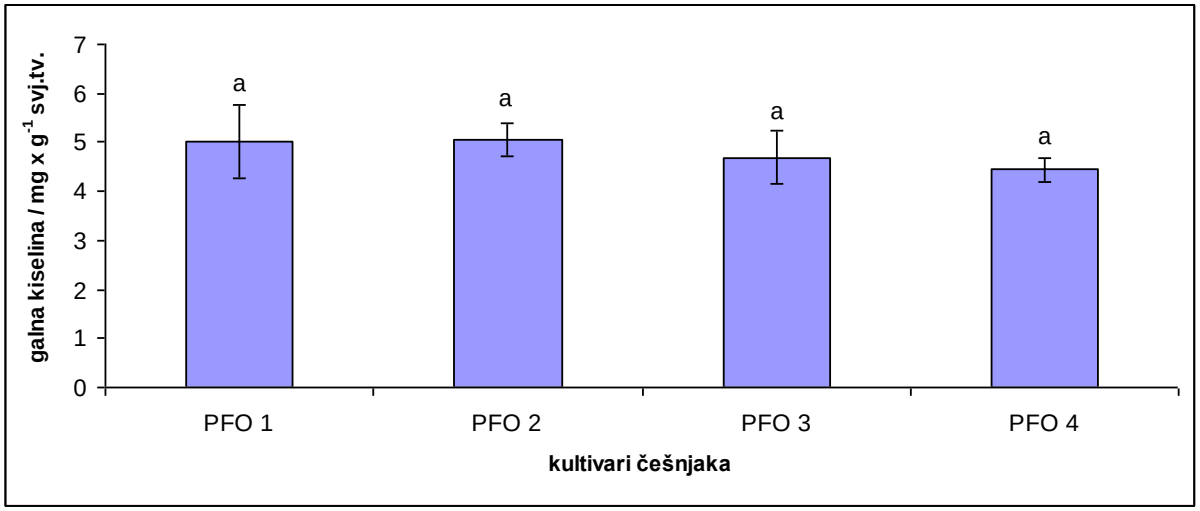


Slika 11. Ukupna koncentracija askorbinske kiseline kod četiri kultivara slavonskog ozimog češnjaka. Prosječne vrijednosti označene istim slovom (a,b,c) se ne razlikuju prema LSD testu; $p \leq 0,05$

*PFO 1- prvi kultivar slavonskog ozimog češnjaka; PFO 2- drugi kultivar slavonskog ozimog češnjaka; PFO 3- treći kultivar ozimog slavonskog češnjaka; PFO 4- četvrti kultivar slavonskog ozimog češnjaka

4.4. UKUPNA KONCENTRACIJA FENOLNIH SPOJEVA U ČEŠNJAKU

PFO 2 je imao najveću koncentraciju fenolnih spojeva (5,054 mg galne kiseline/g svj.tv.), no ta vrijednost se nije statistički značajno razlikovala od koncentracije fenolnih spojeva kod ostalih kultivara (PFO 1 - 5,029 mg galne kiseline/g svj.tv.; PFO 3 - 4,698 mg galne kiseline/g svj.tv.; PFO 4 - 4,436 mg galne kiseline/g svj.tv.; Slika 12).



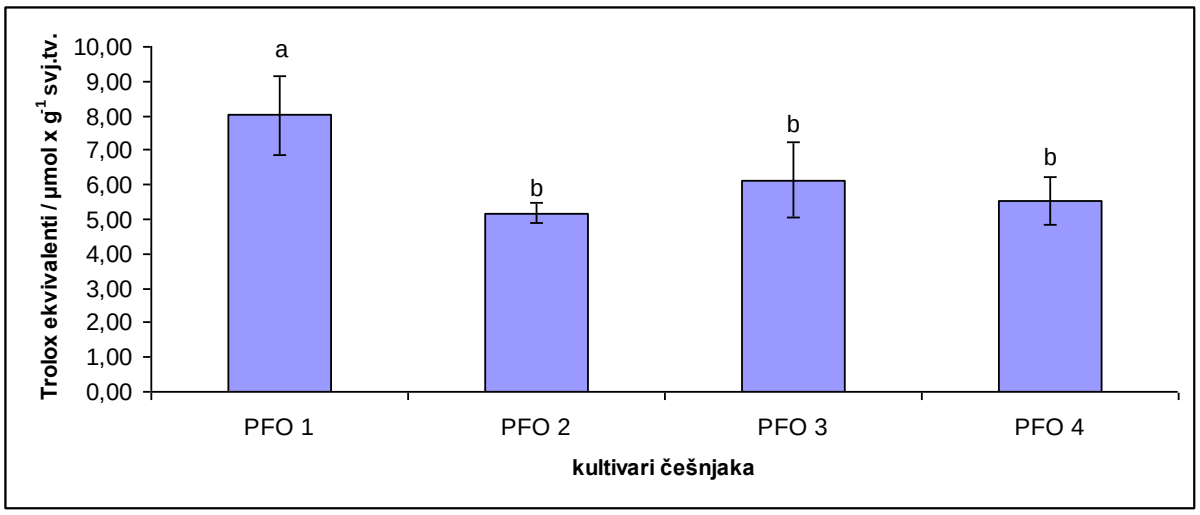
Slika 12. Ukupna koncentracija fenolnih spojeva kod četiri kultivara slavonskog ozimog češnjaka. Prosječne vrijednosti označene istim slovom (a,b,c) se ne razlikuju prema LSD testu; $p \leq 0,05$

*PFO 1- prvi kultivar slavonskog ozimog češnjaka; PFO 2- drugi kultivar slavonskog ozimog češnjaka; PFO 3- treći kultivar ozimog slavonskog češnjaka; PFO 4- četvrti kultivar slavonskog ozimog češnjaka

4.5. UKUPNA ANTIOKSIDACIJSKA AKTIVNOST ČEŠNJAKA

Najveću antioksidacijsku aktivnost vodenih ekstrakata češnjaka imao je PFO 1 (8,006 µmol Trolox/g svj.tv.). Između ostala tri kultivara nije bilo statistički značajne razlike u antioksidacijskoj aktivnosti (PFO 3 - 6,135 µmol Trolox/g svj.tv.; PFO 4 - 5,530 µmol Trolox/g svj.tv.; PFO 2 - 5,182 µmol Trolox/g svj.tv.; Slika 13).

Ukupna antioksidacijska aktivnost vodenih ekstrakata češnjaka bila je u značajnoj pozitivnoj korelaciji s ukupnom koncentracijom askorbinske kiseline (r^2=0,6495; p=0,006).



Slika 13. Ukupna antioksidacijska aktivnost kod četiri kultivara slavonskog ozimog češnjaka. Prosječne vrijednosti označene istim slovom (a,b,c) se ne razlikuju prema LSD testu; $p \leq 0,05$

*PFO 1- prvi kultivar slavonskog ozimog češnjaka; PFO 2- drugi kultivar slavonskog ozimog češnjaka; PFO 3- treći kultivar ozimog slavonskog češnjaka; PFO 4- četvrti kultivar slavonskog ozimog češnjaka

5. RASPRAVA

Češnjak (*Allium sativum* L.) i vrste iz roda *Allium* imaju značajnu ulogu u obrani ljudskog organizma od različitih bolesti, zahvaljujući visokom sadržaju antioksidacijskih tvari (Hertog, 1995; Velioglu i sur., 1998; Yin i Cheng, 1998; Miller i sur., 2000). Brojna istraživanja provedena na češnjaku dokazala su prisutnost dviju glavnih skupina antioksidacijskih spojeva, fenolnih spojeva od kojih su najzastupljeniji flavonoidi, te nekoliko sumpornih spojeva (Kim i sur., 1997; Lampe, 1999). Osim fenolnih i sumpornih spojeva češnjak sadrži vitamine (A, C i E) i alicin koji također utječu na njegovu antioksidacijsku aktivnost (Alpers, 2009; Lawson, 1998).

Od morfoloških parametara određena je masa i broj češnjeva u lukovici ozimog slavonskog češnjaka. Najveću masu (58,821 g), ali i najmanji broj češnjeva u lukovici (14, 500) imao je kultivar PFO 4, što znači da su njegovi češnjevi bili najveći. Kultivari PFO 1, PFO 2 i PFO 3 su imali gotovo jednaku masu i broj češnjeva u lukovici (Slika 9 i 10). Hacıseferoğulları i sur. (2004) odredili su fizikalna i kemijska svojstva češnjaka i dobili su da 86% ispitivanog češnjaka ima masu od 25-50 g, dok je prosječna masa lukovice bila 32, 81 g. Prosječan broj češnjeva u lukovici bio je 17,56, a 88% češnjaka imao je od 15-23 češnja u lukovici. Također postoji podatak da jedan češanj može težiti od 1,5 do 3 g (Alpers, 2009). Dobiveni podaci se značajno ne razlikuju od rezultata dobivenih ranije.

Zbog velike složenosti metoda ekstrakcije i analize fenolnih spojeva u voću i povrću postoje varijacije u sadržaju ukupnih fenolnih spojeva (Bravo, 1998; Kalt, 2001). Fenolni spojevi osjetljivi su na različite uvjete (kisele otopine i visoke temperature) tijekom postupka ekstrakcije. Voda se navodi kao dobro otapalo za određivanje antioksidacijske aktivnosti i sadržaja ukupnih fenolnih spojeva češnjaka (Gorinstein i sur., 2006; Wangcharoen i Morasuk, 2007). Sadržaj fenolnih spojeva u biljkama ovisi o unutarnjim-genetičkim (rod, vrsta, kultivar) i vanjskim (agronomski, okolišni, uvjeti skladištenja) faktorima (Rapisarda, 1999; Tómas-Barberán i Espin, 2001). Beato i sur. (2011) su pokazali 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 fenolni spojeva u slavonskom ozimom češnjaku - sadržaji ukupnih fenolnih spojeva sva četiri kultivara ozimog slavonskog češnjaka se nisu statistički značajno razlikovali (5,054-4,436 mg galne kiseline/g svježe tvari). Dobivene rezultate možemo objasniti i činjenicom da su sva četiri kultivara ozimog slavonskog češnjaka bila posađena na istoj lokaciji. Gorinstein i sur. (2005) su dokazali da postoji razlika u sadržaju fenolnih spojeva između češnjaka posađenog na različitim lokacijama. U nekim vrstama roda *Allium* je također 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) su ispitali sadržaj ukupnih fenolnih spojeva na svježem i suhom češnjaku, a rezultati koje su dobili pokazali su da je svježi 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.

Abiotički faktori utječu na promjene u aktivnosti enzima fenilalanin amonij lijaze (PAL), ključnog enzima u biosintezi fenolnih spojeva (Tómas-Barberán i Espin, 2001). Kod biljaka koje rastu na nižim temperaturama pronađena je visoka aktivnost enzima PAL (Treutter, 2010). Suša je jedan od glavnih abiotičkih čimbenika koja utječe na rast i produktivnost usjeva, ali ima i utjecaj na biosintezu askorbinske kiseline (Reddy i sur., 2004).

Dosadašnja istraživanja su 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 sva četiri kultivara ozimog slavonskog češnjaka se statistički nisu značajno razlikovale (Slika 12) i nisu bile u značajnoj pozitivnoj vezi s ukupnom antioksidacijskom aktivnošću. Bayili i sur. (2011) su pokazali 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 ne-fenolnih spojeva kao što su organo-sumporne komponente, od kojih najviše *S*-alkil-*L*-cistein sulfoksidi i ostalih ne-fenolnih spojeva koji sudjeluju u determinaciji ukupne antioksidacijske aktivnosti češnjaka (Amagese i sur., 2001; Borek, 2001; Corzo-Martinez i sur., 2007). Slaba korelacija između ukupne antioksidacijske aktivnosti i ukupnog sadržaja fenolnih spojeva pokazuje nam raznolikost antioksidansa prisutnih u biljkama, čak i kod kultivara ista vrste (Kähkönen i sur., 1999; Deepa i sur., 2006; Saxena i sur., 2007).

Askorbinska kiselina je također jedan od važnih ne-fenolnih antioksidansa prisutnih u češnjaku. U ovom istraživanju utvrđena je značajna pozitivna korelacija između ukupne antioksidacijske aktivnosti i koncentracije askorbinske kiseline (r^2=0,6495; p=0,006). U istraživanju koje su proveli Bahorun i sur. (2004) određeni su sadržaji askorbinske kiseline

različitog povrća i nije pronađena značajna veza između antioksidacijske aktivnosti i askorbinske kiseline. Slična istraživanja su provedena i ranije, te je dokazano da askorbinska kiselina vrlo malo ili nimalo utječe na antioksidacijsku aktivnost voća i povrća (Kalt i sur., 1999; Gardner i sur., 2000; Szeto i sur., 2002). Scalzo i sur. (2005.) su utvrdili negativnu korelaciju između sadržaja fenola i antioksidacijskog kapaciteta kod jagoda. Isti autori pretpostavljaju da bi ova negativna korelacija mogla biti posljedica vrlo visokog sadržaja askorbinske kiseline u plodu te smatraju da bi upravo ona mogla biti odgovorna za glavninu antioksidacijske aktivnosti.

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. Gorinstein i sur. (2008) su u svom istraživanju koristili povrće iz roda *Allium* i dobili su da češnjak ima najmanju koncentraciju askorbinske kiseline (0,74 mg askorbinske kiseline/g suhe tvari) u odnosu na dvije vrste luka.

U ovome radu koncentracija askorbinske kiseline kultivara 2 ozimog slavonskog češnjaka (PFO 2- 3,8215 mg askorbinske kiseline /100 g svj.tv.) bila je dva puta niža od kultivara 1 (PFO 1- 8,5705 mg askorbinske kiseline /100 g svj.tv.). Istovremeno se koncentracija askorbinske kiselina kultivara 3 (PFO 3- 6,3835 mg askorbinske kiseline /100 g svj.tv.) i kultivara 4 (PFO 4- 7,4703 mg askorbinske kiseline /100 g svježe tvari) nisu statistički značajno razlikovale od koncentracije askorbinske kiseline kultivara 2 (PFO 2).

6. ZAKLJUČCI

- Najveću prosječnu masu lukovice imao je kultivar 4, no ta se vrijednost nije statistički značajno razlikovala od prosječnih masa lukovica ostalih kultivara.

- Genetička raznolikost kultivara ozimog slavonskog češnjaka (*Allium sativum* L.) značajno je utjecala na koncentraciju askorbinske kiseline i ukupnu antioksidacijsku aktivnost. Kultivar 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 ozimog slavonskog češnjaka bila je u značajnoj pozitivnoj korelaciji s koncentracijom askorbinske kiseline ($r=0,6495$; $p=0,006$). Između koncentracija ukupnih fenolnih spojeva i ukupne antioksidacijske aktivnosti nije bila utvrđena značajna povezanost.

- Dobiveni rezultati pokazuju da je kultivar 1 najkvalitetniji od 4 ispitivana kutivara češnjaka budući da je imao najveću koncentraciju askorbinske kiseline i ukupnu antioksidacijsku aktivnost, važnih komponenti funkcionalne hrane, koja ima pozitivan učinak na zdravlje ljudi.

7. LITERATURA

- Alpers DH. 2009. Garlic and its potential for prevention of colorectal cancer and other conditions. *Curr Opin Gastroenterol* 25:116–121.

- Amagase H, Petesch BL, Matsuura H, Kasuga S, Itakura Y. 2001. Intake of garlic and its bioactive compounds. *J Nutr* 131:955-962.

- Andlar M. 2011. Utjecaj fenolnih spojeva na rast i aktivnost bakterija mliječne kiseline. Hrvatska znanstvena bibliografija 517929. http://biblio.irb.hr/ 517929

- Antolovich M, Prenzler PD, Patsalides E, McDonald S, Robards K. 2002. Methods for testing antioxidant activity. *The Analyst* 127:183-198.

- Aytul KK. 2010. Antimicrobial and antioxidant activities of olive leaf extract and its food applications. http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/

- Bahorun T, Luximon-Ramma A, Aruoma OI. 2004. Total phenol, flavonioid, proanthocyanidin and vitamin C and antioxidant activities of Mauritian vegetables. *J Sci Food Agric* 84:1553-1561.

- Barata-Soares A, Gomez ML, Henrique de Mesquita C, Lajolo F. 2004. Ascorbic acid biosynthesis: a precursor study on plants. *Bras J Plant Physiol* 16:147-154.

- Bayili RG, Abdoul-Latif F, Kone OH, Diao M, Bassole IHN, Dicko MH. 2011. Phenolic compounds and antioxidant activities in some fruits and vegetables from Burkina Faso. *Afr J Biotechnol* 10:13543-13547.

- Beato VM, 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, Maupoil V, Vergely C, Dalloz 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.

- Block E. 1985. The chemistry of garlic and onion. *Sc Am* 252:114-119.

- Block G, Patterson B, Sapers GM. 1992. Varietal differences in distribution of quercetin and kaempferol in onion (*Allium cepa*) tissue. *J Agric Food Chem* 32:274–276.

- Borek C. 2001. Antioxidant health effects of aged garlic extract. *J Nutr* 131:1010–5.

- Boudet AM. 2007. Evolution and current status of research in phenolic compounds. *Phytochem* 68:2722-2735.

- Brand-Williams W, Cuvelier, ME, Berset C. 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Leben Wiss Technol* 28:25-30.

- Bravo L. 1998. Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism and nutritional significance. *Ann Rev Nutr* 56:317-333.

- Cao G, Sofic E, Prior RL. 1996. Antioxidant capacity of tea and common vegetables. *J Agric Food Chem* 44:3426-3431.

- Choi, MK, Chae K Y, Lee, JY, Kyung KH. 2007. Antimicrobial activity of chemical substances derived from *S*-alk (en)yl-L-cysteine sulfoxide (alliin) in garlic (*Allium sativum* L.). *Food Sci Biotechnol* 16:1–7.

- Cooks NC, Samman S. 1996. Flavonoids - Chemistry, metabolism, cardioprotective effects and dietary sources. *Food Sci Biotechnol* 7:66.

- Corzo-Martinez M, Corzo N, Villamiel M. 2007. Biological properties of onions and garlic. *Trends Food Sci Technol* 18: 609-625.

- Deepa N, Charanjit K, Balraj S, Kapoor HC. 2006. Antioxidant activity in some red sweet pepper cultivars. *J Food Compos Anal* 19: 572-578.

- Diplock AT, Charleux JL, Crozier-Willi G, Kok F, Rice-Evans C, Roberfroid M. 1998. Functional food science and defence against reactive oxygen species. *British J Nutr* 80:77-112.

- Escarpa A, Gonzalez MC. 2001. An overwiew of analytical chemistry of phenolic compounds in foods. *Critic Rev Anal Chem* 31:57-139.

- Fabiani R, Rosignoli P, Bartolomeo AD, Fuccelli R, Servili M, Montedoro GF, Morrozzi G. 2008. Oxidative DNA damage is prevented by extracts of olive oil, hydroxytyrosol, and other olive phenolic compounds in human blood mononuclear cells and HL60 cells. *J Nutr* 138:1411-1416.

- Garcia-Salas P, Morales-Soto A, Segura-Carretero A, Fernández-Gutiérrez A. 2010. Phenolic-compound-extraction systems for fruit and vegetable samples. *Molecules* 15:8813-8826.

- Gardner PT, White TAC, McPhail DB and Duthie GG. 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.

- Gorinstein S, Leontowicz H, Leontowicz M, Drzewiecki J, Najman K, Katrich E, Barasch D, Yamamoto K, Trakhtenberg S. 2006. Raw and boiled garlic enhances plasma antioxidant activity and improves plasma lipid metabolism in cholesterol fed-rats. *J Life Sci* 78:655-663.

- Gorinstein S, Leontowicz H, Leontowicz M, Namiesnik J, Najman K, Drzewiecki J, Cvikrovă M, Martincova O, Katrich E, Trakhtenberg S. 2008. Comparison of the main bioactive compounds and antioxidant activities in garlic and white and red onions after Treatment Protocols. *J Agric Food Chem* 56:4418-4426.

- Hacıseferoğulları H, Özcan M, Demir F, Calışır S. 2004. Some nutritional and technological properties of garlic (*Allium sativum* L.). *J Food Eng* 68:463-469.

- Halliwell B. 1997. Antioxidants and human disease: A general introduction. *J Nutr Rev* 55:44–49.

- Halpner AD, Handelman GJ, Belmont CA, Harris JM, Blumberg JB. 1998. Protection by vitamin C of oxidant-induced loss of vitamin E in rat hepatocytes. *J Nutr Biochem* 9:355-9.

- Harborne JB. 1980. Plant Phenolics. Vol 8 *Encyclopedia of Plant Physiology*. Springer-Verlag, Berlin.

- Harborne JB, Baxter H. 1999. *The Handbook of Natural Flavonoids*. John Wiley, Chichester.

- Helen A, Rajasree CR, Krishnakumar K, Augusti KT. 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.

- Herrmann, K, 1976. Flavonols and flavones in food plants: A review. *J Food Technol* 11:433-448.

- Hertog MGL, Kromhout D, Aravanis C, Blackburn H,Buzina R, Fidanza F. 1995. Flavonoid intake and long-term risk of coronary heart disease and cancer in the seven countries study. *Arch Inter Med* 155:381-386.

- Jacob RA.1995. The integrated antioxidant system. *Nutr Res* 15:755-766.

- Johnson CS, Steinberg FM, Rucker RB. 1988. Ascorbic acid. U: *Hand book of Vitamins.* Ur: Rucker RB, Sultie JW, McCormick, DB, Machlin LJ. Marcel Dekker Inc, NY, 529-585 pp.

- Kalt W., Forney CF, Martin A, Prior RL. 1999. Antioxidant capacity, vitamin C, phenolics and anthocyanins after fresh storange of small fruits. *J Agri Food Chem* 47:4638-4644.

- Kalt W. 2001. Interspecific variation in anthocyanins, phenolica and antioxidant capacity among genotypes og high bush and low blush blueberries (*Vaccinium* section *cyanococcus* spp.). *J Agric Food Chem* 49:4761-4767.

- Kawanishi S, Hiraku Y, Oikawa S. 2001. Mechanism of guanine-specific DNA damage by oxidative stress and its role in carcinogenesis and aging. *Mut Res J* 488:65-76.

- Kähkönen MP, Hopia AI, Vuorela HJ, Jussi-Pekka R, Kalevi P, Tytti SK, Marina H. 1999. Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. *J Agric Food Chem* 47: 3954-3962.

- Kähkönen, MP, Heinämäki J, Ollilainen V, Heinonen M. 2003. Berry anthocyanins:isolation, identification and antioxidant activities. *J Sci Food Agric* 83: 1403-l411.

- Kim SM, Kubota K, Kobayashi A. 1997. Antioxidative activity of sulfur-containing flavor componuds in garlic. *Biosci Biotechnol Biochem* 61:1482-1485.

- Knekt P, Järvinen R, Reunanen A, Maatela J. 1996. Flavonoid intake and coronary mortality in Finland: a cohort study. *Br Med J* 312:478-481.

- Lampe JW. 1999. Health effects of vegetable and fruit:assessing mechanisms of action in human experimental studies. *Am J Chem Nutr* 70:475-490.

- Larson RL. 1988. The antioxidants of higher plants. *Phytochem* 4:969-978.

- Laughton JM, Evans PJ, Moroney MA, Hoult JRS. 1991. Inhibition of mammalian lipoxygenase and cyclooxygenase by flavonoid and phenolic dietary additives. *Biochem Pharm* 18:1673-1681.

- Lawson, LD. 1998. Garlic: A review of its medicinal effects and indicated active compounds. Washington, D.C.: ASC Press., 176-209 pp.

- Lee SK, Kader AA. 2000. Preharvest and postharvet factors influencing vitamin C content of horticultural crops. *Postharv Biol Techn* 20:207-220.

- Lee JC, Kim HR, Kim J, Jang YS. 2002. Antioxidant property of an ethanol extract of the stem of *Opuntia ficus-indica* var. Saboten. *J Agric Food Chem* 50:6490-6496.

- Leonard SS, 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-Ćustić M, Poljak M, Romić D. 2004. *Povrćarstvo II. dopunjeno izdanje*. Zrinski d.d. Čakovec, 134-142 pp.

- Levine M, 1986. New concepts in the biology and biochemistry of ascorbic acid. *N Eng J Med* 314:892–902.

- Macheix JJ, Fleuriet A, Billot J. 1990. *Fruit Phenolics*. CRC Press, Boca Raton, Florida, USA.

- Manach C, Scalbert A, Morand C, Rémésy C, Jiméenez L. 2008. Polyphenols: food sources and bioavailability. *Am J Clin Nutr* 79:727-747.

- Miean KH, Mohamed S. 2001. Flavonoid (myricetin, quercetin, kaempferol, luteolin, and apigenin) content of edible tropical plants. *J Agric Food Chem* 49:3106–3112.

- Miller HE, Rigelhof F, Marquart L, Prakash A, Kanter M. 2000. Antioxidant content of whole grain breakfast cereals, fruits and vegetables. *J Am Coll Nutr* 19:1-8.

- Moser U, Bendich A. 1991. *Vitamin C.* U: "Handbook of Vitamins" 2nd Ed. (L.J. Machlin, ur.). Marcel Dekker, New York, 195 pp.

- Naidu AK. 2003. Vitamin C in human health and disease is still a mystery? An overview. *Nutr J* 2:1-7.

- Nuutila AM, Puupponen-Pimiä R, Aarni M, Oksman-Caldentey KM. 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 povrćarstvo*. Tipo. Osijek, 189-193 pp.

- Park JH, Park YK, Park E. 2009. Antioxidative and antigenotoxic effects of garlic (*Allium sativum* L.) prepared by different processing methods. *Plant Foods Hum Nutr* 64:244-249.

- Pietta P, Simonetti P, Mauri P. 1998. Antioxidant activity of selected medicinal plants. *J Agri Food Chem* 46:4487-4490.

- Pietta PG. 2000. Flavonoids as antioxidants. *J Nat Prod* 63:1035-1042.

- Prakash A, Rigelhof F, Miller E. 2001. Antioxidant activity. *Medallion Laboratories Analytical Progress* 19:2. http://www.medlabs.com/Downloads/Antiox_acti_.pdf.

- Pokorny J. 2007. Are natural antioxidants better – and safer – than synthetic antioxidants? *Eur J Lip Sci Tech* 109:629–642.

- Puljak A, Perko G, Mihok D, Radašević H. 2004. Antioksidansi i oligoelementi u starijih ljudi. *Medix: specijalni medicinski dvomjesečnik* 10:52, 98-102 pp.

- Qusti SY, Abo - Khatwa AN, Lahwa MA. 2010. Screening of antioxidant and phenolic content of selected food items cited in the Holly Quran. *J Biol Sci* 2(1):40-51.

- Rapisarda P. 1999. Antioxidant effectivenes as influnced by phenolic content of fresh orange juices *J Agri Food Chem* 47:4718-4723.

- Reddy AR, Chaitanya KV, Vivekanandan M. 2004. Drought-induced response of photosynthesis and antioxidant metabolism in higher plants. *J Plant Physiol* 161:1189-1202.

- Rice-Evans CA, Miller NJ. 1996. Antioxidant activities of flavonoids as bioactive components of food. *Biochem Soc Trans* 24: 790-795.

- Robards K, Prenzler PD, Tucker G, Swatsitang P, Glover W. 1999. Phenolic compounds and their role in oxidative processes in fruits. *J Agri Food Chem* 66:401-436.

- Rodney C, Kutchan TM, Lewis NG. 2000. *Biochem Mol Biol Plants*. Chapter 24, American Society of Plant Physiologists, 1250-1318 pp.

- Rodrigues AS, Pérez-Gregorio MR, García-Falcón MS, Simal-Gándara J, Almeida DPF. 2011. Effect of meteorological conditions on antioxidant flavonoids in Portuguese cultivars of white and red onions. *Food Chem* 124:303–308.

- 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.

- Saxena RK, Venkaiah P, Anitha L, Venu, Raghunath M. 2007. Antioxidant activity of commonly consumed plant foods of India contribution of their phenolics contents. *Int J Food Sci Nutr* 58:250-260.

- Schuster B, Hermann K. 1985. Hydroxybenzoic and hydroxycinnamic acid derivates in soft fruits. *Phytochem* 24:2761-2764.

- Singleton VL, Rossi JA. 1965. Colorimetry of total phenolics with phospho-molybdic-phosphotungstic acid reagents. *Am J Eno. Vitic* 16:144-158.

- Slinkard K, Singleton VL. 1977. Total phenol analysis; automation and comparison with manual methods. *Am J Enol Vitic* 28:49-55.

- Smirnoff N.1996. The function and metabolism of ascorbic acid in plants. *Ann Bot* 78:661-669.

- Strack D. 1997. *Phenolic metabolism*. Plant Biochemistry (Dey, P.M., Harborne, J.B., ured.), Academic Press, London, UK, 387-416 pp.

- 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.

- Sukta D. 2002. Garlic – a natural source of cancer prevetive compounds. *Asian Pac J Cancer Prev* 3:305-311.

- Scalzo J, Politi A, Pellegrini N, Mezetti B, Battino M. 2005. Plant genotype affects total antioxidant capacity and phenolic contents in fruit. *J Nutr* 21:207-213.

- Szeto YT, Tomlinson B, Benzie IFF. 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.

- Tepe B, Sokmen M, Akpulat HA, Sokmen A. 2005. In vitro antioxidant activities of the methanol extracts of five *Allium* species from Turkey. *Food Chem* 92:89–92.

- Tomás-Barberán FA, Espín CJ. 2001. Phenolic compounds and related enzymes as determinants of quality in fruits and vegetables. *J Sci Food Agric* 81:853-876.

- Treutter D. 2010. Managing phenol contents in crop plants by phytochemical farming and breeding-visions and constraints. *Int J Mol Sci* 11:807-857.

- Tsao CS. 1997. *An overview of ascorbic acid chemistry and biochemistry*. U: L.Packer and J. Fuchs (ur.), Vitamin C in health and disease. Marcel Dekker, NY, 25-58 pp.

- Tsai TH, Tsai PJ, Ho SC. 2005. Antioxidant and anti-inflammatory activities of several commonly used spices. *J Food Sci* 70:1.

- Turkmen N, Velioglu YS, 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.

- Urquiaga I, Leighton F. 2000. Plant Polyphenol Antioxidants and Oxidative Stress. *Biol Res Nurs* 33:89-96.

- Vasco C, Ruales J, Eldin AK. 2008. Total phenolic compounds and antioxidant capacities of major fruits from Ecuador. *Food Chem* 111: 816-823.

- Vinson JA, Hao Y, Su X, Zubik L. 1998. Phenol antioxidant quantity and quality in foods: Vegetables. *J Agric Food Chem* 46:3630–3634.

- Velioglu YS, Mazza G, Gao L, Oomah BD. 1998. Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits, vegetables, and grain products. *J Agric Food Chem* 46:4113-4117.

- Wangcharoen W, Morasuk W. 2007. Antioxidant capacity and phenolic content of some Thai culinary plants. *Maejo Int J Sci Tech* 1:100-106.

- Yin MC, Cheng WS. 1998. Antioxidant activity of several Allium members. *J Agric Food Chem* 46:4097-4101.