



Élelmiszertudományi Kar

**ANTIOXIDÁNS KAPACITÁS MEGHATÁROZÁSA
ÉS ENNEK KIALAKÍTÁSÁBAN SZEREPET JÁTSZÓ
VEGYÜLETEK VIZSGÁLATA BOGYÓS GYÜMÖLCSÖK ESETÉBEN**

BALOGH EMŐKE

Doktori (Ph.D.) értekezés tézisei

Készült:

Budapesti Corvinus Egyetem

Alkalmazott Kémia Tanszék

Budapest, 2010.

A doktori iskola

megnevezése: Élelmiszertudományi Doktori Iskola

tudományága: Élelmiszertudományok

vezetője: *Dr. Fodor Péter*
DSc, egyetemi tanár
Budapesti Corvinus Egyetem

Témavezetők: *Stefanovitsné Dr. Bányai Éva*
DSc, egyetemi tanár
Alkalmazott Kémia Tanszék
Élelmiszertudományi Kar
Budapesti Corvinus Egyetem

dr. Abrankó László
PhD, egyetemi adjunktus
Alkalmazott Kémia Tanszék
Élelmiszertudományi Kar
Budapesti Corvinus Egyetem

A doktori iskola- és a témavezető jóváhagyó aláírása:

A jelölt a Budapesti Corvinus Egyetem Doktori Szabályzatában előírt valamennyi feltételnek eleget tett, a műhelyvita során elhangzott észrevételeket és javaslatokat az értekezés átdolgozásakor figyelembe vette, ezért az értekezés védési eljárásra bocsátható.

.....
Az iskolavezető jóváhagyása

.....
A témavezető jóváhagyása

.....
A témavezető jóváhagyása

A Budapesti Corvinus Egyetem Élettudományi Területi Doktori Tanács 2010. június 8.-ki határozatában a nyilvános vita lefolytatására az alábbi bíráló Bizottságot jelölte ki:

BÍRÁLÓ BIZOTTSÁG:

Elnöke

Biacs Péter, DSc

Tagjai

Lugasi Andrea, PhD

Szentmihályi Klára, PhD

Szóllósiné Varga Ilona, CSc

Opponensek

Halász Anna, DSc

Máthé Imre, DSc

Titkár

Sárosi Szilvia, PhD

1. BEVEZETÉS

Az egészséges és kiegyensúlyozott táplálkozás fontos szerepet játszhat számos olyan betegség kialakulásának megelőzésében, amelyek háttérében szabadgyökös reakciók húzódnak meg. A gyümölcsök és a zöldségek, különböző módszerekkel mért antioxidáns kapacitásának összehasonlításakor a bogyós gyümölcsök kiemelkedő értékeket mutatnak, ami elsősorban a bennük nagy mennyiségben előforduló vitamin tartalmuknak és főleg a bennük felhalmozódó polifenolos vegyületeknek köszönhető.

Az antioxidáns kapacitás pontos, számszerű meghatározására nem csak a gyümölcsök, de az élelmiszeripar legtöbb területén egyre nagyobb igény jelentkezik, így számos analitikai módszer, mérőrendszert fejlesztettek ki. A legtöbb irodalom nemcsak egy, hanem többféle módszert használ ennek meghatározására, hiszen minden metodika specifikus bizonyos antioxidánsokra, illetve reakció(k)ra, amelyek együttes megismerése mellett lehet csak egy konkrét gyümölcsöt, zöldséget, vagy bármely mintát antioxidáns kapacitás szempontjából jellemezni.

Eddigiek alapján fontos és indokolt is, hogy a Magyarországon termesztett bogyós gyümölcsök antioxidáns jellemzőit jobban megismerjük, vizsgáljuk, valamint az antioxidáns kapacitásuk kialakításában döntő szerepet játszó komponenseiket mind minőségileg, mind mennyiségileg megismerjük.

2. CÉLKITŰZÉSEK

A bogyós gyümölcsök kiemelkedő antioxidáns hatása jól ismert számos nemzetközi irodalmi adat alapján. Ehhez csatlakozva munkám célja a Magyarországon azonos körülmények között termesztett, jelentősebb bogyós gyümölcs-fajok és -fajták antioxidáns kapacitásának felmérése illetve összehasonlítása volt, különös tekintettel arra, hogy az adott különbségek kialakulása milyen vegyületeknek köszönhető.

1. Elsődleges célom az volt, hogy a különböző elveken alapuló (elektronátmenettel járó, hidrogénatom-átmenettel járó), illetve más-más szabadgyököket (DPPH, ABTS, szuperoxid anion, hidroxilgyök) alkalmazó módszerek segítségével átfogó jellemzést tudjak adni a vizsgált gyümölcsök aktuális antioxidáns kapacitásáról, valamint feltárjam a kapott eredmények közötti összefüggéseket.
2. További fontos cél volt, az antioxidáns kapacitás kialakításában szerepet játszó aszkorbinsav mennyiségi meghatározása és a polifenolos vegyületek minőségi és mennyiségi vizsgálata is (ezen belül antocianinok, fenolos savak és flavanolok [epicatechin és katechin]), amelyek

magyarázatot adhatnak a különböző antioxidáns kapacitást mérő módszerekkel kapott eltérő eredményekre.

3. Emellett célul tűztem ki az alkalmazott antioxidáns kapacitást mérő módszerek és a mennyiségileg meghatározott komponensek közötti összefüggések feltárását is.

4. Ahhoz, hogy a bogyós-gyümölcsök szuperoxid-anionnal szembeni viselkedését vizsgálni tudjam, az ehhez szükséges viszonylag új, kereskedelmi forgalomban kapható, fotokemilumineszcenciás elven működő antioxidáns kapacitást mérő készülék (Photochem, Analytic Jena) tesztelését kellett először elvégezni néhány standard (aszorbinsav, citromsav, galluszsav, trolox) esetében. Ezen belül az alkalmazott metodika előnyeinek és hátrányainak megismerését, a készülék használhatóságát tűztem ki célul, mivel az erre vonatkozó irodalmi adatok meglehetősen hiányosak.

3. ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK

Munkám során a bogyós gyümölcsökön belül különböző fajok, így a szamóca (*Fragaria x ananassa* DUCH.), 'Elsanta', 'Honeoye', 'Onebor'), a málna (*Rubus idaeus* L.), 'Malling Exploit', 'Fertődi Zamatos', 'Glen Ample'), a piros (*Ribes rubrum* L.), 'Rondom', 'Detvan', 'Jonkheer van Tets' és fekete ribiszke (*Ribes nigrum* L.), 'Fertődi 1', 'Fertődi 11', 'Titánia' és 'Oteló' fajtáit vizsgáltam. A minták azonos termőhelyről (Agárd, 2008) származtak, termesztésük azonos körülmények között történt. A mérésekhez egységesen liofilizált mintát használtam.

A gyümölcsök, valamint a standardok (aszorbinsav, citromsav, galluszsav, trolox) zsír- (ACL) és vízzoldható antioxidáns (ACW) kapacitását (Popov és Lewin, 1994, 1996) a fotokemilumineszcencia elvén mérő Photochem készülékkel (Analytic Jena, Németország) vizsgáltam. A gyümölcsminták össz- scavenger kapacitásának (TRSC) meghatározása kemilumineszcencián alapuló módszerrel Blázovics és munkatársai (1999) leírásának megfelelően ($\lambda=420$ nm), a vasredukálóképesség mérés (FRAP) Benzie és Strain (1996) módszere alapján ($\lambda=593$ nm) történt. A minták összpolicfenol tartalmának meghatározását (TPC) $\lambda=760$ nm-en Singleton és Rossi (1965) módszere alapján mértem. A bogyós gyümölcsök ABTS szabadgyök megkötését (TEAC módszer) $\lambda=734$ nm-en, spektrofotometriásan teszteltem Stratil és munkatársai (2006) leírását követve. A minták DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) gyök gátlását $\lambda=517$ nm-en (Hatano és mtsai, 1988) vizsgáltam.

A bogyós gyümölcsök összantocianin tartalmát (Giusti és Wrolstad, 1996) spektrofotometriásan ($\lambda=520$ és $\lambda=700$ nm), C –vitamin tartalmát HPLC-vel Engel és munkatársai (2010) által kifejlesztett módszerrel határoztam meg. A jellemző fenolos savak (4-hidroxi-

benzoesav, t-fahéjsav, p-kumársav, vanilinsav, galluszsav, kávésav, ferulasav, sziringinsav, szinapinsav és ellágsav), valamint a katechin és epikatechin flavanolok mennyiségi vizsgálata kromatográfiásan, standard addíciós technika segítségével valósult meg (Harbaum és mtsai., 2007). A bogyós gyümölcsök mono- és diglikozidok vizsgálata nontarget HPLC-ESI-Ms/Ms módszerrel-három lépéses technika MRM-Fullscan-EPI módok alkalmazásával történt (Rak és mtsai., 2010), melyhez a következő standardok álltak rendelkezésre: apigenin, daidzein, fizetin, genisztein, heszperetin, kempferol, kvercetin, luteolin, miricetin, naringenin.

Az eredmények kiértékelése során egyszempontos varianciaanalízist, a szignifikancia-vizsgálathoz a Tuckey's tesztet ($p < 0,05$), korrelációs analízist valamint a flavonoid-mintázattal kapcsolatban főkomponens analízist végeztem a Statistica 6.0 program Stat Stoft segítségével.

4. EREDMÉNYEK ÉS ÉRTÉKELÉSÜK

4.1. A Photochem készülék tesztelése

A Photochem készülékkel kapcsolatos méréseim során az alábbi eredményeket kaptam, és ezzel kapcsolatosan a következő megállapításokat lehet tenni.

Az ACW aszkorbinsav visszamérés kapcsán azt teszteltem, hogy az aszkorbinsavat mintaként a rendszerbe jutattva, azt a készülék, mekkora antioxidáns kapacitásúnak határozza meg. Ehhez a minta törzsoldatból különböző hígításokat készítettem valamint a bevitt minta mennyiségét is változtattam. Ennek alapján 1000 μg aszkorbinsavat a 100-szoros hígításnál a műszer átlagosan 920, 928, illetve 976 μg aszkorbinsavként érzékelt, a 200-szoros hígításnál 1017, 1042 és 1009 μg aszkorbinsavnak. Ezen esetekben a különbség 10% alatti, tehát elhanyagolható. Nagyobb mértékű hígítás esetén (600-szoros) ez a különbség nőtt, az 1000 μg elméleti értékhez képest akár 34 - 46,5 %-kal, vagyis megállapítható, hogy a hígítás mértéke jelentősen befolyásolta a kapott eredményeket. Ez azt mutatja, hogy nem elegendő egy minta mérésénél csupán egy hígítást és egy mintamennyiséget vizsgálni. Ennek a méréssorozatnak az eredményei rámutatnak arra, hogy bár a lag fázisok közötti idő eltérés alapján számol a szoftver, a különböző mintamennyiségből adódó lag fázisok közötti eltérés, illetve a kapott eredmény nem áll összhangban. Ez a jelenség abból is fakad, hogy a lag fázisok lefutása, és ezáltal az inflexiós pontja is, ha eltér, vagy akár a görbe alakja nem szabályos, akkor ekkora különbségek adódhatnak. Hasonló megállapításokra jutottam az ACL üzemmód alkalmazása során kapott eredményeimre vonatkozólag is. Méréseim azt mutatták, hogy maga az aszkorbinsav is értékelhető görbét ad ACL üzemmódban is, amiből a szoftver tud trolox ekvivalensre vonatkoztatott antioxidáns kapacitást számolni. Ez az eredmény azt jelenti, hogy nem

zsíroldható antioxidáns kapacitást kapunk a méréseink során, hanem zsír- és vízoldható komponensek valamilyen együttes kapacitását, amely pontosabban úgy definiálható, hogy a metanolban oldódó komponensek antioxidáns kapacitását kapjuk meg eredményül. Ha a protokollnak megfelelően készítjük elő a mintákat, vagyis metanolban oldjuk fel, akkor a metanolban oldódó vízoldható komponensek befolyásolják az eredmények alakulását, ugyanakkor például a karotinoidok nem, hiszen nem oldódnak metanolban. Ezen méréseknél (ACL) fontos a görbe alakja, ami nagyban befolyásolja a kapott értékeket, de amint az a méréseimből egyértelműen látszik, a hígítás mértéke az, aminek növelésével egyre nagyobb lesz a szoftver által számolt értékek közti különbség. Egy ismeretlen minta esetén ez komoly problémát jelenthet és csak sok méréssel lehet a helyesnek vélt koncentráció-tartományt eltalálni.

Ennél a mérésnél is a mérési eredményeket nagyban befolyásolta a bevitt minta mennyisége is, hasonlóan az ACW üzemmódhoz. Az eredmények troloxra való visszaszámolása után a 10 µl mennyiségű minta esetén 30 % feletti, míg 20 illetve 30 µl-nyi mintamennyiség bevitele esetén 16 % alattiak az eltérések. A hígítás növelésével a látszólagos antioxidáns kapacitás nő.

4.1.1. A Photochen készülékkel kapcsolatos megállapítások

1. A berendezést víz és zsíroldható antioxidáns kapacitás mérésére fejlesztették ki.

A vízoldható antioxidánsok mérése esetén vizet, a zsíroldható antioxidáns kapacitásnál metanolt ajánlanak. A probléma a zsíroldható antioxidáns kapacitás meghatározásánál jelentkezik. A metanol, amelyet a cég protokollja ír elő, a vízoldható (polárosabb) komponenseket is kivonja, így a zsíroldható antioxidáns kapacitás értékek magukba foglalnak ismeretlen mennyiségű vízoldható komponensek antioxidáns kapacitását is. Más oldószer-használatát a cég nem engedi, bármilyen rendszerbeli elváltozás esetén a cég nem vállal garanciát. Javasolnám a „metanol oldható komponensek antioxidáns kapacitása elnevezés” használatát.

2. A szoftver automatikusan számolja ki a vak és a kalibrációs görbék felhasználásával az antioxidáns kapacitás értékeket, lag fázis, illetve integrálás alapján.

A szoftver automatikusan adatokat szolgáltat, hogyha van a mért minta lag fázisának inflexiós pontja, illetve görbe alatti területe és ezek beleesnek a vak és a kalibrációs sor görbéi közé. A problémát jelent, ha nem szabályos a görbék lefutása a vízoldható antioxidáns kapacitás mérésénél, ami könnyen előfordulhat komplex minták vagy túl tömény minták esetében, ugyanakkor a zsíroldható antioxidáns kapacitás mérésénél a túl híg oldatoknál is kapunk görbe alatti területet, amivel a szoftver számol, de az alkalmazott hígítással számolva már nagy, helytelen troloxra vonatkoztatott antioxidáns kapacitás értéket kapunk.

3. A műszer komplex minták rutinszerű mérésére alkalmas.

A fent említett és bemutatott megfigyelések alapján a műszer rutinszerű mérésére nehezen alkalmazható, hiszen ha már a standardok mérésekor problémák adódnak, akkor komplex minták esetében a mátrixhatás további gondot okozhat, a nem szabályos görbe lefutás, a megfelelő hígítás, illetve megfelelő koncentráció megtalálása mellett. Egy ismeretlen minta esetében számos mérést kell elvégezni ahhoz, hogy helyesen/pontosan meg lehessen határozni az antioxidáns kapacitást, de ez idő- és pénzigényes folyamat.

4. A mérésekhez szükséges kitékkel a kivitelezés egyszerű és kényelmes.

A rendszer nem tartalmaz mintaadagolót, a mérés a megfelelő hígítás, mintamennyiség megtalálása miatt időigényes, a kiték ára drága, ezért rutinmérésekhez történő felhasználása meggondolandó.

4.2. A bogyós gyümölcsökkel kapcsolatos eredmények

4.2.1. A bogyós gyümölcsök antioxidáns kapacitása, módszerek közötti összefüggések

Négy gyümölcsfaj, összesen 13 fajtáját vizsgáltam (**szamóca:** 'Elsanta', 'Honeoye', 'Onebor', **málna:** 'Malling Exploit', 'Fertődi Zamos', 'Glen Ample', **piros ribiszke:** 'Rondom', 'Detvan', 'Jonkheer van Tets', **fekete ribiszke:** 'Fertődi 1', 'Fertődi 11', 'Titánia', 'Oteló') különböző antioxidáns kapacitást mérő rendszerekkel.

Méréseim alapján kiderült, hogy a Magyarországon azonos körülmények között termesztett bogyós gyümölcsök nagy antioxidáns kapacitással rendelkeznek, a többféle elven alapuló, és más-más szabadgyököket alkalmazó antioxidáns kapacitási módszerekkel vizsgálva. Általánosságban megállapítható, hogy a fajok és a fajták között jelentős különbséget lehetett kimutatni. A fekete ribiszkék antioxidáns kapacitása szignifikánsan nagyobb, (kétszeres-nyolcszoros) az általam vizsgált többi fajénál (piros ribiszke, málna, szamóca). A TEAC módszerrel vizsgálva a mintákat azonban, a fekete ribiszkék esetében csupán 30-40% -kal kaptam nagyobb antioxidáns kapacitás értékeket. Az összes módszer esetében a fekete ribiszkék rendelkeznek a legnagyobb antioxidáns kapacitással, a többi faj esetében a sorrend módszerfüggő volt. A TRSC módszernél statisztikailag nem lehetett különbséget tenni a málnák és a piros ribiszkék között. Az egyes tesztekben a fajok és a fajták antioxidáns hatásának sorrendje eltér, ami annak köszönhető, hogy különböző antioxidáns és (egyéb) komponenseik mennyisége és minősége is szignifikánsan különbözik, így ezek az eltérő rendszerekben másként viselkednek.

A módszerek közötti korreláció számos esetben szignifikánsnak ($p < 0,05$) mutatkozott. A szuperoxid anion megkötésén alapuló zsír- és vízdoldható antioxidáns kapacitás értékek szoros

összefüggést mutattak a hidroxil-, DPPH- ABTS- gyök megkötésén alapuló módszerekkel, valamint a vasredukálóképességgel kapcsolatos mérés során kapott eredményekkel. Ennek magyarázata valószínűleg az, hogy a bogyós gyümölcsökben a már említett polifenolos vegyületek a meghatározóak az antioxiáns kapacitás kialakításánál, így ugyanezen vegyületek hasonlóképpen reagálnak a Fe^{3+} , Folin-Ciocalteu reagens, DPPH gyök és a nagy reakcióképességű hidroxilgyökökkel szemben. A TRSC (összgyökfogó képesség) és a többi teszt között negatív korreláció áll fenn, ami az eredmények eltérő kiértékeléséből adódik.

Az általam vizsgált gyümölcsök FRAP értéke és összpolicfenol tartalma közti korreláció $r=0,761$, valamint a FRAP és a TEAC közti korreláció is $r=0,730$ is szignifikánsnak mondható. A szamóácánál és a málnánál a FRAP értékek, illetve az összpolicfenol-tartalomra vonatkozó értékek tendenciái megegyeznek, azonban a piros ribizskénél a 'Rondom', valamint például a 'Titania' fekete ribiszke értékei kiugróak.

4.2.2. Az antioxiáns kapacitás kialakításában szerepet játszó vegyületek mennyiségi meghatározása

A C-vitamin-tartalom méréseivel kapcsolatban a szamóácák is kiemelkedő értékeket adtak, a fekete ribizskék mellett, ezt követték a piros ribiszke és málna fajták. A fajták közti különbségek 20-30 %-osoknak, míg a fajok közt 2-3-szorosnak adódtak.

Az összantocianin meghatározásánál a fekete ribizskékben 3-5 szörösen többet lehetett kimutatni. A legtöbb antocianinnal az 'Oteló' feketeribiszke rendelkezik, míg a legkisebb értéket a 'Rondom' piros ribizskénél kaptam.

Az irodalommal összhangban a szamóácánál az ellágsav és a para-kumársav a meghatározó, de a fajták közötti mennyiségük nagymértékben eltér. E két sav mennyisége az összes vizsgált savakat tekintve, közel 75%-ot tesz ki. E két domináns sav aránya az 'Onebor' és az 'Elsanta' esetében a leglátványosabb: míg az 'Onebor'-nál az ellágsav és a para-kumársav aránya 1:1-hez, addig az 'Elsanta'-nál ez az arány 4:1-hez, a 'Honeye' esetében 2,5:1-hez. Ezek mellett a szamóácánál a 4-hidroxi-benzoésav, a t-fahéjsav és a galluszsav volt kimutathatóan nagyobb mennyiségben. Az antioxiáns tesztekben nagy értékeket adó galluszsavban, valamint a két galluszsavból kialakuló ellágsavban az 'Elsanta' a leggazdagabb. Megállapítható továbbá, hogy a fenolossav metabolit út alkotói közül a szamóácák esetében inkább a kezdeti metabolitok dominálnak.

A méréseim alapján a málnáknak szintén nagy az ellágsav tartalma, azonban emellett a ferula-, a gallusz-, és a kávésav aránya is jelentős, amely más szerzők megfigyelését is alátámasztja. Ezek együttesen a málnák fenolos sav tartalmának 75%-át teszik ki. A vizsgált gyümölcsökön belül a málnák a legnagyobb arányban tartalmazznak ferulasavat. A 4-hidroxi-benzoésav, a fahéjsav és a p-

kumársav aránya kisebb a szamócákénál, azonban számottevő a szinapinsav tartalmuk. Ezek alapján arra lehet következtetni, hogy a hidroxifahéjsav származékok közül inkább az összetettebb metabolitok dominálnak (ferulasav, szinapinsav), ugyanakkor a galluszsav/ellágsav arányuk azt mutatja, hogy a szamócákhoz képest nagyobb a nem kondenzált galluszsav aránya.

A piros ribizskénél a 4-hidroxi-benzoésav a domináns, több mint 1/3-ad részét adja a vizsgált fenolos savaknak. A hidroxibenzoésav származékok közül az összetettebb (többszörösen hidroxilált) galluszsav kisebb arányban van jelen a vizsgált fajtáknál és a szamócákra és málnákra jellemző kondenzált galluszsav-származék, az ellágsav csak a 'Rondom' fajtánál számottevő. A hidroxifahéjsav származékok közül is a t-fahéjsav, a para-kumársav, és a kávésav nagy, míg a ferulasav kisebb arányban van jelen, azaz megállapítható, hogy a fenolossav metabolit út alkotói közül inkább a kezdeti metabolitok dominálnak.

A fekete ribiszke mintáknál a 4-hidroxi-benzoésav, a para-kumársav, a galluszsav, a kávésav a legmeghatározóbb, de a t-fahéjsav, a szinapin- és az ellágsav is kimutatható nagyobb mennyiségben. A fajták közötti különbségek e tekintetben nem olyan látványosak, mint a szamócáknál, vagy a málnáknál. Ugyanakkor a galluszsav/ellágsav arány érdekes módon jelentős különbségeket mutat az egyes fajták között.

Az általam vizsgált összes fenolos sav tekintetében a fajok és a fajták közötti különbségek jelentősek, a piros ribizskék 500 µg alatti értékkel, míg a fekete ribizskék 4000 µg feletti fenolossav-tartalommal rendelkeznek, ugyanakkor a málnák és a szamócák értékei 1000-3000 µg között mozognak 1 gram szárazanyagra vonatkoztatva.

A minták esetében a flavanolak közül a katechin, illetve az epikatechin mennyiségének mérésére is alkalmam nyílt azonban a *katechin* mennyisége kimutatási határ alatt volt a vizsgált gyümölcsökben. Az *epikatechint* tekintve a vizsgált minták esetén az értékek 16 µg alattiak.

Az alkalmazott antioxidáns kapacitás értékek és a megmért komponensek mennyiségi értékei között a következő összefüggéseket kaptam.

A C-vitamin tartalom és az általam mért antioxidáns kapacitás eredmények közötti korreláció kisebb, mint az összantocianin tartalom, vagy az összes fenolossav és az antioxidáns kapacitások közötti. Annak ellenére, hogy az aszkorbinsav erős redukálószer, az elektron-átmenettel járó antioxidáns kapacitást mérő módszerekkel kapott eredmények között sincs szoros összefüggés. Ennek egyik magyarázata az lehet, hogy a mintában található egyéb komponensek (polifenolos vegyületek) "maszkírozzák" ennek az elvárt hatásnak a jól érzékelhető kifejeződését. Így a bogyós gyümölcsöknél a nagy polifenoltartalomnak köszönhetően, a C-vitamin az antioxidáns kapacitás kialakításában nem elsődlegesen szerepet játszó vegyület. Ez többek közt annak is köszönhető, hogy a polifenolos vegyületek, egy nagy csoportot jelöl, számtalan komponenssel. A bogyós

gyümölcsökben ezen vegyületcsoport együttesen nagyobb antioxidáns kapacitást mutat, mint a C-vitamin.

Az antocianintartalom csak a TPC módszerrel nem mutat szignifikáns összefüggést, ami abból adódhat, hogy valószínűleg egyéb polifenolos vegyületek mennyisége, valamint szerepe meghatározóbb lehet. Ezt alátámasztja az is, miszerint inkább a színtelen flavonoid vegyületek okozzák a szorosabb korrelációt. Bár az általam vizsgált összes fenolos sav mennyisége a FRAP és a TPC módszerrel nem mutat olyan szoros összefüggést, de DPPH, ACW és ACL rendszerben nagy korrelációs koefficiens értéket kaptam. Ennek magyarázata, hogy szerepet játszanak számos, nem vizsgált fenolos savak, flavonoidok és egyéb vegyületek a kapott antioxidáns kapacitás értékek kialakításában, valamint nem szabad megfeledkezni az interferenciát (cukrok stb.) okozó komponensek jelenlétéről sem. Egyes komponensek esetén, ilyen vegyület a 4-hidroxi-benzoésav, a t-fahéj, a galluszsav, a kávésav és a szinapinsav, minden módszerre vonatkozólag szignifikáns összefüggést kaptam. Ezek mennyisége ennek következtében fontos paraméter az antioxidáns kapacitás kialakításában az általam alkalmazott módszerek mindegyikében.

Eredményeim alátámasztják, hogy a vizsgált bogyós gyümölcsöknél a polifenolos vegyületek felelősek elsődlegesen az antioxidáns kapacitás kialakításáért, értékéért. Az általam meghatározott összes antocianin- és összes fenolossav-tartalom, valamint számos fenolossav (galluszsav, 4-hidroxi-benzoésav, kávésav) mennyisége szorosabb korrelációt mutatott az antioxidáns kapacitás mérések eredményeivel, mint a gyümölcsök C-vitamin-tartalma. Ennek oka elsősorban abban keresendő, hogy ezek a komponensek önállóan, külön-külön is nagyobb antioxidáns kapacitás értékeket mutatnak az alkalmazott tesztekben. Ennek szerkezeti oka van, ami elsősorban a hidroxilcsoportok számával, elhelyezkedésével függ össze.

4.2.3. Az antioxidáns kapacitás kialakításában szerepet játszó flavonoid vegyületek minőségi meghatározása

Méréseim alapján megállapítható, hogy nem csak a flavonoid glikozidok minősége, hanem a számuk is eltérő a különböző gyümölcsökben. Ezek a különbségek egyrészt adódhatnak a koncentráció okozta eltérésekből (kimutatási határ alatt van), valamint a genetikai háttérből is.

A szamócánál kempferol-glikozidokat is ki tudtam mutatni a kvercetin- és az apigenin-glikozidok mellett, így ezen gyümölcsök tartalmazzák a legváltozatosabb flavonoidmintázatot a fekete ribizskék után. A megerősített komponensek száma az 'Onebor'-ban a legnagyobb, 7, míg a 'Honeoye'-nál csak 4. Érdekes, hogy apigenint sikerült kimutatni és megerősíteni a mérés során mindhárom fajtában, hiszen tudomásom szerint apigenint még nem írtak le szamócában. A vizsgált málnákra elsősorban a kvercetin-származékok jellemzők, illetve a 'Fertődi Zamos' fajtánál egy naringenin + hexózt is sikerült megerősíteni. A piros ribizskéknél kizárólag kvercetin-glikozidokat

tudtam detektálni. A fekete ribizskék esetében a fajták között jelentős különbségek figyelhetők meg, hiszen kempferol-, luteolin-, és naringenin-glikozidokat is meg lehetett erősíteni egy-két fajtában. A legváltozatosabb flavonoidmintázatot ezen gyümölcsök esetén kaptam. A 'Fertődi 1' és a 'Fertődi 11' között a meghatározott komponenseket tekintve nem volt különbség, míg a 'Titánia'-nál naringenin-glikozidot is ki tudtam mutatni, viszont se a kempferol- se a luteolin-glikozidot nem lehetett megerősíteni. Az 'Otelo' kempferol- és naringenin-glikozidot nem tartalmaz kimutatható mennyiségben. A flavonoid glikozidok tekintetében a különbségek a 'Fertődi 1' és a 'Titánia' fajtánál látványosak. A kvercetin aglikon mindkét esetben 25,2 percnél eluálódik, megegyező módon. Ezen túlmenően a 'Fertődi 1' fajtánál csak további három, a 17,2, 17,4 illetve a 19,4 percnél eluálódó, míg a 'Titánia' esetében további négy jól elkülönült csúcs látható (17,2, 17,4 és 17,6 valamint 19,4 percnél), ami plusz egy komponenst (kvercetin+hexóz) jelent.

Az eredmények alapján elmondható, hogy a fajok és fajták közötti különbségek egyrészt a komponensek mennyiségéből adódnak, másrészt a genetikai háttérből adódnak, hiszen a termesztési és környezeti körülmények megegyeztek. A kvercetin és a kvercetin-glikozidok a meghatározóak a vizsgált bogyós gyümölcsökben, különösen a kvercetin+hexóz és a kvercetin+hexóz+deoxihexóz.

5. ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK

1. A 13 általam vizsgált bogyós gyümölcs antioxidáns kapacitásával kapcsolatban, valamint az antioxidáns kapacitást jellemző, alkalmazott mérések közötti összefüggésekkel kapcsolatban elsőként állapítottam meg, hogy:

A fekete ribiszkének van a legnagyobb hidroxilgyök, szuperoxid anion, DPPH, ABTS gyökfogó kapacitása. Ugyanazon faj fajtái között azonban nincs olyan szignifikáns különbség, amelyet az alkalmazott módszerek mindegyike képes lenne kimutatni.

Szignifikáns összefüggés van a szuperoxid anion megkötésén alapuló víz- és zsírolható antioxidáns kapacitás értékek és az összes gyökfogó kapacitás, a vasredukáló képesség, a troloxra vonatkoztatott, valamint a DPPH gyök megkötésén alapuló antioxidáns kapacitás értékek között.

2. A bogyógyümölcsök flavonoid mintázatával kapcsolatban

Elsőként térképeztem fel a Magyarországon termesztett 4 bogyógyümölcsű faj és ezek 13 fajtájának (szamóca: 'Elsanta', 'Honeoye', 'Onebor', málna: 'Malling Exploit', 'Fertődi Zamos', 'Glen Ample', piros ribiszke: 'Rondom', 'Detvan', 'Jonkheer van Tets', fekete ribiszke: 'Fertődi 1', 'Fertődi 11', 'Titánia', 'Oteló') flavonoid-származékait.

Megállapítottam, hogy az általam vizsgált bogyós gyümölcsök esetében sokkal nagyobb különbség van az egyes fajok flavonoid-összetétele és mennyisége között, mint a fajon belül, a fajták között. A szamócánál apigenin, kvercetin, és kempferol, a málnák esetében kvercetin- és naringenin-származékokat tudtam azonosítani. A piros ribiszkénél kizárólag kvercetin-, a fekete ribiszkék esetében kempferol-, kvercetin-, luteolin-, miricetin- és naringenin-származékokat lehetett azonosítani.

HPLC-MS/MS csatolt rendszer segítségével elsőként mutattam ki az általam vizsgált szamócafajták mindegyikében ('Honeoye', 'Elsanta', 'Onebor') apigenin-glikozid jelenlétét.

3. A 13 bogyós gyümölcs esetében az általam különböző módszerekkel meghatározott antioxidáns kapacitás és a megmért antioxidáns kapacitásért felelős komponensek mennyisége közötti korreláció alapján új tudományos eredménynek tekintem a következőket:

A C-vitamin-tartalom és az alkalmazott mérések között egy esetben sincs szoros korreláció, ugyanakkor a flavonoidokon belül az antocianinok és a fenolos savakon belül a 4-hidroxi-benzoésav, a t-fahéjsav, a galluszsav, a kávésav valamint a szinapinsav mennyisége és az alkalmazott módszerek között minden esetben szignifikáns összefüggés áll fenn.

Vizsgálataim megerősítették, hogy a fekete ribizskék kimagasló antioxidáns kapacitásáért a galluszsav, a miricetin és miricetin-glikozidok tehetők felelőssé, mely vegyületek fajspecifikus megjelenéséért feltételezhetően a flavonoid bioszintézis út genetikai szabályozása felelős.

4. A zsír- és vízoldható antioxidáns kapacitás meghatározására kidolgozott készülék (Photochem) tesztelése a következő megállapításokhoz vezetett:

Bizonyítottam, hogy a zsíroldható antioxidáns kapacitás meghatározására használatos metanol (a készüléket gyártó cég által ajánlott oldószer) tulajdonságaiból adódóan a mért zsíroldható antioxidáns kapacitás értékeket a vízoldható vegyületek antioxidáns kapacitása is befolyásolja, ami addíciós hibaként jelentkezik.

A gyártó által az eredmények kiértékeléséhez kidolgozott eljárás elvi megfontolásaiban eddig nem ismertetett ellentmondásokat tapasztaltam. A zsíroldható antioxidáns kapacitás mérésénél a vakhoz közeli görbék (híg minta) kiértékelése az antioxidáns kapacitás jelentős túlbecsülését eredményezi.

Kísérletekkel igazoltam, hogy a módszer nem elég robusztus, a minta hígítása jelentősen kihat a kapott eredményekre. Hígítás során nem a hígítás mértékével arányos módon változik a minta műszer által mért antioxidáns kapacitása.

6. PUBLIKÁCIÓS TEVÉKENYSÉG

Impakt faktoros folyóirat közlemények

Hegedűs A., Engel R., Abrankó L., **Balogh E.**, Blázovics A., Hermán R., Halász J., Ercisli S., Pedryc A., Stefanovits-Bányai É.: Antioxidant and Antiradical Capacities in Apricot (*Prunus armeniaca* L.) Fruits: Variations from Genotypes, Years, and Analytical Methods. *Journal of Food Science*, DOI:10.1111/j.1750-3841.2010.01826.x. (IF: 1,601)

Balogh E., Hegedűs A., Stefanovits-Bányai É.: Application of and correlation among antioxidant and antiradical assays for characterizing antioxidant capacity of berries. *Scientia Horticulturae*, **2010**. 125:332-336. (IF: 0,859)

Hegedűs A., **Balogh E.**, Engel R., Sipos B.Z., Papp J., Blázovics A., Stefanovits-Bányai É.: Comparative nutrient element and antioxidant characterization of berry fruit species and cultivars grown in Hungary. *HortScience*, **2008**. 6:1711-1715 (IF:0,79)

Nem impakt faktoros folyóirat közlemények

Balogh E., Hegedűs A., Stefanovits-Bányai É., Engel R., Abrankó L.: A szamóca és málna antioxidáns kapacitásának kialakításában szerepet játszó vegyületek meghatározása. *Élelmiszer Tudomány Technológia*, **2010**. LXIV. évfolyam. 3. szám 5.

Publikáció konferencia kiadványban

Magyar nyelvű (teljes)

Balogh E., Hegedűs A., Blázovics A., Czabai G., Stefanovits-Bányai É.: Analitikai problémák a total antioxidáns kapacitás meghatározásakor. 15th Symposium on Analytical and Environmental Problems, SZAB, Szeged, **2008**. Szept. 22. Proceedings 110-113.

Balogh E., Boldoczki D., Hegedűs A., Papp J., Sipos B., Stefanovits-Bányai É.: Az érzékszervi vizsgálatok szerepe az egészségtudatos táplálkozásban. XIII. F fiatal Műszakiak Tudományos Ül ésszaka, Kolozsvár, **2008**. Márc.14-15. ISBN 978-973-8231-75-7. Erdélyi Múzeum-Egyesület kiadványa. Konferencia Összefoglaló 21-25.

Balogh E., Boldoczki D., Hegedűs A., Papp J., Sipos B., Blázovics A., Stefanovits-Bányai É.: A bogyós gyümölcsök szerepe a hazai élelmiszerfeldolgozásban. *Agrár és Vidékfejlesztési Szemle*, **2008**. 3. 1. 33.

Magyar nyelvű (összefoglaló)

Papp N., Szilvássy B., Pfeiffer P., **Balogh E.**, Szabó T., Szabó Z., Nyéki J., Stefanovits-Bányai É., Hegedűs A.: Csonthéjas gyümölcsök antioxidáns kapacitásának variabilitása a genotípus, évjárat és érési állapot függvényében. *A Magyar Szabadgyök-Kutató Társaság 5. Kongresszusa*, Szeged, **2009**. Aug. 27-29. E21. 35.

Balogh E., Hegedűs A., Papp J., Sipos B., Stefanovits-Bányai É.: Magyarországon termesztett bogyósgyümölcsök szerepe a szervezet ásványi elem bevitelében. XI. Magyar Magnézium Szimpózium, Budapest, **2009.** Ápr. 15. ISBN: 978-963-9319-92-9. Összefoglalók: 15-16.

Balogh E., Hegedűs A., Blázovics A., Czabai G., Stefanovits-Bányai É.: A bogyósgyümölcsök, mint funkcionális élelmiszer alapanyagok. Magyar Táplálkozástudományi Társaság XXXIII. Vándorgyűlés. Pécs, **2008.** Okt. 2-4. P.12.

Balogh E., Stefanovits-Bányai É., Blázovics A., Czabai G., Hegedűs A.: Az antioxidáns kapacitást mérő módszerekkel kapcsolatban felmerülő nehézségek. Szabad Gyökök és Mikroelemek. MSZKT és MTA Mikroelem Munkabizottság Munkaértekezlete Budapest, **2008.** Szept. 26. Abstr.1.

Balogh E., Hegedűs A., Blázovics A., Czabai G., Stefanovits-Bányai É.: Analitikai problémák a total antioxidáns kapacitás meghatározásakor. 15th Symposium on Analytical and Environmental Problems, SZAB, Szeged, **2008.** Szept. 22.

Balogh E., Boldoczki D., Hegedűs A., Papp J., Blázovics A., Stefanovits-Bányai É.: A bogyósgyümölcsök szerepe a korszerű táplálkozásban. A Magyar Szabadgyök Kutató Társaság IV. Kongresszusa. Pécs, **2007.** Okt. 11-13. Folia Hepatologica. ISSN 1419-1156.

Szenthe A., Stefanovits-Bányai É., Stéger-Máté M., Boldoczky D., **Balogh E.,** Engel R., Sipos B. Z., Papp J.: Ősszel érő bogyósgyümölcsök friss fogyasztásának szerepe táplálkozásunkban. VII. Élelmiszertudományi Konferencia, Szeged, **2006.** Összefoglalók: 115-116.

Stéger-Máté M., Stefanovits-Bányai É., **Balogh E.,** Ivanics J., Hegedűs A.: Kereskedelmi forgalomban kapható bogyósgyümölcsök összetételének vizsgálata. Lippai János-Ormos Imre-Vas Károly Tudományos Ülésszak, Budapest, **2005.** Okt. 19-21. Budapest, Élelmiszertudomány, Összefoglalók: 414-415.

Nemzetközi konferencia (összefoglaló)

Balogh E., Gabor G., Bányai-Stefanovits É., Hegedűs A., Abrankó L.: Application of a flavonoid aglycon tagging MS/MS method for finding characteristic differences in berry fruits grown in Hungary, 18th International Mass Spectrometry Conference. Bremen, Germany, **2009.** Aug. 30-Szept. 4.

Rak G., **Balogh E.,** Fodor P. Abrankó L.: Development of a Three-step LC-MS/MS Procedure for Identifying Non-target Flavonoid Derivatives. 18th International Mass Spectrometry Conference. Bremen, Germany, **2009.** Aug. 30-Szept.4.

Papp N., Szilvássy B., Pfeiffer P., **Balogh E.,** Szabó T., Szabó Z., Nyéki J., Stefanovits-Bányai É., Hegedűs A.: Genotypic, seasonal and maturity stage variability in antioxidant capacity of stone fruits. 5th Congress of the Hungarian Society for Free Radical Research. Szeged, **2009.** Aug. 27-29. Acta Biologica Szegediensis, 2009. 53. Suppl. 1. 63.

Balogh E., Hegedűs A., Papp J., Sipos B., Stefanovits-Bányai É.: The role of Hungarian grown berry fruits in the mineral intake of humans, with special focus to magnesium. Magnesium research. **2009.** 22 (2) 98.

Balogh E., Szilvássy B., Rak G., Engel R., Stefanovits-Bányai É., Hegedűs A., Abrankó L.: Characterization of selected contributing to the antioxidant status of red and black currant grown in

Hungary. Future Trends in Phytochemistry in the Global Era of Agri-food and Health. Young Scientific meetings. Los Narejos (Los Alcazares) Murcia (Spain). **2009**. May. 12-14. C-25 Abstracts 84.

Hegedűs A., Tordai E., **Balogh E.**, Engel R., Abrankó L., Papp N., Szilvássy B., Hermán R., Pedryc A., Stefanovits-Bányai É.: Variations in antioxidant and antiradical capacities of a wide range of apricot (*Prunus armeniaca* L.) cultivars and hybrids. Future Trends in Phytochemistry in the Global Era of Agri-food and Health. Young Scientific meetings. Los Narejos (Los Alcazares) Murcia (Spain). **2009**. May. 12-14. C-31. Abstracts 96.

Hegedűs A., **Balogh E.**, Sipos B.Z., Papp J., Blázovics A., Stefanovits-Bányai É.: Variations in nutritional value among berry fruits produced in Hungary. XVI. FESPB. 2008. Tampere aud. 17-22. *Physiologia Plantarum*, FESPB Abstracts, **2008**. 133. 3. P03-019. IF=2007= 2,192

Stefanovits-Bányai É., Stéger-Máté M., **Balogh E.**, Boldoczky D., Ivanics J., Hegedűs A., Sipos B. Papp J.: Composition of fresh and frozen raspberries and blackberries. 7th Regional Conference on environment and Health. Szeged, **2005**. Jun. 17. Abstract 65.

