

## A meggy mint funkcionális élelmiszer

Homoki Judit Rita – Nemes Andrea – Remenyik Judit

Debreceni Egyetem Mezőgazdaság-, Élelmiszertudományi és Környezetgazdálkodási Kar,

Állattudományi, Biotechnológiai és Természetvédelmi Intézet, Debrecen

homoki.judit@gmail.hu

### ÖSSZEFOGLALÁS

Meghatároztuk a 'Debreceni bőtermő', 'Újfehértói fürtös' és 'Érdi bőtermő' meggyfajták antioxidáns kapacitását FRAP (a plazma vas redukáló képességén alapuló antioxidáns kapacitás), DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl gyökfogó aktivitás) és kemiluminometriás módszerrel. A meggyben az antioxidáns tulajdonságú vegyületek közül legnagyobb mennyiségben az antocianinok vannak jelen. Mérési eredményeink azt mutatják, hogy az alkalmazott mérési módszerek közül a kemiluminometriás technika a legalkalmasabb a magas antocianin tartalmú meggy antioxidáns kapacitásának meghatározására. Ez az eljárás jól korrelál a pH differenciális módszerrel meghatározott antocianin tartalommal, míg a másik két módszer igen pontatlan eredményt ad.

Tanulmányoztuk a 'Debreceni bőtermő', 'Újfehértói fürtös', 'Érdi bőtermő' valamint a 'Csengődi csokros' meggyfajták antocianin profilját. Azt tapasztaltuk, hogy a fajták között is jelentős különbség mutatkozik az egyes antocianin komponensek felhalmozódása között. A fajták közül kiemelkedő mennyiségben szintetizál melatonint a 'Csengődi csokros'. Ezen eredmények alapján, úgy gondoljuk, hogy magyarországi meggyfajták alkalmasak funkcionális élelmiszer fejlesztésére.

**Kulcsszavak:** meggy, antioxidáns, antocianin, melatonin diabetes

### SUMMARY

The antioxidant capacity of 'Debreceni bőtermő', 'Újfehértói fürtös' and 'Érdi bőtermő' cultivars were determined by FRAP (Ferric Reducing Ability of Plasma), DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical-scavenging activity) and photochemiluminescence method. In sour cherry, the most antioxidant effects of natural bioactive compounds are anthocyanins. Our results show that the photochemiluminescence method out of applied assays is rather suitable to determine the antioxidant capacity of red soft fruits and tart cherries. The correlation is good between the determined anthocyanin content by this technique and pH-differential spectrophotometry. However, both FRAP and DPPH assays are inaccurate.

The anthocyanin composition of 'Debreceni bőtermő', 'Újfehértói fürtös' and 'Érdi bőtermő' 'Csengődi csokros' sour cherry varieties were analysed. There are big differences between the accumulation of anthocyanin compounds of cultivars. 'Csengődi csokros' produce melatonin in large quantity. On the evidence of the results, we can say that the Hungarian sour cherry cultivars are suitable for functional food development.

**Keywords:** sour cherry, Antioxidant, Anthocyanin, Melatonin, Diabetes

### BEVEZETÉS

Magyarországon a meggy az egyik legnagyobb mennyiségben termesztett gyümölcs, így gazdasági szempontból igen fontos növény. Tudományos jelentősége abban rejlik, hogy rendkívül gazdag antioxidánsokban (vitaminok, színyanyagok) és egyéb bioaktív komponensekben. Kutatásaink leginkább a színyanyagok, azaz az antocianinok vizsgálatára terjedt ki. Az antocianinok a piros bogyós gyümölcsökben – mint bodza, szeder, szőlő feketeribiszke mellett a magyarországi meggyfajták, illetve cseresznyék – nagy mennyiségben halmozódnak fel. Kevésbé ismert, hogy a magyarországi meggyfajták jelentős melatonin felhalmozók.

Az antioxidáns kapacitás meghatározására nemzetközi irodalom által elfogadott módszert a FRAP és a DPPH eljárást használtuk fel méréseink során. Mindkét módszer komplexképződésen alapuló, spektrofotometriás mérés. Míg a FRAP módszerrel a vízzel kioldott vegyületeket mérjük az eredményeket aszkorbinsav ekvivalenciára adjuk meg, addig a DPPH eljárással az alkohollal kioldott komponenseket vizsgáljuk, így trolox ekvivalenciát használunk. Munkánk során különböző termesztési technológiával termesztett, Ma-

gyarországon leginkább elterjedt meggy fajtákat vizsgáltunk. Meghatároztuk a minták összes antocianin mennyiségét is, mint fő antioxidáns forrást. A méréseket pH differenciális módszerrel végeztük.

Alkalmaztunk egy új módszert is az antioxidáns kapacitás meghatározására.

### ANTOCIANINOK

Az antocianinok különböző fémionokkal komplexet alkotva hozzák létre a virágszirmok és a gyümölcsök színét. Különböző pH tartományokban eltérő színűek, így savas közegben piros, semleges közegben színtelen, majd lúgos közegben kék szín jellemzi őket. A gyümölcsök antocianin tartalma az érés előrehaladtával fokozatosan nő (Slimestad és Solheim, 2002; Pantelidis et al., 2007).

Kémiai szerkezetüket tekintve (1. ábra) az antocianinok kalkonvázas vegyületek, ahol az R és R2 pozícióban –OH, -H és –OCH<sub>3</sub> csoportok fordulnak elő, ill. az R3 pozíciót különböző cukrok arabinóz, glükóz vagy galaktóz észterezhetik. Ennek megfelelően beszélhetünk Cyanidinről, Delphinidinről, Malvidinről, Peonidinről, Petunidinről (Mazza és Miniati, 1993).

1. ábra: A különböző antocianinok kémiai szerkezete

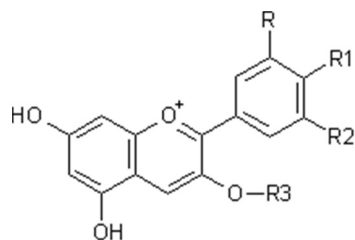


Figure 1: The chemical structure of different Anthocyanins

## AZ ANTOCIANINOK HATÁSA A HUMÁN SZERVEZETRE

Az antocianinokról elmondható, hogy gyökfogó-, kelátképző -, illetve a lipidperoxidációt gátló hatásuk kiemelkedően fontos (Wang és Lin, 2000; Viskelis et al., 2009). Antioxidáns hatásuk kiemelkedőnek tekinthető (Guo et al., 1996; Arora et al., 1998), hiszen hatásosabb antioxidánsnak bizonyultak, mint a C- vagy az E-vitamin (Rice-Evans et al., 1996). Kiváló szabadgyökfogó kapacitással rendelkeznek és a lipidperoxidáció-gátlásban töltenek be fontos szerepet (Hanasaki et al., 1994; Rice-Evans et al., 1996; Wang et al., 1997; Lampe, 1999; Lugasi, 2000). Fémionokkal kelátképzésre is hajlamosak, ezzel azok prooxidáns hatását képesek kivédeni (Robards és Antolovich, 1997; Garcia-Lafuente et al., 2009). Daganatok kialakulását, a sejtburjánzást gátolják (Aguillo et al., 1997; Galati és O'Brien, 2004). Erősítik a citokin enzimek termelését, amelyek segítenek az immunrendszer azonnali válaszadásának javításában, így segítve a szervezetet védekezni a különböző károk ellen. Ez különösen a HIV-vírussal fertőzöttek és a rákbetegek számára fontos a kemoterápiás- és más kezelések kiegészítőjeként (Barak et al., 2001). HIV vírus ellenes hatásukról több kutató számolt már be; e tulajdonságuk a reverz transzkriptáz enzim gátlásában keresendő (Critchfield et al., 1996; Williams et al., 2004). Antimikrobás hatásuk is bizonyított (Rigano et al., 2007). UV sugárzás elleni védelemben kedvező szerepet játszanak (Halliwell, 2001; Ishige et al., 2001). Allergia, asztma, szénanátha ellen is eredményesen használhatók (Ueda et al., 2002; Petti és Scully, 2009). Angiogenezist gátló hatásuk is bizonyítást nyert (Mariani et al., 2008).

A flavonoidok felszívódását, azok szerkezete határozza meg. Szerepet játszik még ebben a glikoziláció, illetve az aciláció és a más fontos fenolos vegyületekkel kialakított kojugáció (Lugasi, 2000). Az antocianinok felszívódása glikozid formájukban is lehetséges a gyomorban, ill. a jejunumban (Sancho és Pastore, 2012), de a felszívódás mértéke igen kicsi és egy bizonyos mennyiség elérése után az antocianinmolekulák felszívódása nem lehetséges. Így a felesleg a vastagbélbe jut, egy másik útvonalon a felszívódott antocianinok kiválasztódnak az epével és ürülnek a vékonybél duodenum szakaszába.

Antibakteriális, antibiotikum rezisztens streptococcus mutánsok, antivirális hatása lipoxigenáz függő peroxidáció gátlása, inaktíválják a szabad gyököket, a biomembránok foszfolipid rétegében gátolják a lipidperoxidációt, csökkenti az oxidált low-density-lipoprotein (LDL) koleszterin arányát, gátolják a trombocita agg-

regációt, továbbá képesek a sejtek fokozott burjánzását, azaz a fokozott sejt proliferációt gátolni (Wang et al., 2008).

Az elmúlt évtizedekben ugrásszerűen megnőtt a Diabetes mellitusban szenvedők száma különösen a jóléti társadalomban. A legújabb kutatások szerint a nem inzulin dependens Diabetes mellitus kialakulásáért gyulladási folyamatok felelősek, melyek során jelentős szabadgyök képződés indul meg, valamint megnő a szabad zsírsav, a tumor necrosis factor (TNF) a  $H_2O_2$  koncentráció, ami gátolja a Glut4-transzporter felszabadulását. A kialakuló ún. oxidatív stressz következtében a sejt inzulin érzékenysége lecsökken. De a növekvő TNF koncentrációja beindít egy kaskád folyamatot, azaz nagy mennyiségű c-Jun terminal kináz (TK) szabadul fel, amely meggátolja az inzulin receptor szubsztrátjának foszforilációját, így a Glut4-transzporter nem jut ki a sejtől és a cukor nem jut be a sejtbe. Új, alternatív lehetőség a vércukor szint csökkentésére a sejtek inzulin érzékenységének fokozása (Guo et al., 2007).

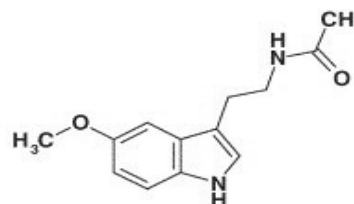
Kísérletekben Guo et al. (2007) vizsgálták, hogy az egyik antocianin származék hatására a glükóztanszporter koncentrációja nő, a vércukorszint pedig jelentősen csökken, mert bizonyos antocianin származékok képesek eliminálni a szabadgyököket, így gátolják a gyulladás kialakulását, megakadályozzák a c-Jun TK felszabadulását. Ezáltal az inzulin szubsztrát megfelelő pozícióban történő foszforiláció lehetővé teszi a sejt számára a glükóz felvételt, azaz növekszik a sejt inzulinérzékenysége és csökken a vércukorszint.

## A MELATONIN HATÁSA A HUMÁN SZERVEZETRE

Texasi kutatók már megállapították, hogy 1 g 'Montmorency' meggyben átlagosan 13,5 ng melatonin termelődik több mint ami az egészséges emberi szervezetben normál körülmények között jelen van.

A melatonin (2. ábra) – mint antioxidáns – biotranszformációja során képződő vegyületeknek más biokémiai folyamatokban van hatása; vagy megelőző szerepe (máj, agy, szívizom, bélrendszer, vese, hasnyálmirigy) pl. az ischemia/reperfuzio következtében kialakult szöveti és sejtszintű károsodások eliminálása, illetve ezek működésének visszaállításában van jelentős szerepe.

2. ábra: A melatonin kémiai szerkezete



Melatonin (N-acetyl-5-methoxytryptamine)

Figure 2: The chemical structure of Melatonins

Elsőként igazolt hatása az alvás-ébrenlét ciklus szabályozása volt. A későbbi vizsgálatok világítottak rá arra, hogy emellett más élettani folyamatokban is kulcsfontosságú úgynevezett „összszervező” hor-

mon. Fontos szerepe van az öregedés késleltetése mellett a stressztűrő képesség javításában (Bondy et al., 2007). A klinikai-, és sejtbioológiai vizsgálatok igazolták, hogy sejteink mindegyike rendelkezik melatonin receptorral és azon túl, hogy szabályozza a cirkadian ritmust a MT2 receptoron keresztül gátolja a dopamin felszabadulást, illetve vasodilatációt indukál és ezen receptoron keresztül erősíti az immunválaszt (Ekmekcioglu, 2006).

Antioxidáns kapacitása igen nagy. Képes eliminálni mind a kationokat, mind a negatív töltésű szabadgyököket és ezen kívül a NO típusú vegyületeket (Claustrat et al., 2005).

Gyulladáscsökkentő hatásának magyarázata, hogy a melatonin oxidációja során képződik az N-acetil-N-formil-5-metoxi-kinuramin (AFMK) és a hidroximelatonin. Ezek jelenléte meggátolja a ciklooxygenáz enzim szintézisét, aminek következtében a prosztaglandinok szintézise gátolt.

Melatonin jelenlétében az oxidatív stressz hatására nem következik be a mitokondriális elektronok „szivárgása”, mivel gátolt a mitokondriális pólusok nyitása. A Citokrom C nem működik, nem következik be apoptózis, így képes stimulálni az antioxidáns enzimek szintéziséért felelős géneket, mint a glutation peroxidáz, (GSH peroxidáz). Jelenlétében gátolt a NO szintázok és a lipoxigenázok szintézise.

A melatonin antioxidáns, a humán szervezetekben a biotranszformáció során más biogén aminokká alakul pl. kinuraminok. A szervezetben a melatonin biotranszformációja két lépésben történik.

Az első lépésben a melatonin direkt oxidációja során N-acetil-N-formil-5-metoxi-kinuraminná (AFMK) alakul. (Ezt in vitro kísérletben igazolták. Teljes kinetikai és szerkezetvizsgálatokkal írták le. A kísérletekben vizsgálták a melatonin és a H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> reakcióját.) Második lépésben az AFMK-t a kataláz enzim átalakítja N-acetil-5-metoxi-kinuraminná (AMK). A melatonin antioxidáns tulajdonságáért ez a vegyület a felelős. Ezt a származékot a plazmából is sikerült kimutatni. Leírták egyes biokémiai folyamatokban a szerepét pl. az AMK gátolja a posztaglandinok bioszintézisét, vagy képes hozzákapcsolódni a GABA receptorokhoz (Zurowski et al., 2012). Más klinikai vizsgálatokban tanulmányozták megelőző szerepét: a máj, agy, szívizom, bélrend-

szér és vese ichsemia /reperfúzió következtében kialakult szöveti és sejt szintű károsodások kialakulásában, illetve ezek működésének visszaállításában (Claustrat et al., 2005).

### ANYAG ÉS MÓDSZER

A vizsgált meggy fajtákat 'Újfehértói fürtöst', 'Csengődi csokros', 'Debreceni-, illetve 'Érdi bőtermőt' a Debreceni Egyetem Pallagi Bemutatókertből kaptunk. A mintagyűjtés június és július közepe között történt az érés utolsó stádiumában. A betakarított gyümölcsöt a laboratóriumba történő szállítás után (-20 °C) fagyaszta tároltuk. Ezek a minták különböző termesztési technológiával termesztett fajták. Mivel munkánk célja a módszerfejlesztés, a mért értékeket ismétlésnek tekintjük.

### Mintaelőkészítés antioxidáns kapacitás meghatározására

Az antioxidáns aktivitás vizsgálatához a mintákat lefagyasztottuk, liofilizáltuk, porítottuk, majd a mintákból 25 mg/cm<sup>3</sup> koncentrációjú oldatokat készítettünk eppendorf csövekben. Az oldatok elkészítéséhez a vizsgálat jellegének megfelelő oldószert használtuk fel (FRAP – desztillált víz, DPPH – metanol, ACW – desztillált víz, ACL – metanol). Az így előkészített mintát 5 percig 10 000 rpm-en „2-16 Sartorius” (Sigma) típusú laboratóriumi centrifugán centrifugáltuk. A mérések elvégzéséhez az így kapott szűrlet felülúszóját használtuk fel.

### Antocianinok meghatározása pH differenciális módszerrel

A vizsgálathoz két különböző pH-jú oldatot kell előkészíteni egy pH 1,0-es puffert (KCl – HCl) és pH 4,5-es puffert (Na-acetát – HCl). Az előkészített minták mérése 530 és 700 nm-en (Amersham Biosciences, Ultrospec 2100 pro, England) párhuzamosan zajlik (Lee et al., 2005).

A mért értékeket, az alábbi képlet segítségével tudjuk kiértékelni:

$$\Delta A = (A_{530 \text{ nm}}^{\text{pH}1,0} - A_{700 \text{ nm}}^{\text{pH}1,0}) - (A_{530 \text{ nm}}^{\text{pH}4,5} - A_{700 \text{ nm}}^{\text{pH}4,5})$$

$$\% \left( \frac{m}{m} \right) = \frac{\Delta A}{\epsilon L} M D \frac{V}{m} 100$$

A ~ Abszorbancia

$\epsilon$  ~ 26,900

L ~ kivetta hossza (1 cm)

M ~ Moláris tömeg (449,2 g/mol)

D ~ Hígítás

V ~ minta térfogat (ml)

m ~ minta bemért tömege (mg)

### H donor aktivitás meghatározás DPPH módszerrel

A DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil), amely stabil gyök képzésére alkalmas, jellemző aktivitást mutat 517 nm-en. A DPPH reakcióban az antioxidáns moleku-

la H-atomok jelenlétében (melyet a vizsgálandó H-donor aktivitással rendelkező vegyületek szolgáltatnak) könnyen protonálódik, mely folyamat eredményeként az abszorbancia csökken. Ha az antioxidánsok reagálnak a gyökkel, az eredetileg lila vegyület színtelenné válik. Az oxidatív hatás erősségét általában azzal az antioxidáns koncentrációval jellemzik, amely megfelel a szabadgyökök koncentrációját. Az összehasonlíthatóság kedvéért, mi a minták tényleges koncentrációját határoztuk meg (Hatano et al., 1988). A reagens 9%-os metanolos DPPH oldat. A mérést 517 nm-en végezzük (Amersham Biosciences, Ultrospec 2100 pro, England), az összeméréstől számítva 30 perc elteltével (addig a kémcsöveket sötétben tároljuk).

### Vasredukáló képesség meghatározása FRAP módszerrel

A FRAP értékek meghatározása Benzie és Strain módszere (1996) alapján történt spektrofotometriásan ( $\lambda=593$  nm). A módszer azon alapszik, hogy a 2,4,6-tris-(2-piridil)-s-triazin Fe(III)-al képzett komplexe antioxidáns jelenlétében redukálódik Fe(II) vegyület képződésével. A reakció következtében a kiindulási komplex vegyület színe sárgából kékre változik.

A reagenshez először el kell készítenünk az acetát puffert (3,1 g nátrium-acetát\*3H<sub>2</sub>O, 16 ml ecetsav/1 dm<sup>3</sup>), a FeCl<sub>3</sub>-oldatot (54 mg FeCl<sub>3</sub>/10 ml DV) és a TPTZ-oldatot (31,23 mg 2,4,6-tri (2-Piridil)-1,2,5-triazin (TPTZ), 33,5 µl c.c. HCl/10 ml DV).

Ezekből az oldatokból mérjük össze a FRAP reagenst (25 ml Acetát puffer, 2,5 ml FeCl<sub>3</sub>-oldat, 2,5 ml TPTZ-oldat).

A mérés 593 nm-en folyik (Amersham Biosciences, Ultrospec 2100 pro, England).

### Antioxidáns kapacitás meghatározása kemiluminometriás módszerrel

A vízoldható antioxidáns aktivitás (Antioxidant Capacity of Water-soluble, ACW) meghatározásánál az oldatkészítéshez desztillált vizet, a zsírolható antioxidáns aktivitás mérésénél (Antioxidant Capacity of Lipid-soluble, ACL) pedig metanolt használtunk fel. Az antioxidáns kapacitás mérését Photochem® (Analytik Jena AG, Germany) készülék segítségével végeztük el. A módszer fotokemilumineszcencián alapul. UV fény hatására a vizsgálati elegyhez külsőleg hozzáadott fotokémiai érzékenyítő komponensből szuperoxid anionok keletkeznek, amelyeket a minta antioxidáns tulajdonságú vegyületei eliminálnak. A maradék szuperoxid anionok ezt követően reagálnak a mintához adott specifikus fotokémiai detektorvegyülettel. A műszer a fotokémiai reakció által kibocsátott ún. kemilumin-eszcenciát méri, azaz közvetett módon a minta antioxidáns kapacitását határozza meg (Popov és Lewin, 1996). A mérést készen kapható kiték segítségével végezzük.

### Antocianinok izolálása (Bridle és Garcia-Viguera, 1997)

A meggy mintákat kimagoztuk és homogenizáltuk a Braun Multiquick 300 Watt-os készülékkel.

100 mg vizsgálati mintát 20 °C-on 1 órán keresztül extraháljuk 100 ml metanol:víz:ecetsav (25:24:1) elegygel kevertettük MSH 300 (BIOSAN). A kivonatot szűrtük, és centrifugáltuk SARTORIUS centrifugával 5 percig 10 000 rpm fordulaton. Ezután az extraktot bepároltuk, 40 °C Büchi rotációs vákuumbepárló készülékkel. A bepárolt mintát 3%-os hangyasav vízben feloldottuk.

Szilárd fázisú extrakciót végeztünk C-18 ENVI Supelclean SPE tubusok (Bellefonte, PA, USA). Az antocianinokat tartalmazó oldatot bepárolgtattuk 40 °C-on. Az antocianinokat ismét feloldjuk 3%-os hangyasavas vízben.

### Az antocianinok kvalitatív és kvantitatív meghatározása HPLC módszerrel

A mintákat Merck – Hitachi LaChrom nagy nyomású folyadékkromatográf diódasoros detektorral L-7455 analizáltuk, automata mintavevővel L-7250, interface L-7000, pumpa L-7100 és a HPLC rendszerhez Manager szoftvert, használtunk. Elválasztást Hamilton PRP-1, 5 mikron pórusméretű oszloppal végeztük, (150 mm-es 4,1 mm Å C18 oszlopon (Reno, NV, USA). Kromatográfias eljárást fejlesztettünk ki az antocianinok minőségi és mennyiségi meghatározására ahol az A pumpán a mozgó fázis víz:hangyasav=9:1 eluens a B pumpán a mozgó fázis víz:hangyasav:acetonitril=4:1:5 eluens volt. Gradiens elúciót alkalmaztunk 0 perc A pumpa 100% B pumpa 0%, 10 perc A pumpa 70% B pumpa 30%, 15,5 perc A pumpa 30% B pumpa 70%. Az áramlási sebesség 1 ml/perc és az antocianinokat 535 nm-nél detektáltuk és azonosítottuk az egyes komponenseket standardok segítségével.

### Tömegspektrometriás mérések szilárd lézer MALDI-TOF MS

Méréseinkhez Brukre Biflex III reflektorral és „delayed extraction”-nal felszerelt tömegspektrométert használtunkm 2,5-dihidroxi-benzoésav (DHB), vagy 2,3,6-trihidroxi-acetofenon (THAP) mátrix alkalmazásával, pozitív-ion módban. A minták gáz fázisba juttatása és ionizálása nitrogén lézer, 3 ns impulzusidő alkalmazásával történt. Többszöri, általában 100 impulzust alkalmaztunk 19 kV gyorsító és 20 kV reflektoron feszültség mellett. A készüléket antocianinok [M+Na]<sup>+</sup>-ionjainak m/z értékeire (449,26; 232,29 g/mol) kalibráltuk külső kalibrációt alkalmazva.

### Melatonin izolálása

A mintákat kimagoztuk és homogenizáltuk a Braun Multiquick 300 Watt-os készülékkel. Valamennyi meggyfajtát 20 °C-on 1 órán keresztül extraháljuk 100 ml metanol:víz (50:50) kevertettük MSH 300 (BIOSAN). A kivonatot ezután szűrjük, és centrifugáltuk Sartorius centrifugával 5 percig 10 000 rpm fordulaton. Ezután az extraktot bepároltuk 40 °C Büchi rotációs vákuumbepárló készülékkel. Ezt az oldatot tisztítottuk C-18 ENVI Supelclean SPE tubusok (Bellefonte, PA, USA). Az melatonin tartalmzó oldatot bepárolgtattuk 40 °C-on kb. 500 µl-re.

### Az melatonin mennyiségi meghatározása HPLC módszerrel

A mintákat Merck – Hitachi LaChrom nagy nyomású folyadékkromatográf diódasoros detektorral L-7455 analizáltuk, automata mintavevővel L-7250, interface L-7000, pumpa L-7100 és a HPLC rendszerhez Manager szoftvert, használtunk. Elválasztást Chromolith Performance RP-18e 100×4,6 mm No UMO 119/009 oszlop (Darmstadt, Germany). Kromatográfias módszert fejlesztettünk ki a melatonin mennyiségi meghatározására. A mozgó fázis az acetitril: Sörensen puff-

fer (pH 4,79)=18:82 eluens volt. Az áramlási sebesség 1 ml/perc a melatonin 275 nm-nél detektáltuk standard segítségével.

### EREDMÉNYEK

Meghatároztuk a 'Debreceni bőtermő', 'Újfehértói csokros' és 'Érdi bőtermő' meggyfajták antioxidáns ka-

pacitását FRAP, DPPH és kemiluminometriás módszerrel.

Az összes antocianin tartalmat pH differenciális módszerrel mértük. Eredményeinket az 1. táblázatban foglaltuk össze. Jellemzően igen magas a magyarországi mért fajták antocianin tartalma, amely jelentős anti-oxidáns hatású vegyület.

1. táblázat

A meggyfajták különböző módszerekkel meghatározott antioxidáns kapacitása, és az antocianin tartalom

Minta neve (1)	DPPH(2) ( $\mu\text{g}/\text{mg}$ )	FRAP(3) ( $\mu\text{g}/\text{mg}$ )	ACL(4) ( $\mu\text{g}/\text{mg}$ )	ACW(5) ( $\mu\text{g}/\text{mg}$ )	Antocianin(6) ( $\mu\text{g}/\text{mg}$ )
Debreceni bőtermő metszetlen külső	1,576	1,775	16,895	18,388	6,877
Debreceni bőtermő 2008. 10. 12. belő	0,971	1,066	11,961	11,574	3,852
Debreceni bőtermő 2008. 08. 26. belső	1,190	1,298	14,042	10,987	4,648
Debreceni bőtermő 2008. 08. 26. külső	1,184	1,553	14,480	16,041	5,508
Debreceni bőtermő 2008. 07. 25. belső	1,427	1,049	16,792	10,936	2,295
Debreceni bőtermő 2008. 10. 12. külső	1,615	1,405	14,269	11,478	3,329
Debreceni bőtermő metszetlen belső	1,481	1,350	9,459	8,778	4,165
Újfehértói fűrtös 2008. 10. 12. belső	1,508	1,792	16,731	14,486	5,264
Újfehértói fűrtös metszetlen külső	1,462	1,684	14,068	17,063	10,037
Újfehértói fűrtös 2008. 07. 25. belső	1,385	1,645	14,064	12,659	7,756
Újfehértói fűrtös 2008. 08. 26. belső	1,669	1,847	16,850	13,766	12,217
Újfehértói fűrtös metszetlen belső	1,197	1,184	21,075	12,150	6,831
Újfehértói fűrtös 2009. 03. 23. belső	1,432	1,650	16,960	15,456	7,964
Újfehértói fűrtös 2008. 08. 26. külső	1,501	1,627	15,028	15,857	7,565
Újfehértói fűrtös 2009. 03. 23. külső	1,849	1,649	19,946	21,868	7,711
Újfehértói fűrtös 2008. 10. 12. külső	1,395	1,469	17,728	16,662	9,870
Érdi bőtermő metszési kísérlet 3.	1,768	1,823	14,042	8,760	10,343
Érdi bőtermő 2008. 10. 12. külső	1,655	1,810	24,224	13,680	13,740
Érdi bőtermő 2008. 07. 25. belső	1,576	1,167	16,390	11,596	12,422
Érdi bőtermő 2009. 03. 23. belső	1,036	1,260	15,470	14,450	8,814
Érdi bőtermő 2008. 08. 26. belső	1,292	1,499	17,322	13,352	12,434
Érdi bőtermő 2008. 07. 02. külső	1,529	2,005	19,410	20,102	12,014
Érdi bőtermő 2009. 03. 23. belső	1,290	1,756	17,600	13,910	8,406
Érdi bőtermő metszetlen külső	2,499	2,025	28,860	20,250	8,576
Érdi bőtermő 2009. 03. 23. külső	1,846	1,567	23,118	13,799	9,970
Érdi bőtermő metszési kísérlet 2.	1,540	2,065	18,221	13,641	10,109
Érdi bőtermő metszési kísérlet 1.	1,914	2,479	24,388	13,352	9,433
Érdi bőtermő 2008. 07. 02. belső	1,986	1,393	21,208	10,271	9,709
Érdi bőtermő 2008. 10. 12. belső	2,047	1,746	24,646	16,614	10,504
Érdi bőtermő 2008. 08. 26. külső	1,864	1,417	20,931	15,493	9,060

Table 1: : The Antioxidant capacity of sour cherry cultivars by different methods, and the Anthocyanin content  
Name of sample(1), DPPH(2), FRAP(3), ACL(4), ACW method(5), Athocyanin(6)

A két először alkalmazott antioxidáns kapacitás mérésére szolgáló módszer (FRAP, DPPH) nem alkalmas a piros bogyós gyümölcsök teljes víz és zsírolé-kony antioxidáns hatású vegyületek mérésére.

Az átlagos antocianin tartalom 8,38  $\mu\text{g}/\text{mg}$ , míg a DPPH módszerrel csak 1,6  $\mu\text{g}/\text{mg}$  trolox ekvivalencia mérhető, FRAP módszerrel pedig 1,17  $\mu\text{g}/\text{mg}$ . Ezen vegyületek teljesebb meghatározására a kemiluminometriás módszer alkalmas.

További vizsgálatainkban meghatároztuk az egyes fajták antocianin profilját (cyanidin-3-glucosid, malvidin-3- glicosid malvidin-3,5- diglicosid). Mérési eredményeink szerint a meggy jelentős cyanidin-3-O-glucosid felhalmozó. Ezt igazoltuk MALDI-TOF MS módszerrel is.

Kromatográfias eljárást fejlesztettünk a melatonin elválasztására, és mennyiségi meghatározására.

A melatonin szerkezetét igazoltuk MALDI-TOF MS technikával ahol meghatároztuk a melatonin molekula tömegét. A 3. ábrán a melatonin látható, melynek molekula tömege: 232,9 g/mol.

3. ábra: A melatonin MALDI-TOF MS

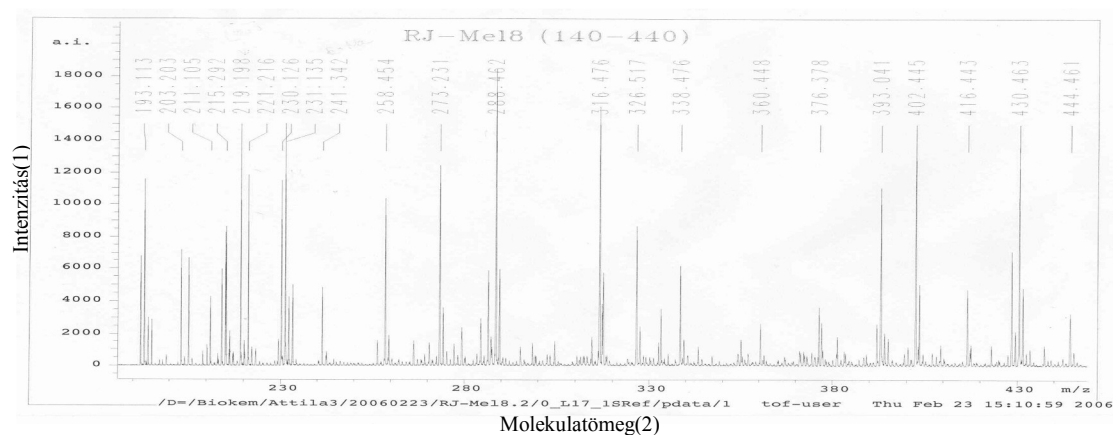


Figure 3: : The MALDI-TOF MS spectrum of Melatonin Intensity(1), Molecular weight(2)

A mérési eredményeket a 2. táblázatban foglaltuk össze. Az egyes fajták kromatogramjának összehasonlítása során azt tapasztaltuk, hogy fajtán belül is eltérők lehetnek az egyes antocianin féleségek és azok egymáshoz viszonyított arányuk is eltérő. Ha a 'Csengődi csokrost' összehasonlítjuk az általunk vizsgált bármelyik másik fajtával azt tapasztaljuk, hogy a 'Csengődi' szelektíven nagy mennyiségben szintetizálja a

cyanidin-3-glucosidot míg más fajtáknál a malvidin-3,5- diglicosid is megjelenik a táblázatban feltüntetett mennyiségekben. Ellentétben más meggyfajtákkal a 'Csengődi csokros' igen nagy mennyiségben raktároz melatonint 1012 ng/g.

Ezen eredmények alkalmassá teszik a magyarországi meggyfajtákat funkcionális élelmiszer fejlesztésére.

2. táblázat

A meggyfajták antocianin és melatonin tartalma

Meggyfajták(1)	Cyanidin-3-O-gluc (mg/100 g)	Malvidin-3,5-gluc (mg/100 g)	Melatonin (ng/g)
Csengődi csokros	98,200	n. a.	1012
Debreceni bőtermő	29,480	33,01	n. a.
Érdi bőtermő	30,136	32,25	n. a.
Újfehértói fürtös	10,260	14,94	980

Table 2: : The Antocyanins and Melatonin content of sour cherry cultivars Sour cherry cultivars(1)

#### IRODALOM

- Agullo, G.–Gamet-Payrastra, L.–Manenti, S.–Viala, C.–Remesy, C.–Chap, H.–Payrastra, B. (1997): Relationship between flavonoid structure and inhibition of phosphatidylinositol 3-kinase: A comparison with tyrosine kinase and protein kinase C inhibition. *Biochemical Pharmacology*. 53: 1649–1657.
- Arora, A.–Nair, M. G.–Strasburg, G. M. (1998): Structure-activity relationships for antioxidant activities of a series of flavonoids in a liposomal system. *Free Radical Biology and Medicine*. 24: 1355–1363.
- Barak, V.–Halperin, T.–Kalickman, I. (2001): The effect of Sambucol, a black elderberry-based, natural product, on the production of human cytokines. *Eur. Cytokine Netw.* 12. 2: 290–296.
- Benzie, I. F. F.–Strain, J. J. (1996): The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": The FRAP assay. *Analytical Biochemistry*. 239: 70–76.
- Bondy, S. C.–Sharman, E. H. (2007): Melatonin and the aging brain. *Neurochemistry International*. 50: 571–580.

- Bridle, P.–Garcia-Viguerab, C. (1997): Analysis of anthocyanins in strawberries and elderberries. A comparison of capillary zone electrophoresis and HPLC. *Food Chemistry*. 59. 2: 299–304.
- Claustrat, B.–Brun, J.–Chazot, G. (2005): The basic physiology and pathophysiology of melatonin. *Sleep Medicine Reviews*. 9: 11–24.
- Critchfield, J. W.–Butera, S. T.–Folks, T. M. (1996): Inhibition of HIV activation in latently infected cells by flavonoid compounds. *Aids Research and Human Retroviruses*. 12: 39–46.
- Ekmekcioglu, C. (2006): Melatonin receptors in humans: biological role and clinical relevance. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 60: 97–108.
- Galati, G.–O'Brien, P. J. (2004): Potential toxicity of flavonoids and other dietary phenolics: Significance for their chemopreventive and anticancer properties. *Free Radical Biology and Medicine*. 37: 287–303.
- Garcia-Lafuente, A.–Guillamon, E.–Villares, A.–Rostagno, M. A.–Martinez, J. A. (2009): Flavonoids as anti-inflammatory agents: implications in cancer and cardiovascular disease. *Inflammation Research*. 58: 537–552.
- Guo, H.–Wenhua Ling, W.–Wang, Q.–Liu, C.–Hu, Y.–Xia, M. (2007): Cyanidin 3-glucoside protects 3T3-L1 adipocytes against H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>- or TNF- $\alpha$ -induced insulin resistance by inhibiting c-Jun NH<sub>2</sub>-terminal kinase activation. *Biochemical pharmacology*. 75: 1393–1401.
- Guo, Q. N.–Zhao, B. L.–Li, M. F.–Shen, S. R.–Xin, W. J. (1996): Studies on protective mechanisms of four components of green tea polyphenols against lipid peroxidation in synaptosomes. *Biochimica Et Biophysica Acta-Lipids and Lipid Metabolism*. 1304: 210–222.
- Halliwel, B. (2001): Role of free radicals in the neurodegenerative diseases – Therapeutic implications for antioxidant treatment. *Drugs & Aging*. 18:685–716.
- Hanasaki, Y.–Ogawa, S.–Fukui, S. (1994): The correlation between active oxygens scavenging and antioxidative effects of flavonoids. *Free Radical Biology and Medicine*. 16: 845–850.
- Hatano, T.–Kagawa, H.–Yasuhara, T.–Okuda, T. (1988): 2 new flavonoids and other constituents in licorice root-their relative astringency and radical scavenging effects. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin*. 36: 2090–2097.
- Ishige, K.–Schubert, D.–Sagara, Y. (2001): Flavonoids protect neuronal cells from oxidative stress by three distinct mechanisms. *Free Radical Biology and Medicine*. 30: 433–446.
- Lampe, J. W. (1999): Health effects of vegetables and fruit: assessing mechanisms of action in human experimental studies. *The American Journal of Clinical Nutrition*. 70. 3: 475–490.
- Lee, J.–Durst, R. W.–Wrolstad, R. E. (2005): Determination of Total Monomeric Anthocyanin Pigment Content of Fruit Juices, Beverages, Natural Colorants, and Wines by the pH Differential Method: Collaborative Study. *Journal of AOAC International*. 88: 1269–1278.
- Lugasi, A. (2000): Az élelmiszereredetű flavonoidok potenciális egészségvédő hatása. *Orvosi Hetilap*. 141: 1751–1760.
- Mariani, C.–Braca, A.–Vitalini, S.–De Tommasi, N.–Visioli, F.–Fico, G. (2008): Flavonoid characterization and in vitro antioxidant activity of *Aconitum anthora* L. (Ranunculaceae). *Phytochemistry*. 69: 1220–1226.
- Mazza, G.–Miniati, E. (1993): Anthocyanins in fruit, vegetables, and grains. CRC Press. Boca Raton. FL. USA.
- Pantelidis, G. E.–Vasilakakis, M.–Manganaris, G. A.–Diamantidis, G. (2007): Antioxidant capacity, phenol, anthocyanin and ascorbic acid contents in raspberries, blackberries, red currants, gooseberries and cornelian cherries. *Food Chemistry*. 102: 777–783.
- Petti, S.–Scully, C. (2009): Polyphenols, oral health and disease: A review. *Journal of Dentistry*. 37: 413–423.
- Rice-Evans, C. A.–Miller, N. J.–Paganga, G. (1996): Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free Radical Biology and Medicine*. 20: 933–956.
- Rigano, D.–Formisano, C.–Basile, A.–Lavitola, A.–Senatore, F.–Rosselli, S.–Brtno, M. (2007): Antibacterial activity of flavonoids and phenylpropanoids from *Marrubium globosum* ssp. *libanoticum*. *Phytotherapy Research*. 21: 395–397.
- Popov, I. N.–Lewin, G. (1996): Photochemiluminescent detection of antiradical activity. IV: Testing of lipid-soluble antioxidants. *Journal of Biochemical and Biophysical Methods*. 31: 1–8.
- Robards, K.–Antolovich, M. (1997): Analytical chemistry of fruit bioflavonoids - A review. *Analyst*. 122: R11–R34.
- Ueda, H.–Yamazaki, C.–Yamazaki, M. (2002): Luteolin as an anti-inflammatory and antiallergic constituent of *Perilla frutescens*. *Biological & Pharmaceutical Bulletin*. 25: 1197–1202.
- Sancho, R. A. S.–Pastore, G. M. (2012): Evaluation of the effects of anthocyanins in type 2 diabetes. Review. *Food Research International*. 46: 378–386.
- Slimestad, R.–Solheim, H. (2002): Anthocyanins from black currants (*Ribes nigrum* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 50: 3228–3231.
- Viskeli, P.–Rubinskiene, M.–Jasutiene, I.–Sarkinas, A.–Daubaras, R.–Cesoniene, L. (2009): Anthocyanins, antioxidative, and antimicrobial properties of american cranberry (*Vaccinium macrocarpon* Ait.) and their press cakes. *Journal of Food Science*. 74: 157–161.
- Wang, H.–Cao, G. H.–Prior, R. L. (1997): Oxygen radical absorbing capacity of anthocyanins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 45: 304–309.
- Wang, Li-Shu–Stoner, G. D. (2008): Anthocyanins and their role in cancer prevention. *Cancer Letters*. 269: 281–290.
- Wang, S.Y.–Lin, H. S. (2000): Antioxidant activity in fruits and leaves of blackberry, raspberry, and strawberry varies with cultivar and developmental stage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 48: 140–146.
- Williams, R. J.–Spencer, J. P. E.–Rice-Evans, C. (2004): Flavonoids: Antioxidants or signalling molecules? *Free Radical Biology and Medicine*. 36: 838–849.
- Zurowski, D.–Nowak, L.–Machowska, A.–Wordliczek, J.–Thor, P. J. (2012): Exogenous melatonin abolishes mechanical allodynia but not thermal hyperalgesia in neuropathic pain. the role of the opioid system and benzodiazepine-gabaergic mechanism. *Journal of Physiology and Pharmacology*. 63. 6: 641–647.

