

## Kísérletek gyümölcs- és zöldségminták összes antioxidáns aktivitásának rutinszerű mérésére Photochem kemiluminométerrel

Veres Zsuzsanna – Domokos-Szabolcsy Éva –  
Fári Miklós Gábor

Debreceni Egyetem Agrártudományi Centrum,  
Mezőgazdaságtudományi Kar,  
Zöldségtermesztési Tanszék, Debrecen  
zveres@helios.date.hu

### ÖSSZEFOGLALÁS

Laboratóriumunk gyümölcs- és zöldségfajták és feldolgozott minták összes antioxidáns aktivitásának PHOTOCHEM® (Analytik Jena AG, Germany) mérőműszerrel történő, rutinszerű meghatározása terén folytat kutatásokat.

A szakirodalom szerint a műszer egyik előnye, hogy segítségével mind a zsírban (ACL method), mind pedig a vízben oldódó (ACW method) antioxidáns tulajdonságú komponensek összes aktivitása meghatározható, a másik előnye a gyors mérés. Hasonló műszerekkel egy-egy vizsgálat több órát is igényelhet, ezzel szemben a PHOTOCHEM® néhány perc alatt, félautomatikus üzemmódban végzi a mérést. Jelen kísérletünkben magyar meggyfajták, paprikafajták, sárgarépa, muskotálytök, cékla, valamint Brassica sp. fajták összes antioxidáns aktivitását határoztuk meg. Arra kerestük a választ, hogy az egészséges táplálkozás szempontjából is jelentős gyümölcs- és zöldségfajok körében – a fajta és/vagy nemesítési alapanyag, termőhely, évjárat és poszt-harveszt tényezők komplex összehasonlítása során – az összes antioxidáns aktivitás rutinszerű, gyorsmeghatározása vajon alapozódhat-e erre a műszerre?

Az eddig elvégzett kutatásaink egyértelműen azt igazolták, hogy a PHOTOCHEM® műszer alkalmas az összes antioxidáns aktivitás rutinszerű, félautomatikus méréseire zöldség-, illetve gyümölcsmintákban, és ígéretes technika az élelmiszeripari és a poszt-harveszt technológiák kidolgozása és/vagy jellemzése terén, a minőségbiztosításban, továbbá speciális nemesítési programokban, kórélettani, valamint biotechnológiai alapkutatásokban is.

**Kulcsszavak:** összes antioxidáns aktivitás, kemiluminométer, paprika, meggy, Brassica sp., muskotálytök, cékla, sárgarépa

### SUMMARY

In our present study, we performed a quick test of the antioxidant capacity of domestic fruit and vegetable cultivars with a PHOTOCHEM® instrument (Analytik Jena AG, Germany). The instrument is special because it can measure both the total lipid-soluble antioxidant capacity (ACL method) and the total water-soluble antioxidant capacity. Another advantage of the system is its quick measurement. With similar instruments, such measurement can take several hours, while PHOTOCHEM® can perform it within a few minutes.

In our model studies, we examined the changes in the antioxidant capacity of sour cherry, green pepper, carrot, pumpkin, red beet and Brassica sp. cultivars. We aimed to determine how suitable the instrument is for quick, routine measurements in the case of the different horticultural products and which species have high antioxidant capacity values.

On the basis of our examinations, we can state that the PHOTOCHEM® system is suitable for routine, semi-automated

measurements of the total antioxidant capacity at several vegetables and fruits. Besides this, the system can be used for testing the quality of food products, for monitoring storability in post-harvest technologies, and for special breeding programmes and for physiological and biotechnological studies.

**Keywords:** antioxidant capacity, chemiluminometer, sweet pepper, sour cherry, Brassica sp., pumpkin, red beet, carrot

### BEVEZETÉS

Az utóbbi években az antioxidáns anyagok kutatása az élelmiszer- és orvostudomány érdeklődésének középpontjába került. Antioxidáns anyagok – melyet számos gyümölcs és zöldség tartalmaz – lehetnek különféle enzimek, vitaminok, illetve a növényi metabolizmus másodlagos anyagcseretermékei. Ezek az anyagcseretermékek (pl. fenol típusú vegyületek), vitaminok, enzimek pozitívan hatnak – többek között – az emberi szervezetre veszélyeztető szív- és érrendszeri, valamint daganatos stb. betegségek ellen.

Antioxidáns hatással legfőképp a gyümölcs- és zöldségfélék másodlagos anyagcseretermékei rendelkeznek (Böhm et al., 1999), amelyek komoly szerepet töltenek be az egészséges táplálkozásban. A gyümölcsök és a zöldségfélék antioxidáns hatású anyagcseretermékeinek hatékony és reprodukálható vizsgálatára számos módszert fejlesztettek ki. Az elterjedt eljárások között ismertek az ORAC (Oxygen Radical Absorption Capacity), a TEAC (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity), a TOSC (Total Oxyradical Scavenging Capacity), a FRAP (Ferric Reducing Ability of Plasma) és a TRAP (Total Radical Trapping Ability of Plasma) módszerek. A FRAP módszer sajátossága, hogy sikerrel alkalmazható a minta antioxidáns anyagainak közvetlen mérésére. Hátránya, hogy kéntartalmú vegyületek meghatározására nem megfelelő (Halvorsen et al., 2002).

A múlt század nyolcvanas éveiben Popov és Lewin (1999) kutatásai nyomán Németországban kifejlesztett PHOTOCHEM® rendszer elsőként képes az összes víz- és zsírolékony antioxidáns kapacitás, továbbá specifikusan a szuperoxid-dizmutáz enzim antioxidáns kapacitás meghatározására (Popov és Lewin, 2000). A rendszer vetélytársának a közelmúltban az USA-ban kifejlesztett ORAC-elven működő mérőműszer számít, ami szintén képes víz- és zsírolékony antioxidánsok meghatározására, de a szuperoxid-dizmutáz enzimet nem méri. A PHOTOCHEM® mérőműszer előnye, hogy a nem

enzimatisz antioxiánsok nanomolos koncentrációját is meg tudja határozni, ezzel szemben az ORAC mikromolos tartományban mér. Irodalmi adatok egybehangzóan azt igazolják, hogy napjainkban az összes antioxiáns aktivitás meghatározására a leggyorsabb, félautomata mérési módszernek az általunk tanulmányozott PHOTOCHEM® számít, melynek másik nagy előnye, hogy nagyon kis mintamennyiséggel is rendkívül pontos mérést tesz lehetővé.

Az antioxiánsok összetételét és mennyiségét a kertészeti termékekben befolyásolja az alkalmazott természetési technológia is. Gyümölcsmintákon végzett vizsgálatok igazolták, hogy egyes beltartalmi jellemzőkben (pl. szárazanyagtartalom, cukor, összesav, C-vitamin tartalom) jelentős különbségek tapasztalhatók környezetkímélő természetési rendszerekben (Wrolstad et al., 1990; Hägg et al., 1995), mely vizsgálatok eredményeit a Magyarországon folytatott hasonló kutatások is alátámasztották (Gonda et al., 2000; Glant et al., 2004). Feltehetően az összehasonlítások hasonló összefüggéseket eredményeznek az antioxiánsok összetételére ill. mennyiségére is, különböző zöldség- és gyümölcsfajokon, melyek újabban nagy jelentőséggel bírnak az ún. funkcionális élelmiszerek előállításában (Diplock et al., 1999; Himelrick, 2002; Bíró, 2003; Veres et al., 2003). A szakirodalomban az erre vonatkozó vizsgálatok egyelőre hiányosak és sokszor nehezen értelmezhetők. Jelen munkánkban hazai természetési gyümölcs- zöldségfajokkal végeztünk vizsgálatokat (meggy, pritamín- és almapaprika, sárgarépa, muskotálytök, cékla és *Brassica* sp.). A gyümölcs- és zöldségminták frakcionált, liofilezett részeiben mértük azok összes antioxiáns aktivitását. Dolgozatunkban az „összes antioxiáns aktivitás” kifejezés az angol nyelvű szakirodalomból ismert „antioxidant capacity” szókapcsolatnak felel meg.

## ANYAG ÉS MÓDSZER

### Minták előkészítése

A vizsgálatokhoz meggy- (*Prunus cerasus* L. cv. Újfehértói fűrtös, cv. Kántorjánosi, cv. Debreceni bőtermő, cv. Érdi bőtermő, cv. Csengődi), paprika- (*Capsicum annuum* L. cv. Láva, cv. Pritamín, cv.), cékla- (*Beta vulgaris* L. cv. Rubin), sárgarépa- (*Daucus carota* L. cv. Nanti), muskotálytök (*Cucurbita moschata* L. cv. Orange) fajtákat és egy *Brassica* sp.-t használtunk fel. A nyersen beérkező alapanyag levét – válogatás, mosás, tisztítás, előkészítés után – forgóhengeres asztali lékinyerővel kiperéseltük (Champion, USA), lefagyasztottuk, liofileztük (Alpha 1-4 LSC, Christ, Németország), s a vizsgálatok megkezdéséig fagyasztoában -18°C-on tároltuk. A lékinyerés során melléktermékként kapott passzirmaradványt is bevontuk kísérleteinkbe, melynek minta előkészítése megegyezett a lénél leírtakéval. A mérés megkezdése előtt a liofilezett, porított mintából 25 mg/ml koncentrációjú mintaoldatot készítettünk. A vízdoldható antioxiáns vegyületek meghatározásánál az oldatkészítéshez ionmentes vizet, a zsírdoldhatónál pedig metanolt használtunk fel. Az így előkészített mintát 10 percig

2000 U/min fordulatszámom 2-16 Sartorius (Sigma) típusú laboratóriumi centrifugán centrifugáltuk. A mérések elvégzéséhez az ily módon kapott szűrleteket használtuk fel.

### Mérési elv

A műszer a minta be- és kiadagolását, illetve a mérést és adatrögzítést számítógépprogram felügyelete mellett automatikusan végzi. A fotoérzékenyítő és detektor vegyülettel kiegészített minta a mintaadagolóba helyezett mérőcsőből először a reakciótartályba kerül. Itt UV fénnel gerjesztődik, melynek hatására a szabadgyökös reakciók mintegy 1000-szer gyorsabban lejátszódnak, mint normál körülmények között. A gerjesztés hatására a vizsgálati elegyhez külsőleg hozzáadott fotokémiai érzékenyítő komponensből szuperoxid anionok szabadulnak fel, amelyek bizonyos arányban eliminálódnak a minta antioxiáns anyagai által. A maradék szuperoxid anionok ezt követően reagálnak a mintához adott specifikus szuperoxid anion fotokémiai detektor vegyülettel, melynek következtében fotonok emittálódnak. A műszer ezt a specifikus, fotokémiai reakció által kibocsátott ún. kemilumineszcenciát méri, azaz közvetett módon a mintában lévő antioxiáns kapacitást határozza meg. A mérés végén a mérőcsövet valamint a reakciótartályt a műszer automatikusan átöblíti és előkészíti a következő minta fogadására. A rendszer sematikus ábrázolása az 1. ábrán figyelhető meg.

### Vizsgálat menete

Az általunk vizsgált gyümölcs- és zöldségféléknél a vizsgálati minta 25 mg/ml-es koncentrációjú szűrletéből közvetlenül a mérés előtt 10\*-es hígítással készítettünk mintaoldatot. Ebből a mintaoldatból 10-10 µl-t mértünk be minden egyes mérés alkalmával a mintaadagoló tartályba, melyhez még gyárilag előállított standardizált kit is került. A vízdoldható antioxiáns kapacitás meghatározásához ACW (Antioxidative Capacity of Water Soluble Compounds) kit-et, míg a zsírdoldható vizsgálatokhoz ennek ACL (Antioxidative Capacity of Lipid Soluble Compounds) változatát használtuk fel. A felhasznált kit (reakcióelegy) minden esetben fotoérzékenyítő anyagból, detektor vegyületből, s standard anyagból állt. A standard anyagok használatának következtében a rendszer lehetővé teszi a standard ekvivalens egységben való mennyiségi mérést. Ez az ACW esetben aszkorbinsavat, az ACL esetben pedig Trolox-ot jelent (Popov and Lewin, 1999).

A vizsgálatokat mindig vak- és ismert koncentrációjú standardoldatok mérésével kezdtük, majd a minták mérésével folytattuk. A mérés befejeztével – melynek időtartama egy-egy minta esetében 1-3 perc volt – a rendszer automatikusan átöblítette önmagát. A kapott eredményt a hígítási tényező, a bemért mintamennyiség, illetve a felhasznált standard anyag molekulatömegének ismeretében kaptuk meg, liofilezett minták esetében mikromol/mg, vagy mikrogramm/mg egységben, melyek minden esetben a vizsgálati minták szárazanyagtartalmára vonatkoztak.

1. ábra: PHOTOCHEM® működési diagramja

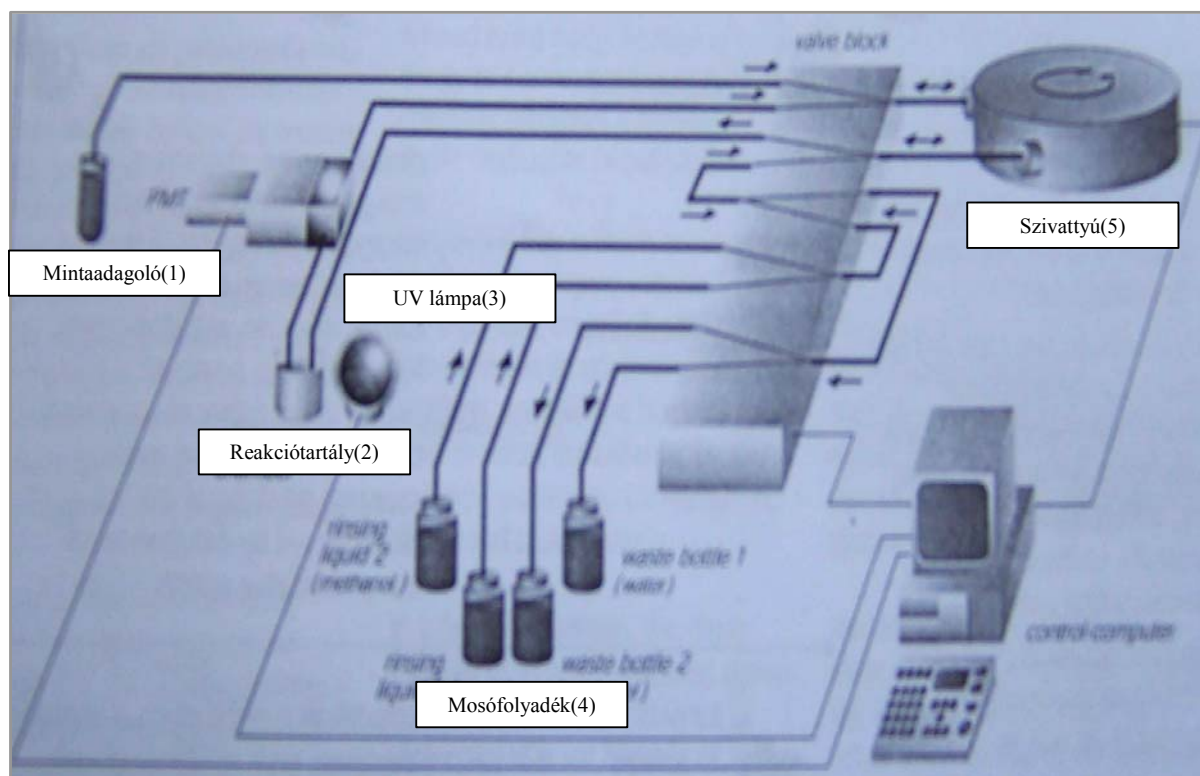


Figure 1: Functional diagram of PHOTOCHEM®  
sample(1), reaction chamber(2), UV-lamp(3), waste bottle(4), pump(5)

**EREDMÉNYEK**

A megyék elemzése során kapott értékeket az 1. táblázat szemlélteti. A számértékek mutatják, hogy a feldolgozás során melléktermékként kapott passzirmaradvány átlagosan 9,5%-kal több vízoldható antioxidáns anyagot (ACW) tartalmazott

(7,71 µg/mg), mint a préslé (7,04 µg/mg). A zsírolható antioxidánsok (ACL) meghatározásánál szintén hasonló eredmények születtek. Ebben az esetben a passzirmaradványban átlagosan 55,5%-kal mértünk több antioxidáns mennyiséget, mint a léhányadban.

1. táblázat

Meggyfajták kemiluminométerrel megállapított összes zsír- és vízoldékony antioxidáns kapacitása  
(DE ATC, 2004)

Fajták(1)	ACW (vízoldható antioxidánsok)(2)		ACL (zsírolható antioxidánsok)(3)	
	Préslé(4) (µg/mg szárazanyag)	Passzirmaradvány(5) (µg/mg szárazanyag)	Préslé(4) (µg/mg szárazanyag)	Passzirmaradvány(5) (µg/mg szárazanyag)
Kántorjánosi	7,96	12,10	10,68	18,52
Újfehértói fürtös (Pallag)	7,22	10,08	9,85	18,64
Csengődi	12,60	4,95	12,85	15,15
Debreceni bőtermő	5,27	8,25	9,95	18,61
Érdi bőtermő	3,87	5,67	9,89	14,55
Újfehértói fürtös (Újfehértó)	5,32	5,23	9,46	12,03
<b>Átlag(6)</b>	<b>7,04</b>	<b>7,71</b>	<b>10,45</b>	<b>16,25</b>

Table 1: Measurement of total antioxidant capacity in sour cherry varieties using a chemiluminometer  
Varieties (growing place)(1), Antioxidant capacity of water soluble compounds(2), Antioxidant capacity of lipid soluble compounds(3), Juice-fraction(4), Squeezed plant materials(5), Mean(6)

Érdekes eredmények születtek az Újfehértói meggyfajta esetében, melynek gyümölcsét két termőhelyen takarítottuk be egyazon időpontban. A két termőhelyen termett gyümölcsök antioxidáns kapacitásában óriási különbségeket tapasztaltunk.

Legnagyobb eltérés a passzirmaradványban mutatkozott. A vízoldható antioxidánsok mennyiségénél a Pallagról származó meggy rostfrakciója 48,1%-kal tartalmazott több antioxidáns anyagot, mint az Újfehértóról származó, a zsírolható

antioxidánsok esetében pedig 35,46%-kal több antioxidáns anyagot mértünk a Pallagról betakarított meggynél. Feltételezzük, hogy az eltérések okozója a természetstechnológiai különbözőségeknek, az eltérő talajtani, éghajlati adottságoknak köszönhető.

Az eddig elvégzett meggyvizsgálatokból arra a következtetésre jutottunk, hogy a lényeres során visszamaradt rostfrakció biológiailag értékes, antioxidásokban is gazdag alapanyag. A vizsgálatok azt is kiderítették, hogy a kutatásokba vont meggyfajták szignifikánsan több zsírolható antioxidánsot tartalmaztak, mint vízdoldhatót, s nem vetette el annak a gondolatát sem, hogy a jövőben célszerű továbbfolytatni az olyan kísérleteket, ahol különböző termőhelyről származó egyazon fajta antioxidáns kapacitását boncolgatjuk.

Irodalmi hivatkozásokból tudjuk, hogy a zöldségfélék közül külföldön a PHOTOCHEM<sup>®</sup> mérőműszert sárgarépa, brokkoli, paprika, paradicsom és vöröshagyma antioxidáns anyagainak meghatározásánál alkalmazták először (Walter, 1999). Laboratóriumi kísérleteinkbe a zöldségek közül elsőként a paprikát vontuk be, ugyanis az

említett nemzetközi vizsgálatok során legértékesebb zöldségnek a paprika tűnt. 1 mg paprikaszárazanyagban 33,78 mikrogramm ACW értéket és 41,7 ACL értéket mértek.

Az általunk vizsgált paprikák között két pritaminpaprika és egy almapaprikafajta szerepelt (2. táblázat). A minták előkészítése a már korábban leírt módon történt. A liofilezett paprikalé- és rostfrakciókat a mérések megkezdéséig szobahőmérsékleten, sötét helyen tároltuk. A kapott eredmények átlaga alapján megállapítottuk, hogy a Champion típusú forgóképes aprítóberendezéssel frakcionált paprika antioxidáns anyagai leginkább a présleiben halmozódtak fel. Ezt bizonyítja az a tény is, hogy a léfrakció átlagosan 56%-kal több ACL értékkel (Antioxidative capacity of lipid) rendelkezett, mint a visszamaradt rost. Ebben az esetben is, mint a meggy esetében azt már korábban tapasztaltuk, a zsírolható antioxidánsok domináltak.

Feltételezésünk szerint a magas zsírolható antioxidáns értékek az általunk ez idáig még nem mért, és nem ismert fenolszármazékoknak köszönhetőek.

2. táblázat

Paprikafajták kemiluminométerrel megállapított összes zsír- és vízdékony antioxidáns kapacitása (DE ATC, 2004)

Fajták(1)	ACW (vízdoldható antioxidánsok)(2)		ACL (zsírolható antioxidánsok)(3)	
	Présle(4) (µg/mg szárazanyag)	Passzírmadaradvány(5) (µg/mg szárazanyag)	Présle(4) (µg/mg szárazanyag)	Passzírmadaradvány(5) (µg/mg szárazanyag)
Pritaminpaprika (Láva)	4,31	7,43	17,66	12,17
Pritaminpaprika (Pritamin)	9,98	5,90	19,79	4,84
Almapaprika	36,81	4,07	22,38	21,33
<b>Átlag(6)</b>	<b>17,03</b>	<b>5,80</b>	<b>19,94</b>	<b>12,78</b>

Table 2: Measurement of total antioxidant capacity in sweet pepper varieties using a chemiluminometer

Varieties(1), Antioxidant capacity of water soluble compounds(2), Antioxidant capacity of lipid soluble compounds(3), Juice-fraction(4), Squeezed plant materials(5), Mean(6)

A paprika mellett vizsgáltuk a muskotálytök, cékla, sárgarépa és egy Brassica sp. liofilezett levének antioxidáns kapacitását is (3. táblázat). A vizsgált zöldségfajták esetében azt tapasztaltuk, hogy levük több zsírolható antioxidáns anyagot tartalmazott, mint vízdoldhatót. Meglepetésként ért bennünket viszont az a tény, hogy a β-karotinban

gazdag sárgarépa és muskotálytök csekély mértékben tartalmazott zsírolható antioxidáns vegyületeket (5,23 µg/mg szárazanyag és 4 µg/mg szárazanyag). Ezeket a mért értékeket 2,5\* és 2\* lépte túl a cékla ACL értéke, de legmagasabb eredményt egy Brassica sp. esetében mértünk, 94,41 µg/mg szárazanyagot.

3. táblázat

Néhány zöldségféle levének kemiluminométerrel megállapított összes antioxidáns kapacitása (DE ATC, 2004)

Zöldségfajok(1)	Zöldséglevelek antioxidáns kapacitása(2)	
	ACW (vízdoldható antioxidánsok)(3) (µg/mg szárazanyag)	ACL (zsírolható antioxidánsok)(4) (µg/mg szárazanyag)
Muskotálytök (cv. Orange)(5)	0,01	4,00
Sárgarépa (cv. Nanti)(6)	0,15	5,23
Cékla (cv. Rubin)(7)	5,75	10,40
Brassica sp.(8)	44,28	94,41

Table 3: Measurement of total antioxidant capacity in some vegetable samples

Vegetable species(1), Antioxidant capacity of vegetable juice fractions(2), Antioxidant capacity of water soluble compounds(3), Antioxidant capacity of lipid soluble compounds(4), Pumpkin(5), Carrot(6), Red beet(7), Red cabbage(8)

IRODALOM

- Bíró Gy. (2003): Funkcionális élelmiszerek, természetes antioxidánsok szerepe az egészségmegőrzésben. [www.kfki.hu/~cheminfo/osztaly/eloadas/birgyorgy.html](http://www.kfki.hu/~cheminfo/osztaly/eloadas/birgyorgy.html)
- Böhm, V.-Schlesier, K.-Bitsch, R. (1999): Gesund durch pflanzliche Phenole. Deutsche Apotheker Zeitung, 139. 2217-2219.
- Diplock, A. T.-Aggett, P. J.-Ashwell, M.-Bornet, F.-Fern, E. B.-Roberfroid, M. B. (1999): Scientific concepts of functional foods in Europe: Consensus document. British Journal of Nutrition, 81. 1. S1-S28.
- Glant, Z.-Nyéki, J.-Szabó, T.-Gonda, I.-Szabó, Z.-Holb, I.-Racskó, J.-Soltész, M. (2004): Variation in the inner nutrient content parameters of apple cultivars in genetic reserve collections. 2<sup>nd</sup> Central European Congress of Food, Budapest, Hungary, Book of Abstract, 118.
- Gonda, I.-Holb, I. J.-Bitskey, K. (2000): Rate of scab infection and quality parameters of apple fruit in organic and integrated production systems. International Journal of Horticultural Science, 6. 4. 63-67.
- Hägg, M.-Ylikoski, S.-Kumpulainen, J. (1995): Vitamin C content in fruit and berries consumed in Finland. J. Food Comp. Anal., 8. 12-20.
- Halvorsen, B. L.-Holte, K.-Myhrstad, M. C. W.-Barikmo, I.-Hvattum, E.-Remberg, S. F.-Wold, A. B.-Haffner, K.-Baugerod, H.-Andersen, L. F.-Moskaug, O.-Jacobs, D. R.-Blomhoff, R. (2002): A systematic screening of total antioxidants in dietary plants. Journal of Nutrition, 132. 3. 461-71.
- Himelrick, D. (2002): Analyzing health benefits in berries. American Fruit Grower, 3. 22.
- Popov, I.-Lewin, G. (1999): Antioxidative Homeostasis: Characterisation by means of chemiluminescent technique. Methods in enzymology Vol. 300, Oxidants and antioxidants Part B ed.: Lester Packer, Academic press, 96-100.
- Popov, I.-Lewin, G. (2000): Photosensibilisiert Chemolumineszenz bei der Quantifizierung von Antioxidantien. BIOforum, 1-2. 46-48.
- Veres, Zs.-Domokos-Szabolcsy, É.-Koroknai, J.-Dudás, L.-Holb, I.-Nyéki, J.-Fári, M. G. (2003): Hungarian fruits and vegetables of anti-oxidant activity as functional foods. (Review) International Journal of Horticultural Science, 9. 3-4. 14-22.
- Walter, S. (1999): Antioxidative Eigenschaften von Gemüse. Evaluierung unterschiedlicher Messmethoden. Diplomarbeit, TU München
- Wrolstad, R. E.-Skrede, G.-Lea, P.-Enersen, G. (1990): Influence of sugar on anthocyanin pigment stability in frozen strawberries. J. Food Sci., 55. 4. 1064-1065, 1072.