

ESZTERHÁZY KÁROLY FŐISKOLA

Élelmiszertudományi Intézet



Természetes antioxidánsok vizsgálata és alkalmazási lehetőségeinek feltárása

Lilaburgonya színanyag tartalmának vizsgálata

TDK DOLGOZAT

Témavezető:

Dr. Forgó Péter
Főiskolai docens

Készítette:

Molnár Klaudia
Kémia Bsc szakos
hallgató

Eger, 2014.

TARTALOMJEGYZÉK

1. BEVEZETÉS.....	3
2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS.....	4
2.1. BURGONYA	4
2.2. LILABURGONYA.....	5
2.3. FENOLOS VEGYÜLETEK.....	6
2.3.1. Flavonoidok.....	6
2.3.2. Flavonoidok.....	7
2.3.3. Fenolos savak	8
2.3.4. Antocianinok	8
3. ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK.....	14
3.1. VIZSGÁLT MINTÁK.....	14
3.2. MINTÁK FELDOLGOZÁSA, EXTRAKCIÓSPARAMÉTEREK.....	14
3.3. VIZSGÁLATI MÓDSZEREK	15
3.3.1. Antioxidáns kapacitás meghatározása DPPH módszerrel	15
3.3.2. Összes polifenol tartalom meghatározása Folin-Ciocalteu reagenssel.....	15
3.3.3. Antocianin és fenolos sav tartalmának vizsgálata HPLC módszerekkel.....	16
4. EREDMÉNYEK.....	18
4.1. KIVONATOLÁS OPTIMALIZÁLÁSA.....	18
4.2. SZÁRAZANYAGTARTALOM MEGHATÁROZÁSA.....	18
4.3. ANTIOXIDÁNS KAPACITÁS MEGHATÁROZÁSA DPPH MÓDSZERREL.....	19
4.4. ÖSSZES POLIFENOL TARTALOM MEGHATÁROZÁSA FOLIN-CIOCALTEU REAGENSSEL.....	22
4.5. HPLC EREDMÉNYEK.....	24
5. ÖSSZEFOGLALÁS	28
6. IRODALOMJEGYZÉK.....	29
7. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS	31

1. BEVEZETÉS

A burgonya fontos népelelmezési cikk, jelentős takarmány és ipari növény. Jelenleg a negyedik legfontosabb termesztett növény világszerte a kukorica, búza és a rizs után, a termelés több mint 323 millió tonna. Az egy főre jutó burgonyafogyasztás a legmagasabb Európában, ahol ez meghaladja a 80 kg-ot, míg frissebb statisztikai adatok (KSH) alapján, Magyarországon 63,5 kg.

Vizsgálataink során magyarországi termőhelyről származó lilaburgonya mintákat elemeztünk. A következő célokat tűztük ki, először is a lila burgonya színanyag tartalmának a kivonatolásának optimalizálását, mivel előzetes külföldi szakirodalmakat tanulmányozva a lila burgonya színanyagai, az antocianinok különböző fizikai és kémiai behatásokra rendkívül érzékeny vegyületek. A következőkben az így kapott extraktumok antioxidáns kapacitását vizsgáltuk elektronátmeneten alapuló DPPH módszerrel, illetve az összes polifenol tartalmát Folin-Ciocalteu reagenssel tanulmányoztuk. Végül a mintáink antocianin és fenolos sav tartalmának minőségi vizsgálatát végeztük el HPLC módszerek alkalmazásával.

2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS

2.1. Burgonya

Rendszertani besorolása A burgonya a Burgonyafélék (*Solanaceae*) családjába tartozó gumós zöldség. A Csucsor (*Solanum*) nemzetséghez több mint 2000 faj tartozik, közülük nyolc fajt használnak termesztésre, amelyek nem mások, mint: *Solanum Stenotomum* (úgy vélik, hogy ez a legrégebbi az összes termesztett faj közül), *Solanum phureja*, *Solanum ajanhuiri*, *Solanum goniocalyx*, *Solanum chaucha*, *Solanum juzepczukii*, *Solanum curtilobum* és *Solanum tuberosum*, amelynek két alfaja ismeretes:

Burgonya (<i>Solanum tuberosum</i>)	
Ország	Növények (<i>Plantae</i>)
Törzs	Zárvatermők (<i>Magnoliophyta</i>)
Osztály	Kétszikűek (<i>Magnoliopsida</i>)
Rend	Burgonyavirágúak (<i>Solanales</i>)
Család	Burgonyafélék (<i>Solanaceae</i>)
Nemzetség	Csucsor (<i>Solanum</i>)
Faj	Burgonya (<i>Solanum tuberosum</i>)

1. ábra A burgonya rendszertani besorolása

az andigenum (főleg az Andokban termesztik a rövid nappalos volta miatt), és a tuberosum (a legtöbb helyen, a világon ezt termesztik, úgy vélik, hogy ez a hosszabb nappalos alfaj leszármazottja az andigenum burgonyának) (Lisinska and Leszczynski, 1989).

Származása Dél-Amerika hegyvidékéről (Peru, Chile, Bolívia) származik. Európában a spanyol felfedezők által a 16. században, míg hazánkba a 17. században került. Kezdetben dísnövény volt, és csak később terjedt el általánosan, mint élelmiszernövény. Ebben közrejátszott a 17. század végi és 18. század eleji gyenge gabonatermés is (Turcsányi T., 1998).

Felépítése A burgonyabokor átlagosan 30-80 cm magas, de ritkán akár 2 m magasra is megnőhet (Lisinska and Leszczynski, 1989). A föld felett nőnek a hajtások és levelek, a földbeli hajtásai tarackokból és gumókból állnak. A tarackok csúcsának a megvastagodásaiból alakulnak ki a keményítőben gazdag ehető gumók (Turcsányi T., 1998). Levelei páratlanul szárnyaltak, kétivarú virágai bogernyőben állóak, fehér, halványlila, kékes vörös színben pompáznak (Hortobágyi T., 1979).

Tápanyagtartalma A burgonyagumó víztartalma meglehetősen nagy, a legnagyobb tápértékkel rendelkező komponense a szénhidrát, azon belül is a keményítő. Majdnem minden vitamin megtalálható benne a D-vitamin kivételével, táplálkozás szempontjából fontos a kálium és vastartalma is (Turcsányi, 1998).

Burgonya tápanyagtartalma 100g-ban	
Energia	87 kcal
Víz	77g
Szénhidrát	20,13 g
Fehérje	1,87 g
Zsír	0,1 g
Rost	1,8 g
C-vitamin	13,0 mg
Kalcium	5 mg
Kálium	379 mg
Foszfor	44 mg
Vas	0,31 mg
Niacin	1,44 mg
Tiamin	0,11 mg
Riboflavin	0,02 mg

2. ábra Hámzatlan főtt burgonya tápanyagtartalma 100g-ban (International Year of the Potato. 2008, United States Department of Agriculture, National Nutrient Database)

2.2. Lilaburgonya

Az őshonos Andok burgonya gumók rendkívüli változatosságot mutatnak a gumó alakja, a hús és a bőr színének, állagának és ízének szempontjából. Ezen genetikai sokféleségeken kívül jelentős változékonyságot mutat tápanyagtartalmuk is.

Az Andok régióban a bennszülöttek a burgonyát nem csak táplálékként, hanem a gyógyszerként is használták. A fejfájást a halántékra helyezett burgonya szeletekkel nyugtatták meg, a rovarcsípésre is nyers burgonya szeletet tettek és gyomorfekélyre nyers burgonya levét itták. Ezen népi gyógymódok a fitokemikáliák jelenlétének tudhatók be, elsősorban a polifenoloknak és antocianinoknak. Mivel az első burgonyagumók a magas hozamú, könnyen hámló, és ízletes fajták voltak, így az eredeti pigmentált fajták háttérbe szorultak. A különböző tudományos csoportok erőfeszítésének köszönhetően számos gyűjtő

expedíciót Közép-és Dél-Amerikába vezettek, és számos burgonyagyűjteményt létrehoztak, mint például a Nemzetközi Burgonya Központot (CIP Limában, Peru) és a holland-német Burgonyagyűjteményt (CGN Wageningen, Hollandia) többek között (Graves C. 2011.)

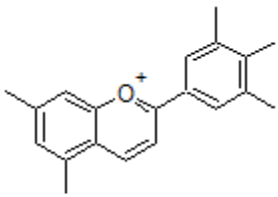
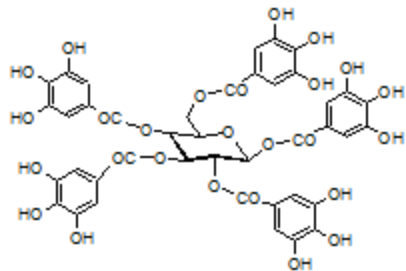
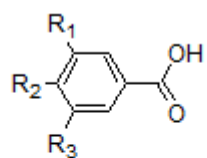
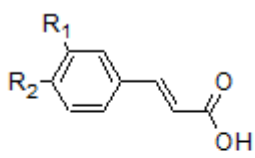
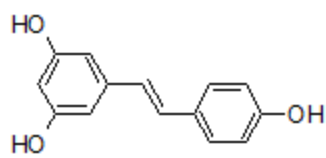
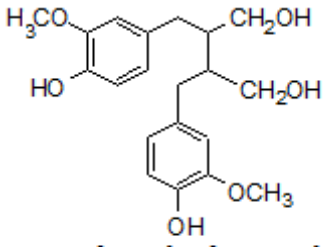
2.3. Fenolos vegyületek

A fenolos vegyületek másodlagos növényi anyagcseretermékek. Aromás gyűrűvel rendelkező vegyületek, amelyek egy vagy több hidroxil csoportot tartalmazhatnak, felépítésük az egy egyszerű fenolos molekulától kezdve a komplex nagy molekulatömegű polimerekig terjedhet. Már több mint 8000 polifenolt azonosítottak, ám ez a szám folyamatosan növekszik, ezért is fontos a polifenolok csoportosítása. A polifenolok főbb csoportjai a következők: a flavonoidok, fenolos savak, tanninok, sztilbének és a lignánok.

Számos bioaktív tulajdonsággal rendelkeznek, fontos szerepet játszanak a növény életfolyamataiban, mint a növekedésében és a reprodukcióban, hatékony védelmet nyújtanak a kórokozók ellen. Amellett, hogy hozzájárulnak a gyümölcsök és zöldségek szín és érzékszervi jellemzőinek kialakításában, élettani hatásait tekintve megelőző tulajdonságokkal bír, mint például az érelmeszesedés, az agyi diszfunkció és a rák ellen. Ipari alkalmazásai is ismertek, természetes színezékként és tartósítószerként az élelmiszeriparban, felhasználják még a festék-, papír-, és a kozmetikai iparban is (I. Igna és mtsai, 2011.)

2.3.1. Flavonoidok

A flavonoidok olyan kis molekulatömegű többségében vízzoldható növényi színanyagok, melyeknek szerkezete flavánból származik. A flaván tizenöt szénatomos, C6-C3-C6 típusú vegyület. Két aromás gyűrűből -A, B -áll, melyet egy 3-szénatomos híd köt össze, heterociklusos gyűrűt (pirángyűrűt) kialakítva. Az alapváz rendkívüli változatosságot biztosít, ez idáig több mint 4000 különböző fajta flavonoidot állapítottak meg. A flavonoidokat a pirángyűrű oxidációs szintje szerint lehet tovább csoportosítani, melyek: az antocianinok, flavonok, izoflavonoidok, flavanonok, flavonolok és a flavanolok. A felsorolt aglikonok a magasabb rendű növények széles körében elterjedtek, rendszerint cukorhoz kötve találhatók (I. Igna és mtsai, 2011.).

 Flavonidok	 Gallotannin
 Hidroxi-benzoésav $R_1=R_2=R_3=OH$ Galluszsav $R_1=R_2=OH, R_3=H$ Protokatekinsav	 Hidroxi-fahéjsav $R_1=OH$ Kumársav $R_1=R_2=OH$ Kávésav $R_1=OCH_3, R_2=$ Ferulasav
 Rezveratrol Sztilbének	 Szekoizolarikirezinol Lignánok

3. ábra Polifenolok főbb csoportjai, képviselői (I. Igna és mtsai, 2011.)

2.3.2. Flavonoidok

A flavonoidok olyan kis molekulatömegű többségében vízoldható növényi színanyagok, melyeknek szerkezete flavánból származik. A flaván tizenöt szénatomos, C6-C3-C6 típusú vegyület. Két aromás gyűrűből -A, B –áll, melyet egy 3-szénatomos híd köt össze, heterociklusos gyűrűt (pirángyűrűt) kialakítva. Az alapváz rendkívüli változatosságot biztosít, ez idáig több mint 4000 különböző fajta flavonoidot állapítottak meg. A flavonoidokat a pirángyűrű oxidációs szintje szerint lehet tovább csoportosítani, melyek: az antocianinok, flavonok, izoflavonoidok, flavanonok, flavonolok és a flavanolok. A felsorolt aglikonok a magasabb rendű növények széles körében elterjedtek, rendszerint cukorhoz kötve találhatók. (I. Igna, I.Volf, V. I. Popa, 2011.)

2.3.3. Fenolos savak

Fenolos savak az étrendünkben előforduló fenolok, mintegy egyharmadát alkotják. A növényekben szabad és kötött formákban egyaránt jelen lehetnek. A fenolos savak két alcsoportját a hidrox- és a hidrox-fahéjsavak alkotják. A hidrox- benzoesavak közé a gallusz-, a p-hidrox-benzoe-, a protokatechu-, a vanilin- és a sziringinsavak tartoznak, melyekben közös a C1-C6-struktúra. A hidrox-fahéjsavak a C6-C3 szerkezettel bíró aromás vegyületek, a kávé-, ferula-, p-kumár- és mustársavak.

A növényekben leggyakrabban előforduló savak a hidrox-fahéjsav származékok közül: a kávésav, p-kumársav és a ferulasav, ezeknek is a kinasav és glükóz észterei. A legismertebb hidrox-fahéjsav származék talán a kávésav és kinasav észtere a klorogénsav. Míg a leggyakoribb hidrox-benzo-sav származékok a p-hidrox-benzo-sav, a protokatechu-, és vanilinsavak elsősorban cukorhoz kötve, mint glikozidok találhatók. A növényekben a fenolos savak különböző koncentrációkban fordulnak elő, mindegyik növényi minta egyedi, különböző fenolos savak és ezek származékai más fenolos komponensekkel kombinálva fordulnak elő (I. Trandafir, 2012.)

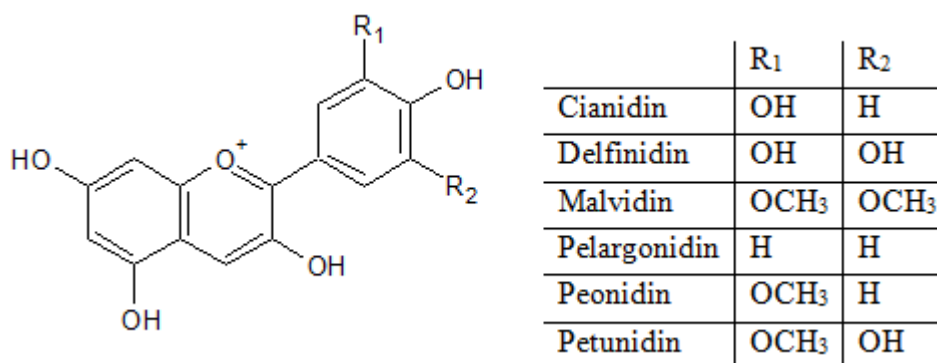
2.3.4. Antocianinok

Az antocianinok a flavonoid=nem fotoszintetikus pigmentek csoportjába tartozó a növények vörös, ibolya, kék színét okozó növényi színyanyagok. A növények leveleiben, száraiban, gyökereiben, virágaiban és terméseiben egyaránt fellelhető másodlagos metabolitok. A flavonoidokra jellemzően számottevően a sejtvakuumában, de a kloroplasztisban is előfordulhat (Gombkötő- Sajgó, 1985). Erőteljes fényabszorpciójuk a közeli ultraibolya tartományba a klorofilok és karotinoidok tartományán kívül esik. Az UV sugárzás és sóstressz ellen jól védenek, továbbá fontos a rovarmegporzás segítségével. Fiatal növényekben hirtelen környezeti, valamint kedvezőtlen változások hatására is termelődhetnek. Ilyenkor a növény szintézissel szénhidrát-tartalékot halmoz fel, illetve színyanyagképzéssel növeli a fényenergia elnyelését. Azonban az antocianidinek bioszintézise akkor kezdődik, mikor a klorofilok és a karotinoidok már csaknem teljesen lebomlottak.

Elnevezése

Az elnevezés a görög anthos=virág és kyanos=kék szavak összekapcsolásával Marquant (1835) botanikustól származik, aki a Kék csatavirágot, tudományos nevén: *Polemonium coeruleum* L. növényt nevezte antociánnak. A nevet később a növényekben előforduló valamennyi hasonló típusú színanyagokra kiterjesztették. Végül a színanyagok kémiai szerkezetének vizsgálata során felismerték, hogy ezek a vegyületek cukor és nem cukor részből állnak, emiatt az elnevezést továbbfejlesztették, a cukortartalom jelölése végett az eredeti antocián szóhoz, 'in' végződést illesztettek és így alakult ki a ma használatos antocianin elnevezés (Gombkötő- Sajgó, 1985).

Felépítése



4. ábra A növényekben leggyakrabban előforduló antocianidinek szerkezete

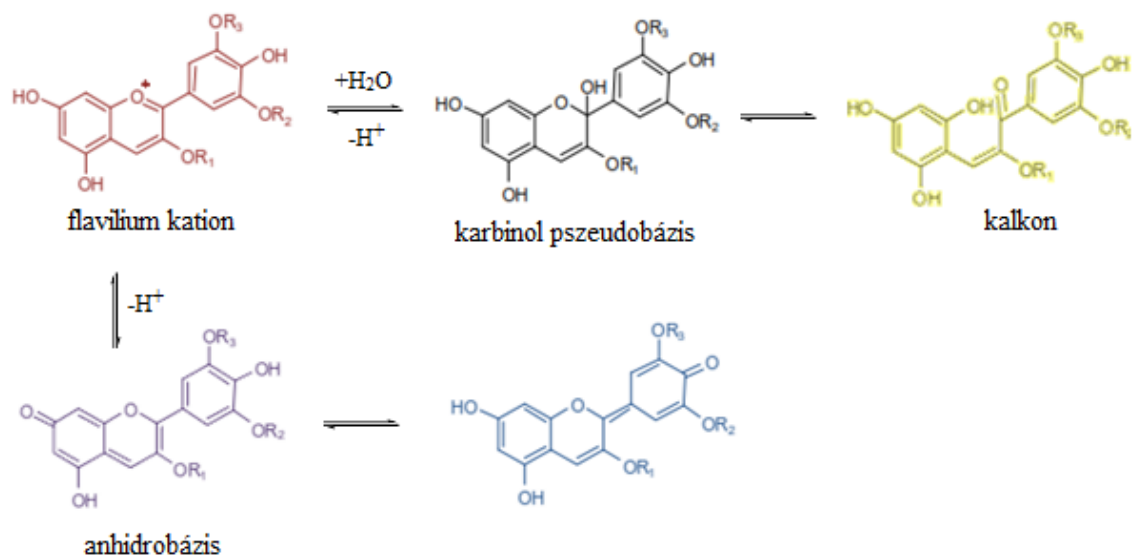
Oxigén tartalmú heterociklusos vegyületek, 2-fenil-benzopirillium- más néven flavilium kationok. Felépítésükben a hidroxil-, metiloxi- és glikozid- csoportok száma és azok flavan alapvázhoz való kapcsolódási helyükben térnek el. A glikozidokban a cukrok leggyakrabban a glükóz, de a ramnóz, arabinóz, xilóz és galaktóz is az alapváz A gyűrűjének 3, 5, 7 helyeihez kapcsolódnak. Attól függően, hogy egy vagy két cukormolekulát tartalmaznak, megkülönböztethetünk mono- és diglikozidokat illetve több cukormolekula kapcsolódása esetén oligozidokat (Gombkötő- Sajgó, 1985).

Az aglikonok, avagy antocianidinek vízben oldhatatlanok, de cukorrészhez kötődve jól oldódnak vízben, illetve az aglikon bomlását részben megakadályozva, kémiaiailag stabilabbak (Gombkötő- Sajgó, 1985)

Stabilitása

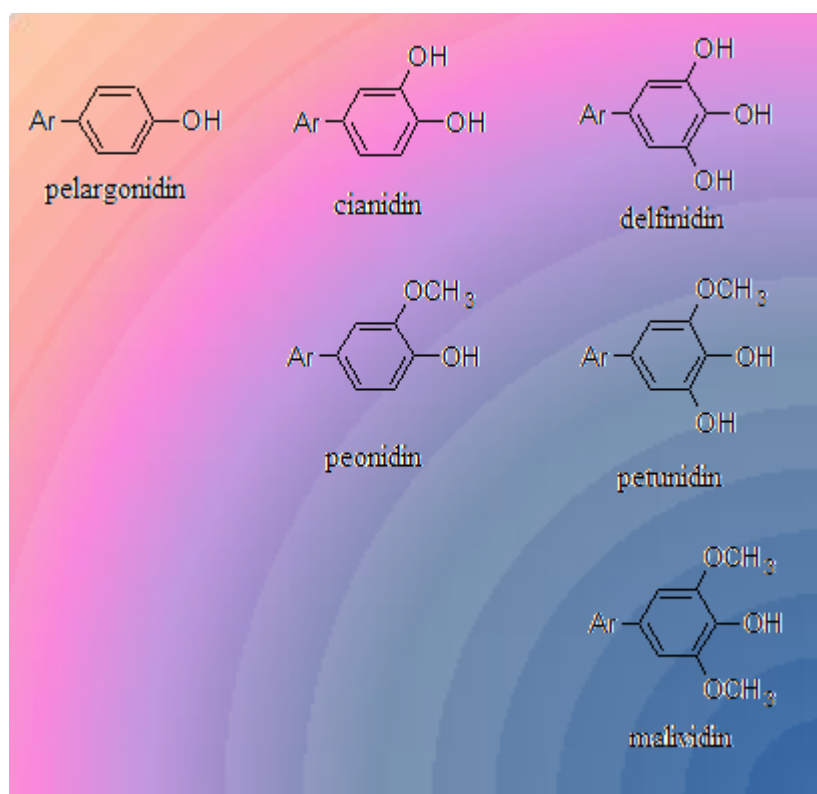
Az izolált antocianidinek rendkívül instabil és érzékeny vegyületek. A stabilitást számos tényező befolyásolhatja, mint például a pH, a tárolási hőmérséklet, kémiai szerkezet, koncentráció, fény (UV), oxigén, oldószerek, enzimek jelenléte, flavonoidok, fehérjék és fémes ionok (A. Castañeda-Ovando és mtsai, 2009.)

Az antocianinok a növényekben különböző kémiai formákban vannak jelen. Az antocianinok szerkezete és színe is a pH-tól függően változhat. pH = 1 esetén a flavilium kation (vörös szín) az uralkodó, ez a forma járul hozzá a növényekben található lila és piros színhez egyaránt. A pH 2 és 4 között, a kinoidális kék forma dominál. A pH 5 és 6 között csak két színtelen forma figyelhető meg, a karbinol pszeudobázis és egy kalkon. A pH 7-nél nagyobb értékeknél, az antocianinok bomlásnak indulnak a szubsztituens csoportoktól függően. A pH 4 és 6 között az antocianin négy szerkezeti formája van jelen egymás mellett: a flavilium kation, a vízmentes kinoidális forma, a színtelen karbinol bázis és a halványsárga kalkon. A kinoidális bázisok és a flavilium kationok közötti egyensúly a karbinolon keresztül megy végbe. Amikor a pH-érték nő, a vízmentes bázis mennyisége növekszik, míg savas körülmények mellett több a piros flavilium kation forma. Az antocianidinek stabilitását a B gyűrű szubsztituensei és a további hidroxil-, illetve metoxicsoportok befolyásolják, ami csökkenti a aglikon stabilitását semleges közegben; ezért a pelargonidin a legstabilabb antocianidin. Ezzel ellentétben az aglikon monoglikozid és diglikozid származékai stabilabbak semleges pH körülmény mellett. Ez azzal magyarázható, hogy a cukormolekulák nem lépnek reakcióba a bomlást előidéző instabil fenolos sav- és aldehid vegyületekkel. Az antocianinok stabilitása és színváltozata a lúgos közegben a leginstabilabb, míg savas pH mellett a legstabilabb. (A. Castañeda-Ovando és mtsai, 2009.)



5. ábra Antocianin szerkezeti formái a pH változás függvényében (A. Castañeda-Ovando és mtsai, 2009.)

A szín egy adott pH-tartományon belül is változhat a B gyűrűn lévő csoportok mennyiségétől és helyzetétől függően. A hidroxilcsoportok számának növekedésével a kék, míg a metoxycsoportok esetén a piros szín irányába tolódik el. A színt befolyásolja még a glikozidáció mértéke is, monoglikozidok pirosabb árnyalatúak a diglikozidnál. (Gombkötő-Sajgó, 1984).



6. ábra Antocianinok színárnyalatának alakulása a B-gyűrű funkciós csoportjainak változása szerint (Gombkötő-Sajgó, 1985 nyomán)

A legújabb vizsgálatok kimutatták, hogy különböző jellegű oldószerek esetén más-más színnel vannak jelen a szintetikus flavilium sók, függ az oldószer és a flavilium sók koncentrációjától. A protikus oldószerek esetén piros színű, míg az aprotikus oldószerek esetén sárga színnel vannak jelen. Ez a tény is azzal magyarázható, hogy a piros és a sárga színért a monomer és dimer antocianinok szerkezete felel, ezért amikor a flavilium sók koncentrációja nő, pirossá válik az oldat színe.

Egyes vizsgálatok arra utalnak, hogy az antocianinok más vegyületekkel történő társ pigmentációja a növények szín stabilizálásának a fő mechanizmusa. Az élelmiszer tudomány területén ezt a jelenséget nagyon fontosnak tartják, mert a szín az egyik legfontosabb minőségi tényező, kulcsfontosságú egy termék elfogadtatásában. A kopigmentáció egy olyan jelenség, amelynek során a pigmentek és más szintelen szerves vegyületek vagy fémek ionok/molekulák összetett molekulákat képeznek, és ennek eredményekképpen változik a vegyület színe vagy növekszik az intenzitása. A kopigmentáció során a π -elektron gazdag rendszerek a meglehetősen elektron szegény flavilium ionokkal kapcsolódnak. Kopigmentek lehetnek flavonoidok, alkaloidok, aminosavak, szerves savak, nukleotidok, poliszacharidok, fémek vagy másik antocianin vegyület. Az antocianin-kopigment kölcsönhatás 5 félé lehet, a kopigment fajtától függően. Ha a kopigment egy másik antocianin, önasszociáció vagy intramolekuláris kölcsönhatás alakulhat ki. Szabad elektrópárral rendelkező kopigmenttel intermolekuláris kölcsönhatásba lép. Másik fenolos komponenssel donor-akceptor komplexet képez. Fémionokkal való kölcsönhatása során kelátokat képeznek. Annak ellenére, hogy alacsony az érdeklődés az élelmiszeriparban az antocianin-fém komplexekre, ez lehet az életképes alternatíva a szín stabilizációjában. (A. Castañeda-Ovando és mtsai, 2009.)

Spektrális tulajdonságai

Az antocianinok spektrális tulajdonságai a kémiai szerkezetére enged következtetni. Az UV tartományban 275 nm, míg savanyú közegben 465-550 nm között van az abszorpciós maximumuk. A kapcsolódó cukor kapcsolódási helyétől függően hipszokróm hatást fejt ki a spektrumra, de minősége nem befolyásolja az abszorpciós maximum helyét. Az orto-difénolcsoportot tartalmazó antocianidinhez kapcsolódó alumíniumion viszont batokróm hatást fejt ki. A komplex antocianinekben pedig az acelizó sav két maximumot alakít ki az UV spektrumban (Gombkötő- Sajgó, 1985).

Élettani hatásai

Az antocianinok ismertén különböző farmakológiai tulajdonságokkal rendelkeznek és terápiás célra is használják. Az antocianinok bizonyítottan képesek megvédeni az emberi szervezetet számtalan betegség, mint például a máj diszfunkció, a magas vérnyomás, látászavarok, mikrobiális fertőzések és a hasmenés ellen. Az antioxidáns és gyulladásgátló hatása által csökkenti a szív-és érrendszeri betegségek, a cukorbetegség, az ízületi gyulladás és rák kockázatát, legalábbis részben. Egyes gyümölcsök és zöldségek antocianinban gazdag kivonatai in vitro gátolják a rákos sejtek osztódását úgy, hogy blokkolják a rákos sejtek sejtciklusának különböző szakaszaiban ható szabályozó fehérjéket. Érdekes még, hogy több vizsgálat tanulmányozta az antocianinok antiproliferatív hatását normál és rákos sejtekkel szemben, és megállapították, hogy szelektíven csak a rákos sejteket gátolják, míg viszonylag kevés vagy semmilyen hatással sincs a normál sejtek növekedésére (P. Bontempo és mtsai. 2013.)

3. ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK

3.1. Vizsgált minták

Minták származása: A minták 2013.02.27.-én érkeztek be az EKF EGERFOOD Regionális Tudásközpontjába a Lilaburgonya Kft. által.

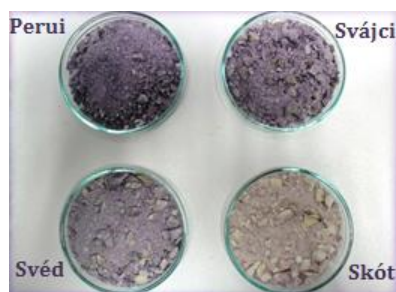
Vizsgált minták: perui, skótföldi vörös, svájci és a svéd fajták egy-egy tétele.



7. ábra A vizsgált lilaburgonyafajták

3.2. Minták feldolgozása, extrakciós paraméterek

A burgonyákat meghámoztuk, feldaraboltuk, majd liofilizáltuk, száraz tömegüket visszamértük a nedvességtartalom meghatározásához. A liofilizálás alkalmazásával tovább elkerülhetők a friss gumókat jellemzően érintő barnulási folyamatok, így lehetővé téve, hogy akár több hónappal a mintavétel után is elemezhetőek legyenek.



8. ábra A minták liofilizálás után

Ezután a színyanyagok extrakciós lépése következett az élelmiszeriparban engedélyezett oldószerekkel illetve egyes oldószerek esetén azok savanyított víz-oldószer elegyeivel.

Kivonatolásához használt oldószerek: éter, hexán, etil-acetát, savanyított víz (0,01% HCl), savanyított acetón-víz elegy (70:30, 0,01% HCl), savanyított etanol-víz elegy (70:30, 0,01% HCl).

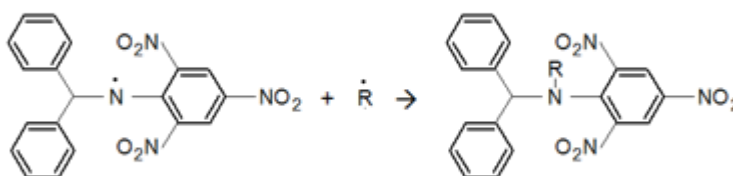
0,5g mintát 5ml oldószerrel extraháltunk 3 fokozatban, szobahőfokon, ultrahanggal. A kivonás lépései: keverés vortexszel, fokozatonként 15 perc hűtött ultrahangos fürdő, 5 perc centrifugálás (4°C; 4000rpm); kivonatolás után a végtérfogatot feltöltöttük 15 ml-re.

3.3. Vizsgálati módszerek

A vizsgálataink során a szárazanyag tartalom meghatározását; a fenti oldószerekkel készült kivonatokon az általános gyökfogó képesség DPPH módszerrel történő mérését; a Folin-Ciocalteu-módszerrel történő összes polifenol tartalom meghatározását és az antocianin és fénolos sav tartalmának HPLC módszerekkel történő vizsgálatát végeztük el.

3.3.1. Antioxidáns kapacitás meghatározása DPPH módszerrel

500 µl extrahált mintához 2,5 ml DPPH reagenst (78 mg/l etanolos DPPH oldat) adunk. Reakciókörülmények: reakcióidő 30 perc, hőfok 4°C. A reakcióidő lejártával 517nm-en fotometráltuk etanollal szemben. Az eredményt mg aszkorbinsav egyenértékben adtuk meg 1 kg nyers burgonyára (nyers mg/kg AAE).



9. ábra DPPH gyök reakciója a szabadgyökökkel

A módszer a szobahőmérsékleten stabil DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) szabadgyök megkötésén alapul. A szabadgyök etanolos lila színű oldata antioxidánsokkal reagálva elszíntelenedik.

3.3.2. Összes polifenol tartalom meghatározása Folin-Ciocalteu reagenssel

Waterhouse protokollja (2002) alapján, 100 µl extrahált mintához 7,9 cm³ desztillált vizet és 500 µl 2 N Folin-Ciocalteu reagenst, majd 5 perc múlva 1,5 cm³ telített nátrium-karbonát oldatot adtunk. 2 órás, szobahőmérsékletű reakció után 765 nm-en fotometráltunk. Az eredményt mg galluszsav egyenértékben adtuk meg 1 kg nyers (nedves) burgonyára (nyers mg/kg GAE) nézve.

3.3.3. Antocianin és fenolos sav tartalmának vizsgálata HPLC módszerekkel

Először UV spektrofotométerrel felvettük a teljes spektrumot és segítségével meghatároztuk az abszorbancia maximumát, majd HPLC-DAD módszerrel kiválasztottuk a megfelelő módszert a HPLC-MS/MS-sel történő szerkezet meghatározáshoz. Így mindkét módszer esetén a kromatográfiás körülmények megegyeznek.

3.3.3.1. HPLC-DAD módszer

A minta előkészítést a következőképp végeztük el: 0,5g mintát 5ml savanyított etanollal (0,01% sósav) extraháltunk 3 fokozatban, szobahőfokon, ultrahanggal. Vortexszel kevertettük, fokozatonként 15 perc hűtött ultrahangos fürdőbe helyeztük, majd 5 percig centrifugáltuk (4°C; 4000rpm). A kivonatolás után a végtérfogatot feltöltöttük 15 ml-re. Majd 0,22 µm-es membránszűrővel szűrtük. Az így kapott szűrlet 1,5 ml-réhez 1 ml etanolt adtunk és ezt használtuk a vizsgálathoz.

Az elválasztás gradiens elúcióval valósult meg a következő kromatográfiás feltételek mellett:

Kolonna: Agilent Eclipse XDB C18 (150*4,6mm 5µm)
Eluens: pH=2,6 hangyasav(A) és acetonitril (B)
Gradiens elúció: tmin/(B%): 0(5)-8(22)-12(26)-25(35)-30(5)-35(5)
Áramlási sebesség: 0,4ml/min
Injektált mennyiség: 10µl
Detektor: DAD (D2/W), 190-800 nm

3.3.3.2. HPLC-MS/MS módszer

A minta előkészítést a következőképp végeztük el: 0,5g mintát 5ml savanyított etanollal (0,01% hangyasav) extraháltunk 3 fokozatban, szobahőfokon, ultrahanggal. Vortexszel kevertettük, fokozatonként 15 perc hűtött ultrahangos fürdőbe helyeztük, majd 5 percig centrifugáltuk (4°C; 4000rpm). A kivonatolás után a végtérfogatot feltöltöttük 15 ml-re. Majd 0,22 µm-es membránszűrővel szűrtük. Az így kapott szűrlet 1,5 ml-réhez 1 ml etanolt adtunk és ezt használtuk a vizsgálathoz.

Az előzőekben meghatározott kromatográfiás módszer megfelelőnek ígérkezett a további vizsgálatokhoz, továbbá vizsgáltuk a mintákat közvetlen injektálással is. A detektálás ESI illetve APCI módban is zajlott.

4. EREDMÉNYEK

4.1. Kivonatolás optimalizálása

Éterrel, hexánnal, etil-acetáttal való extrakció során a minta csekély mértékben oldódott. Az eredmények kimutatási határérték alattiak. A kivonatok romlékonyak, hamar be barnulnak. Savanyított vízzel (0,01% HCl) való a háromlépéses extrakció során a minta nagyon jól oldódott, de már a második kivonatolás végére teljesen be barnult. Savanyított aceton-víz eleggyel (70:30, 0,01% HCl) való extrakció során a minta nagyon jól oldódott. Hamar be barnult. Savanyított etanol-víz elegy (70:30, 0,01% HCl) esetén is nagyon jól oldódott a minta. A minta hosszú távon nem eltartható. Savanyított etanol-víz elegy(70:30, 0,01% HCOOH) esetén nagyon jól oldódott a minta. A minta továbbra sem eltartható. Összességében elmondható, hogy a kivonatok nagyon romlékonyak, érzékenyek mindenféle külső ingerre.

4.2. Szárazanyag tartalom meghatározása

A mintákat megmértük liofilizálás előtt és után is, majd ebből kiszámoltuk a szárazanyagtartalmat. A szárazanyag tartalom a mintáink esetében 17-27%(m/m) között alakultak. A sárga és fehérhúsú burgonyák irodalomban közölt nedvességtartalmától számottevően nem tér el. Így megállapíthatjuk, hogy mint az átlagos burgonyafélékhez hasonlóan magas nedvességtartalommal bír.

Fajta	Liofilizálás előtt (g)	Liofilizálás után (g)	Nedvességtartalom (g)	Nedvességtartalom %(m/m)	Szárazanyag- tartalom %(m/m)
Perui	136,89	37,89	99	72,32	27,68
Svéd	537,45	94,76	442,69	82,37	17,63
Svájci	385,3	67,73	317,57	82,42	17,58
Skót	465,99	104,86	361,13	77,50	22,5

10. ábra Lilaburgonya szárazanyagtartalmának meghatározása

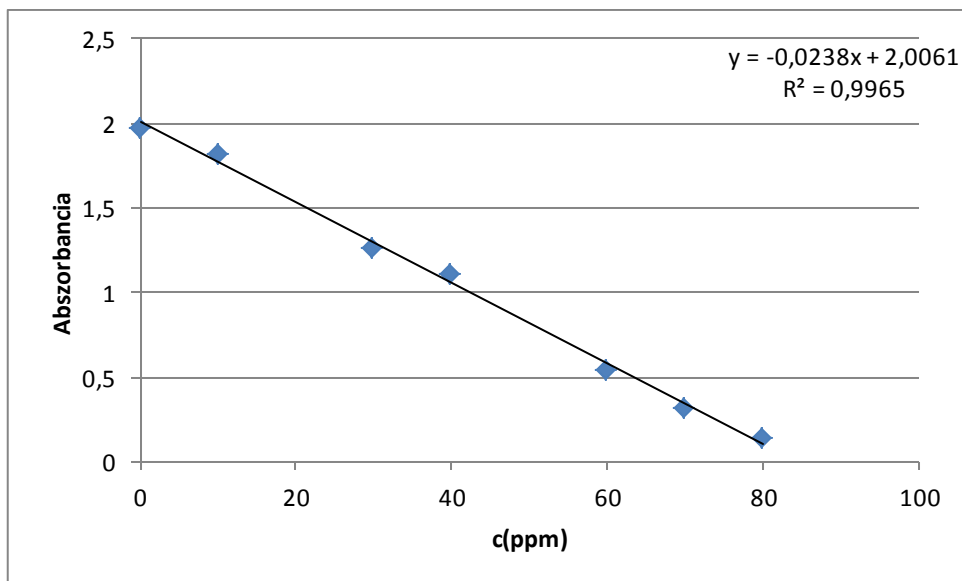
4.3. Antioxidáns kapacitás meghatározása DPPH módszerrel

Érdemes megjegyezni, hogy a különböző nyelvterületeken különböző néven ismerik a vizsgált lilaburgonya fajtákat. Ezért fontos, hogy irodalmat keresve a különböző elnevezéseknek nem szabad bennünket megtéveszteniük. A perui lilaburgonya fajtát angol nyelvterületen a 'Purple Peruvian' és a 'Blue Peruvian' néven ismerik, míg francia és német nyelvterületeken leginkább a 'Vitelotte' fajtanév használata terjedt el, mindezen nevek ugyanezt a kedvelt régi fajtát takarják. A skót-felföldi vörös önálló fajtaként 'Highland Burgundy Red' néven 1936-ban került be az angol nemzeti fajtagyűjteménybe. Svájci kék fajtát a nemesítője, a svájci agrármérnök Christoph Gämperli 'Blaue St. Galler' néven jegyeztette be 2007-ben. A svéd kék fajta Skandináviában Bla Kongo, az angol nyelvterületeken Blue Congo, míg német nyelvterületen Blaue Schweden néven ismeretes.

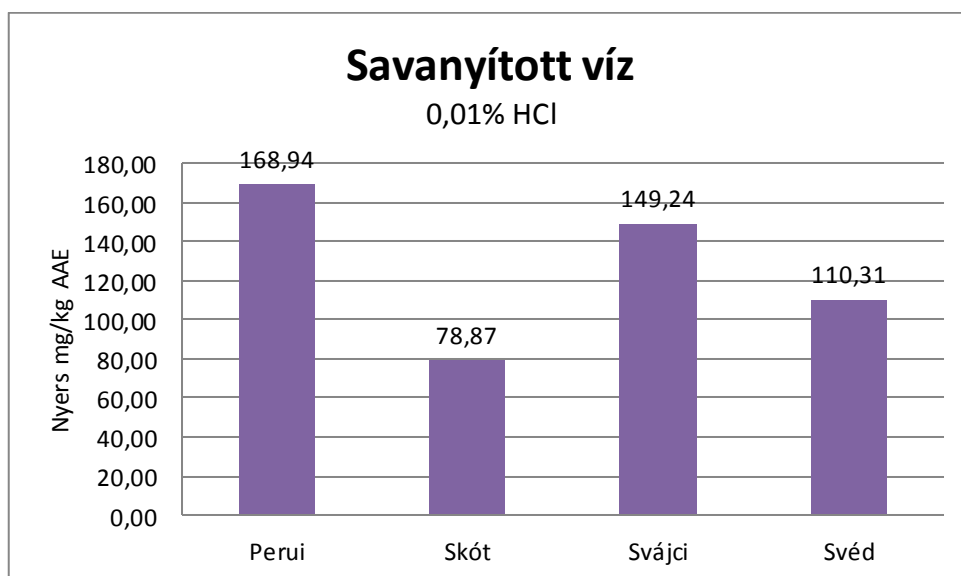
A lilaburgonya fajtáknak van kimutatatható antioxidáns tartalma. Ezek az anyagok tapasztalatunk szerint azonban csak poláros oldószerekkel nyerhetők ki és mutathatók ki. Éter, hexán, etil-acetát esetén mindkét módszerrel kimutatási határ alatti értékeket kaptunk, így a további értékelések részét ez nem képezi. Az eredményekből az olvasható ki, hogy a lilaburgonyák közül a perui lilaburgonyának van mind a 3 oldószer esetén is a legmagasabb antioxidáns kapacitása, míg oldószerek közül a leghatékonyabbnak a savanyított etanol-víz elegy (0,01%) bizonyult.

Az aszkorbinsav egyenértékben kifejezett antioxidáns kapacitás fajtafüggően 78,9-548,7 mg/kg nyers mintára nézve. Ez az érték a referencia antioxidánshoz, a tartósítószerként használt BHT-hoz képest (17294 mg/kg aszkorbinsav egyenérték) azonban csekély.

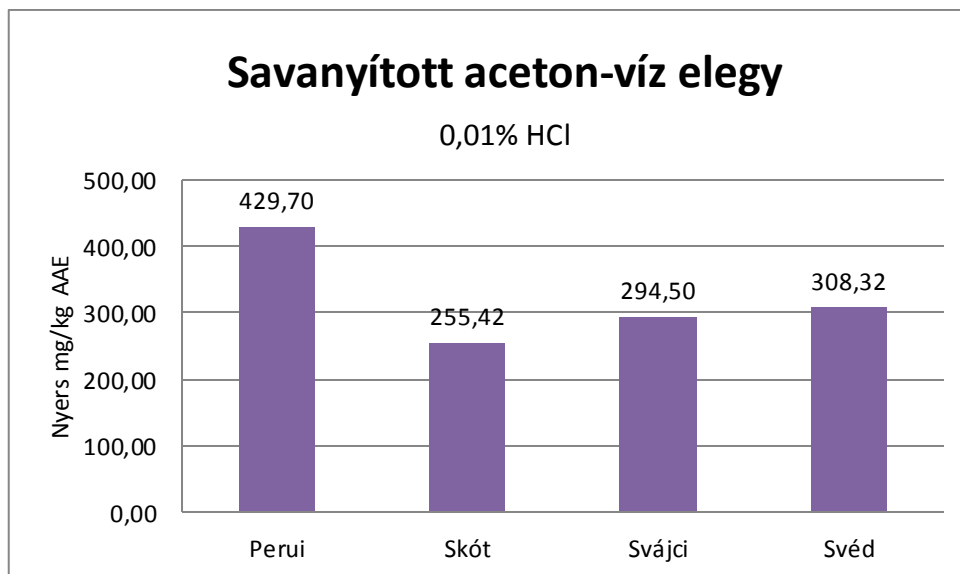
Az aszkorbinsav egyenértékben kifejezett antioxidáns kapacitás értékekre találtunk referencia értékeket külföldi folyóiratban (J. Lachman és mtsai, 2009.), mely az általunk mért adatokhoz hasonló értékeket tartalmaz. Csehországi termőterületeken a perui 109-381 mg/kg, a skót-felföldi vörös 143-253 mg/kg, svájci 257 mg/kg, svéd 153-252 mg/kg értékek között mozognak. Egy másik cikkben (K. Hamouz és mtsai, 2011.) a fehér 80,3; a sárga 71,8-96,5; a lila 251-559,9; míg a piros húsú burgonyák 316,9-424,4 mg/kg értékek között alakulnak. Vagyis a lila burgonyák aszkorbinsav egyenértékben kifejezett antioxidáns kapacitása többszöröse a fehér és sárga húsú burgonyákhoz képest.



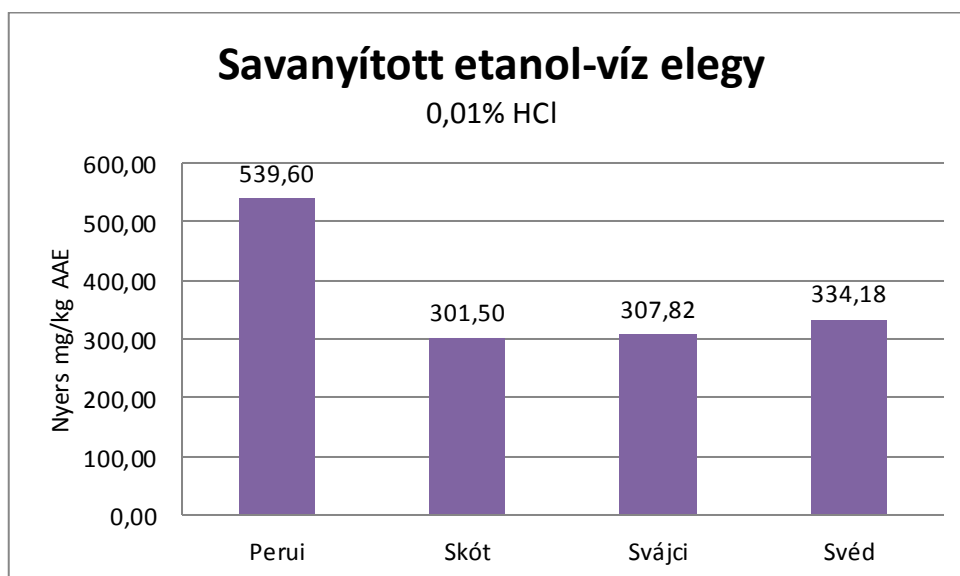
11. ábra Kalibrációs egyenes



12. ábra. A savanyított (0,01% HCl) vízzel történt kivonatolás után mért antioxidáns kapacitás aszkorbinsav egyenértékben (AAE) kifejezett eredményei nyers burgonya mintára nézve

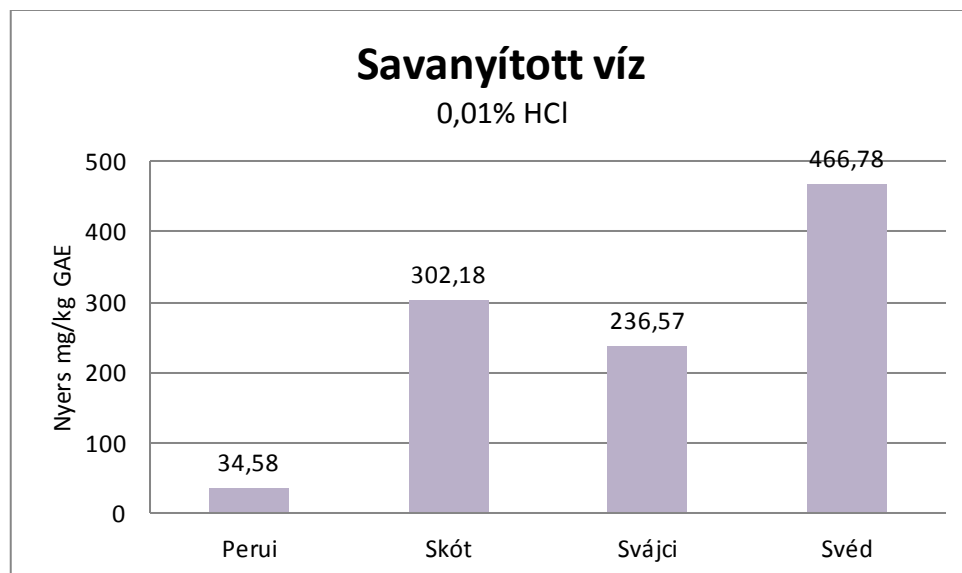


13. ábra A savanyított aceton-víz (70:30, 0,01% HCl) eleggyel történt kivonatolás után mért antioxidáns kapacitás aszkorbinsav egyenértékben (AAE) kifejezett eredményei nyers burgonya mintára nézve

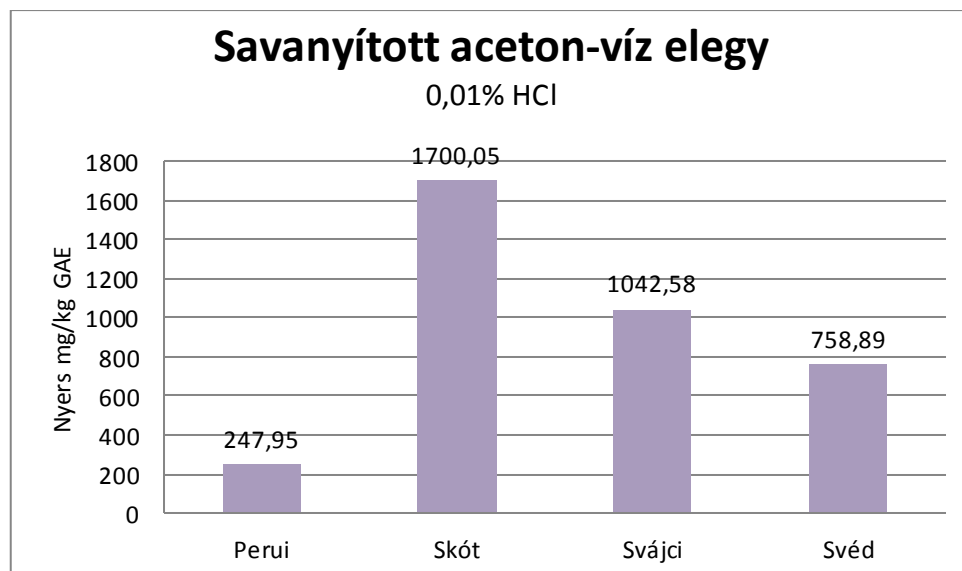


14. ábra A savanyított etanol-víz (70:30, 0,01% HCl) eleggyel történt kivonatolás után antioxidáns kapacitás aszkorbinsav egyenértékben (AAE) kifejezett eredményei nyers burgonya mintára nézve

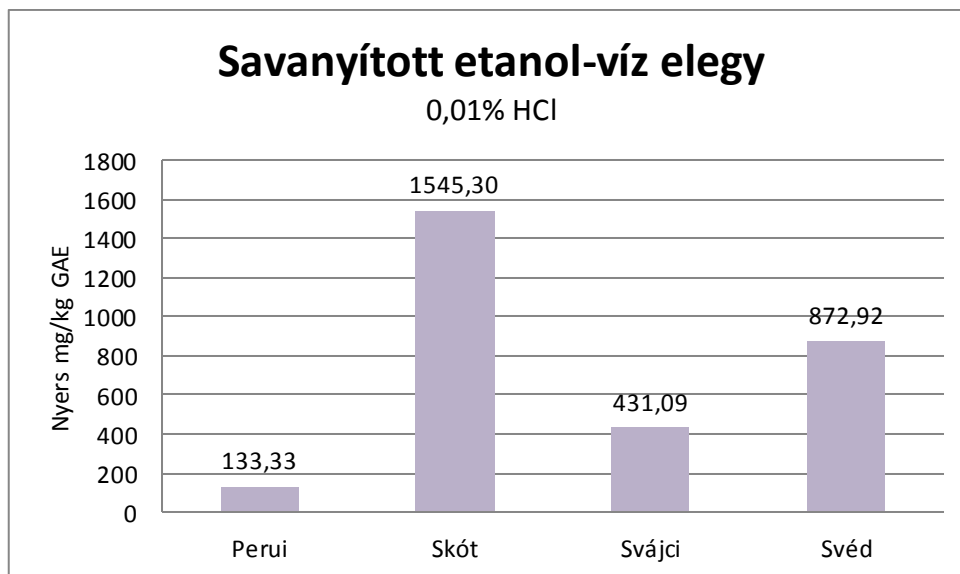
4.4. Összes polifenol tartalom meghatározása Folin-Ciocalteu reagenssel



15. ábra A savanyított etanol-víz (70:30, 0,01% HCl) eleggyel történt kivonatolás után mért összes polifenol tartalom meghatározása galluszsav egyenértékben (GAE) kifejezett eredményei nyers burgonya mintára nézve



16. ábra A savanyított aceton-víz (70:30, 0,01% HCl) eleggyel történt kivonatolás után mért összes polifenol tartalom meghatározása galluszsav egyenértékben (GAE) kifejezett eredményei nyers burgonya mintára nézve



17. ábra A savanyított etanol-víz (70:30, 0,01% HCl) eleggyel történt kivonatolás után mért összes polifenol tartalom meghatározása galluszsav egyenértékben (GAE) kifejezett eredményei nyers burgonya mintára nézve

A lilaburgonyák polifenoltartalma 34,6-1700 mg GAE/kg nyers minta között alakult.

A polifenol tartalmat pontos fajtamegjelölés nélkül termőhely szerint vizsgálta egy szerzőcsoport egy másik forrásban (J. Lachman és mtsai, 2008.), ezek az értékek átszámolva 600-1200 mg/kg galluszsav egyenértékben kifejezett összes polifenol tartalom nyers mintára nézve az általunk mért adatokhoz hasonlóan. Míg egy másik szerzőcsoport (V. Perla és mtsai. 2012.) különböző színű burgonyák polifenol tartalmát vizsgálták, ami a fehér 1327-2213; sárga 1478-1704; lila 3675; piros 4130-5630 mg/kg GAE szárazanyag tartalomra nézve. Ebből is látszik, hogy a polifenol tartalom is 2-szerese a fehér húsú burgonyákéhoz képest.

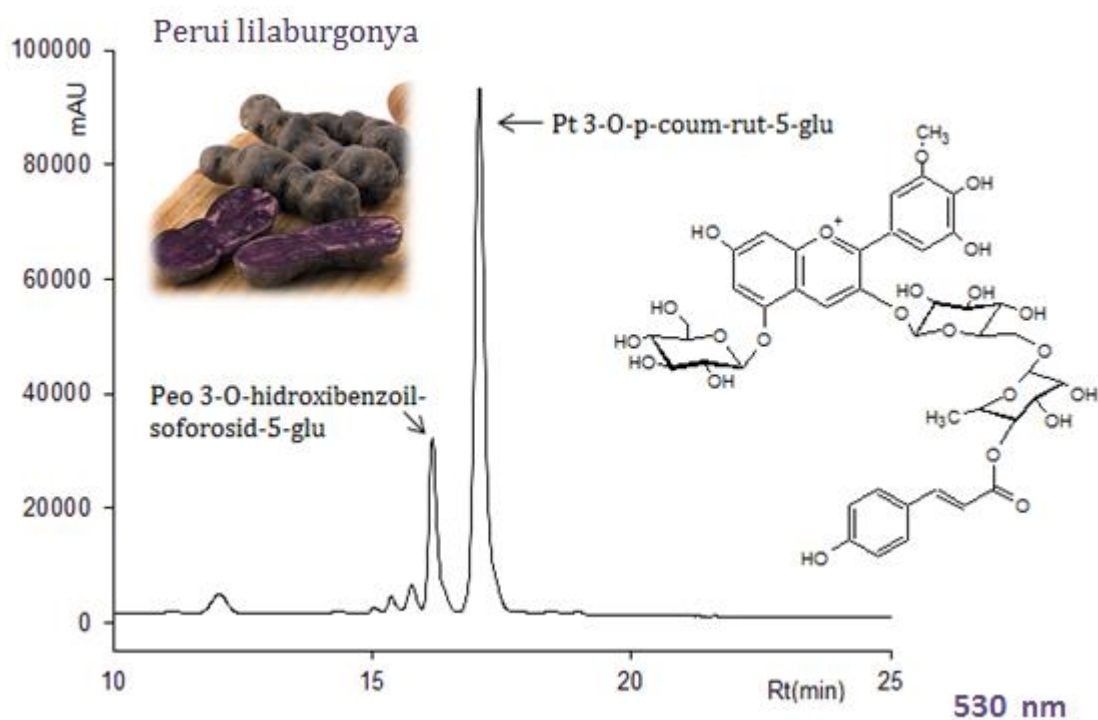
4.5. HPLC eredmények

A perui lilaburgonya esetén 2 antocianin komponenst azonosítottunk, a petundin 3-O-p-coum-rut-5-glu és peonidin 3-O-hidroxibenzoil-soforosid-5-glu komponenseket, amely összevetve más irodalmakkal hasonlóságot mutat.

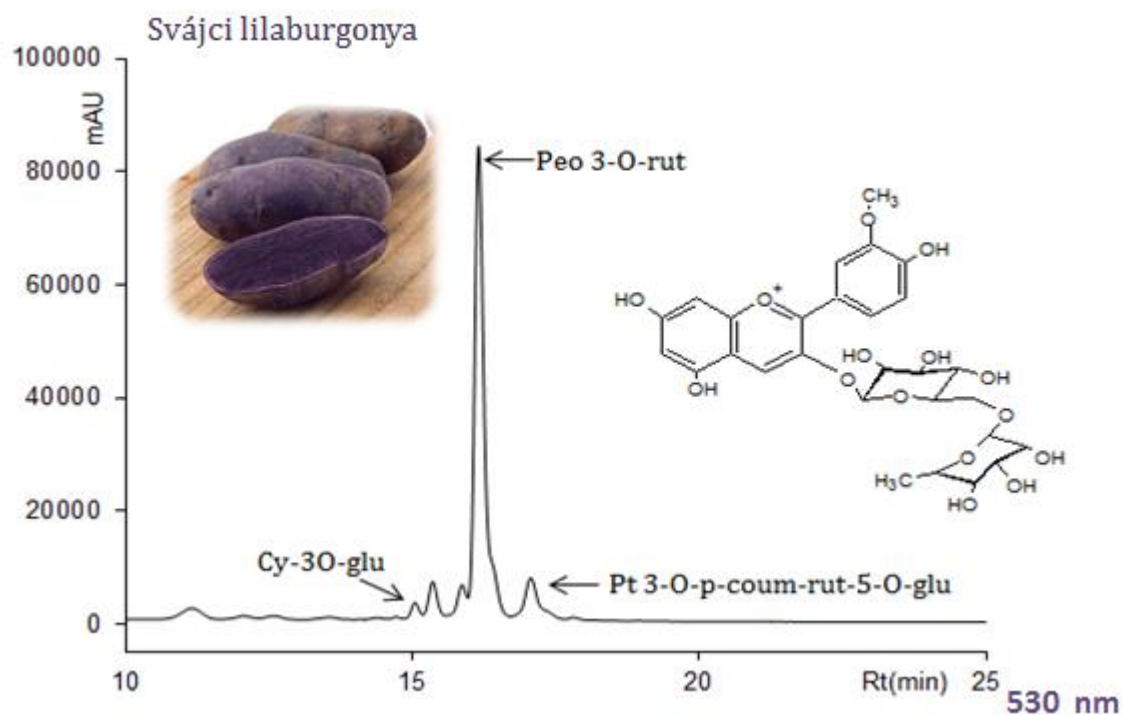
A svájci lilaburgonyából 3 antocianint azonosítottunk, amelyből 1 komponenst megtaláltuk a perui lilaburgonyában is, mellette találtunk még cianidin és peonidin komponenst is.

A svéd lilaburgonya antocianinja fő komponense a perui fajtához hasonlóan a petundin 3-O-p-coum-rut-5-glu.

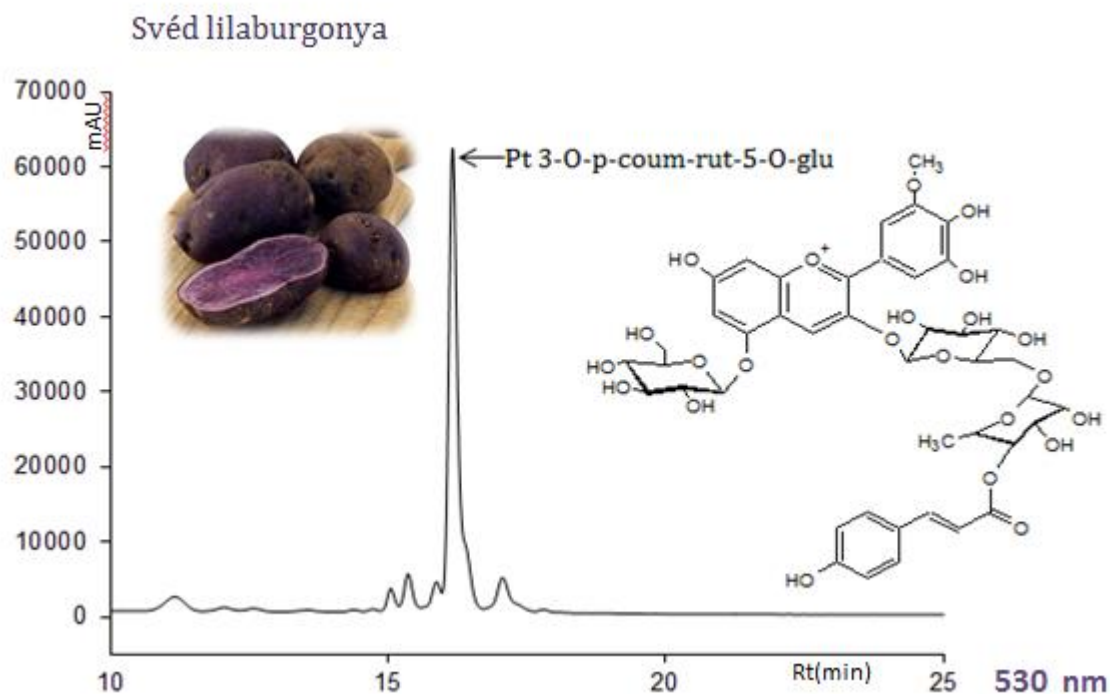
A skót lilaburgonya antocianjai közül a peonidin, petundin és cianidin komponenseket sikerült meghatározni.



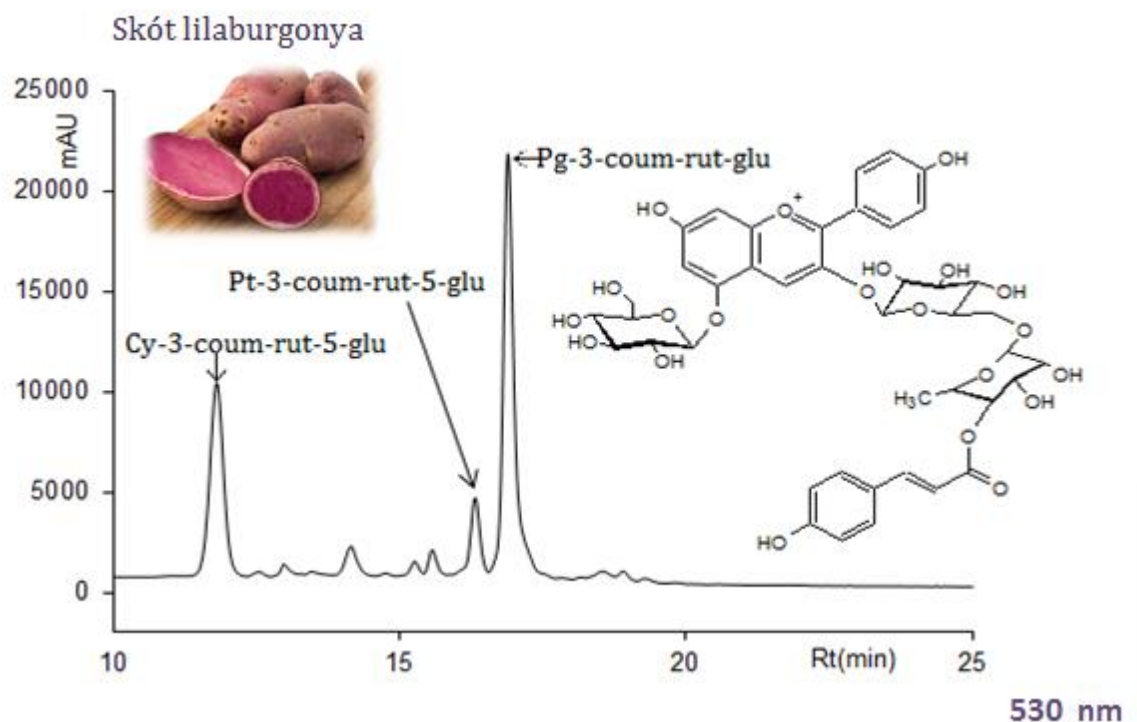
18. ábra Perui lilaburgonya HPLC kromatogramja és a HPLC-MS/MS-sel meghatározott antocianin komponenseinek neve



19. ábra Svájci lilaburgonya HPLC kromatogramja és a HPLC-MS/MS-sel meghatározott antocianin komponenseinek neve

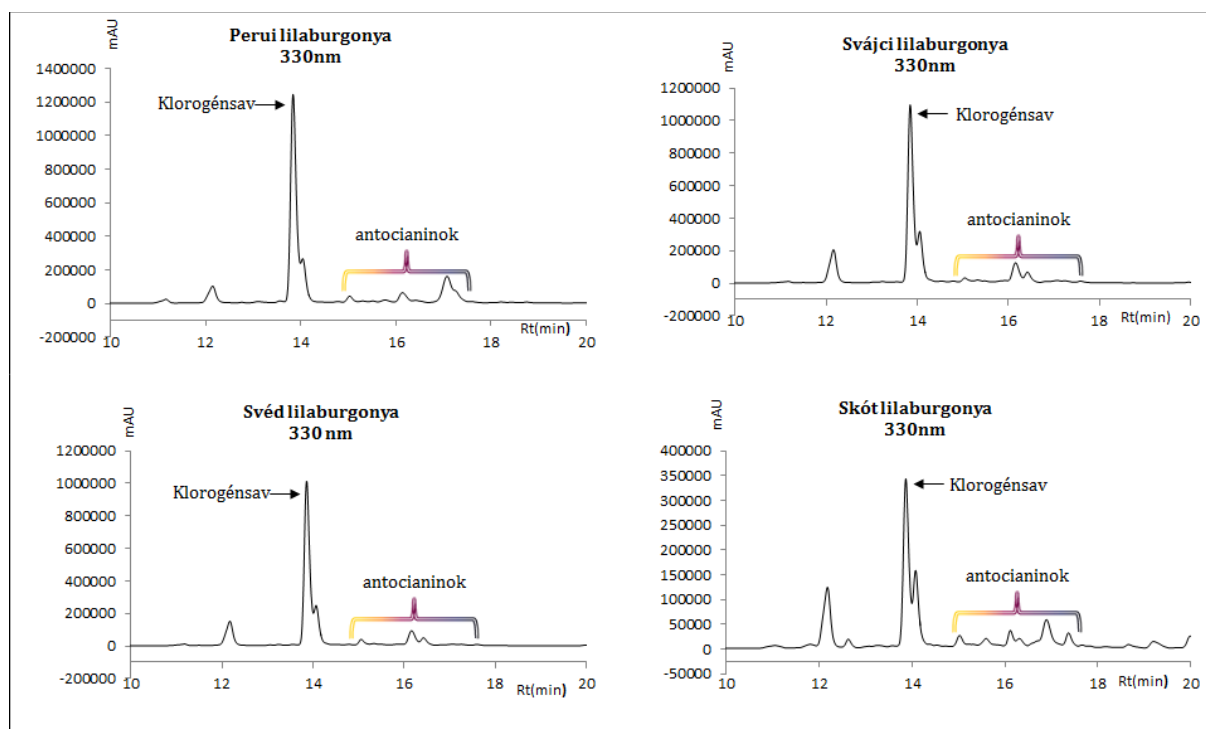


20. ábra Svéd lilaburgonya HPLC kromatogramja és a HPLC-MS/MS-sel meghatározott antocianin komponenseinek neve



21. ábra Skót lilaburgonya HPLC kromatogramja és a HPLC-MS/MS-sel meghatározott antocianin komponenseinek neve

A fenolos komponensek közül a fő komponens mind a 4 lilaburgonya fajtában megtalálható, ami nem más, mint a klorogénsav. Emellett klorogénsav származékokat illetve kávéssavat azonosítottunk a mintákban.



22. ábra Lilaburgonyák HPLC kromatogramja és a HPLC-MS/MS-sel meghatározott fő fenolos sav komponensének neve

Fajta	Antocianin komponsek	Fenolos sav komponensek
Perui	Pt-3-O-p-coum-rut-5-O-glu [933(m/z)] Peo-3-O-hidroxibenzoil-soforosid-5-glu [907(m/z)]	Klorogénsav, klorogénsav származékok (5-Caffeoylquinic sav, 4-Caffeoylquinic sav), kávésav
Svéd	Cy-3-O-glu [449(m/z)] Peo-3-O-rut [609(m/z)] Pt-3-O-p-coum-rut-5-O-glu[933(m/z)]	
Svájci	Pt-3-O-p-coum-rut-5-O-glu [933(m/z)]	
Skót	Cy-3-coum-rut-5-glu[903(m/z)] Pt-3-p-coum-rut-5-O-glu [933(m/z)] Pg-3-coum-rut [887(m/z)]	

23. ábra A mintákban található összes antocianin és fenolos sav komponensek

5. Összefoglalás

Az egészséges életmód egyre nagyobb figyelmet kap mind tudományos, mind társadalmi körökben. A média is egyre nagyobb hangsúlyt fektet a figyelemfelkeltésére. A burgonya számos hagyományos ételünk alapanyaga, ezen túl a gyorséttermek egyik legkedveltebb körete. Egyre elterjedtebbek a színes burgonyák snack, chipsek, éttermi kínálat formájában.

Továbbiakban a vizsgálataink eredményeinek összefoglalását szeretném taglalni. A legjobb extrakciós módszer: a hangyasav- etanol elegy, amely alkalmazható egyéb más színanyagvizsgálat során is. A lilaburgonyák antioxidáns tartalma (78,9-548,7 mg/kg AAE) és összes polifénol tartalma (34,6-1700 mg/kg GAE) tartomány között alakul fajtától függően nyers mintára nézve.

Az általunk vizsgált burgonyák esetén az energia bevitel mellett a humán szervezetre jótékony hatással lévő komponensek, antioxidánsok, polifénolok forrása is lehet.

Színanyag tartalmának megfelelő kivonásával pedig a mesterséges színezékek kiváltása is megoldható lehet az élelmiszeriparban.

6. IRODALOMJEGYZÉK

- A.L.Waterhouse (2002). Determination of total phenolics, *Current Protocols in Food Analytical Chemistry* 1.1.1.1-1.1.1.8.
- Almádi László: Mezőgazdasági növénytan 1998. Mezőgazdasági Szaktudás Kiadó, Budapest 327-328
- Banai Valéria: Gyógynövény- és drogismeret 2010. Műszaki Kiadó, Budapest 211.
- Castaneda-Ovando, Ma. d. L. Pacheco-Hernández, Ma. E. Pérez-Hernández, J. A. Rodríguez, C. A. Galán-Vidal
Chemical studies of anthocyanins: A review *Food Chemistry* 113 (2009) 859–871
- Differences in anthocyanin content and antioxidant activity of potato tubers with different flesh colour *Plant Soil Environ.*, 57, 2011 (10): 478–485
- Dr. Gombkötő Géza, Dr. Sajgó Mihály: Biokémia 1985. Mezőgazdasági Könyvkiadó Vállalat (Budapest)
- Dr. Hortobágyi Tibor: Növényrendszertan 1979. Tankönyvkiadó Vállalat (Budapest) 527-528
- Graves C. 2001. *The potato, Treasure of the Andes: From Agriculture to Culture*. (Lima)
- Hongyan Lia, b, Zeyuan Denga, Honghui Zhub, Chanli Hub, Ronghua Liub, J. Christopher Youngb, Rong Tsaob
(2012). Highly pigmented vegetables: Anthocyanin compositions and their role in antioxidant activities *Food Chemistry* 46, 250-259
- I. Ignat, I. Volf, V. I. Popa 2011. A critical review of methods for characterisation of polyphenolic compounds in fruits and vegetables *Food Chemistry* 126 (2011) 1821–1835
- International Year of the Potato. 2008, *United States Department of Agriculture, National Nutrient Database*
<http://www.fao.org/potato-2008/en/potato/factsheets.html>
- Jaromir Lachman, Karel Hamouz, Miloslav Šulc, Matyáš Orsak, Vladimír Pivec, Alena Hejtmánková, Petr Dvořák, Jaroslav Čepel (2009). Cultivar differences of total anthocyanins and anthocyanidins in red and purple-fleshed potatoes and their relation to antioxidant activity *Food Chemistry* 114, 836–843
- K. Hamouz, J. Lachman, K. Pazderů, J. Tomášek, K. Hejtmánková, V. Pivec 2011.
Konstantinos N. Papadopoulos (editor) *Food chemistry research developments* Nova Science Publishers, Inc.
2008. Jaromír Lachman and Karel Hamouz, Antioxidants and Antioxidant Activity of Red, Purple and Yellow-Coloured Potatoes Affected by *Main Extrinsic and Intrinsic Factors* 29-74
- KSH: <http://www.ksh.hu/docs/hun/xftp/stattukor/elelmfogy/elelmfogy11.pdf>
- Lisinska, G. and Leszczynski, W 1989. *Potato Science and Technology Elsevier Applied Science Publishers Ltd., England*. 11-12.
- Maria Fernanda Polit: Characterization and quantification of anthocyanins and other phenolics in native andean potatoes 2009. A Thesis
- Paola Bontempo, Vincenzo Carafaa, Roberto Grassib, Adriana Basilec, Gian Carlo Tenored, Carmen Formisano, Daniela Riganoe, Lucia Altuccion (2013). Antioxidant, antimicrobial and anti-proliferative activities of *Solanum tuberosum* L. var. Vitelotte *Food Chemistry* 55, 304-312.
- V. Nour, I. Trandafir, S. Cosmulescu 2012. HPLC Determination of Phenolic Acids, Flavonoids and Juglone in Walnut Leaves *Journal of Chromatographic Science Advance Access*
- Venu Perla, David G. Holm, Sastry S. Jayanty 2012. Effects of cooking methods on polyphenols, pigments and antioxidant activity in potato tubers *LWT - Food Science and Technology* 45 (2012) 161-171

Xiuhong Jia, Lucas Rivera, Zosia Zielinska, Min Xua, Erinn MacDougalla, Jancy Stephen, Shuocheng Zhanga, Yanwen Wang, Robert G. Chapman, Paul Keddyb, George S. Robertsonb, Christopher W. Kirbyc, Jean Embletond, Craig Worralld, Agnes Murphyd, David De Koeyer, Helen Taid, Lilian Yue, Edward Charere, Junzeng Zhanga 2012. Quantitative analysis of phenolic components and glycoalkaloids from 20 potato clones and *in vitro* evaluation of antioxidant, cholesterol uptake, and neuroprotective activities *Food Chemistry* 133,1177-1187

7. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Köszönetet szeretnék mondani a rengeteg segítségért konzulensemnek **Dr. Forgó Péternek**,
Korózs Mariettának és **Patonay Katalinnak**.