

Univerzita J. Selyeho - Selye János Egyetem

Pedagógická fakulta - Tanárképző kar

Katedra chémie - Kémia Tanszék

Vedecká aktivita študentov - Tudományos diákköri munka

**HODNOTENIE ANTIOXIDAČNEJ AKTIVITY  
VYBRANÝCH OVOCNÝCH DRUHOV**

**GYÜMÖLCSFAJTÁK GYÖKBEFOGÓ  
AKTIVITÁSÁNAK MÉRÉSE ÉS ÉRTÉKELÉSE**

**Név:** Bc. Borovicza Boglárka

Bc. Reménység Dániel

**Szak:** kémia – biológia

**Évfolyam:** Mgr. 2.

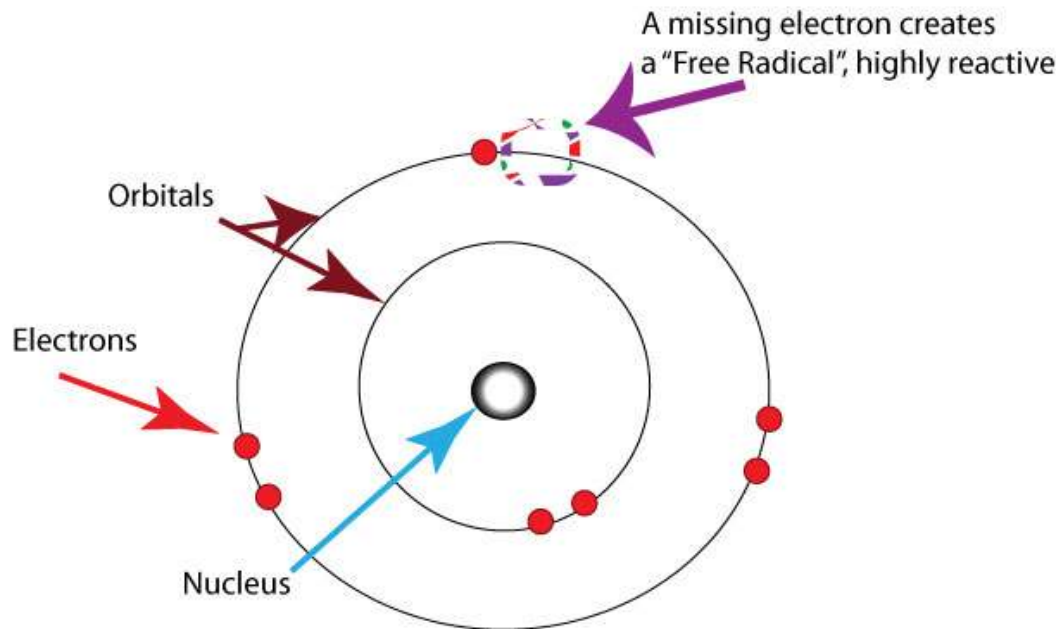
**Komárno, 2020**

# Célok

- A DPPH gyök megkötésén alapuló módszer ismertetése.
- Különböző gyümölcsfélék antiradikál aktivitásának (ARA) meghatározása és kiértékelése.
- Különféle vörös és nem vörös színű gyümölcsök antiradikál aktivitásának (ARA) mérése a DPPH gyökbefogó módszer két modifikációjával, majd a mért eredmények összevetése.
- Mérsni a DPPH reakciókeverékek abszorbanciájának csökkenését – kinetikát.
- Meghatározni a vörös és nem vörös színű gyümölcsök C-vitamin tartalmát, majd összevetni az ARA értékeivel.

# Szabadgyökök – radikálok

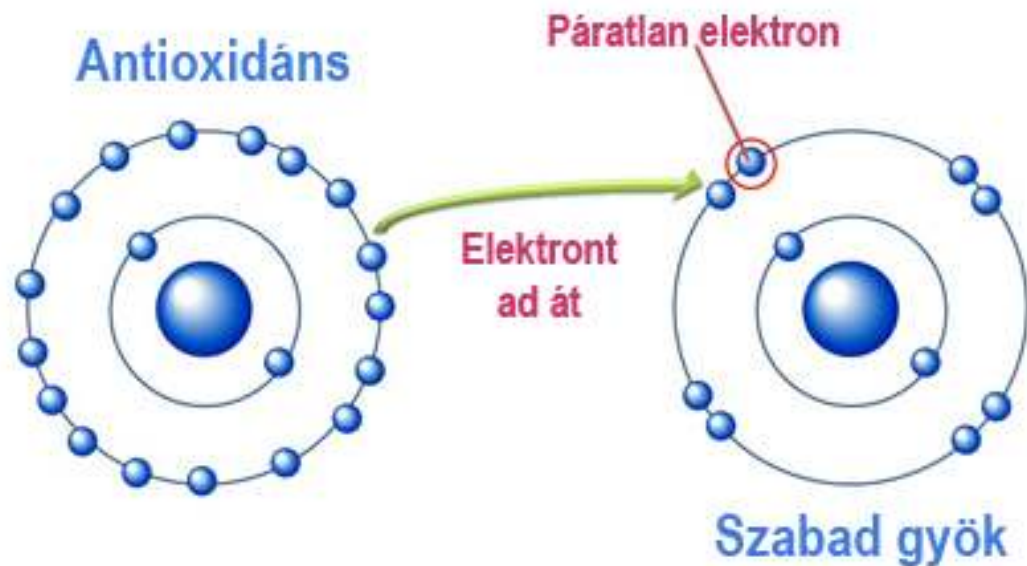
- A kémiai kötés homolitikus hasadása.
- Párosítatlan elektron.
- Sejtkárosítás.



**1. ábra:** Az oxigén gyök atomszerkezete

# Antioxidánsok

- Védekezés.
- Sejtek oxidációjának megakadályozása.
- Antioxidánsok mechanizmusa.



2. ábra: Az antioxidánsok mechanizmusa

# Antioxidáns vegyületek és felosztásuk

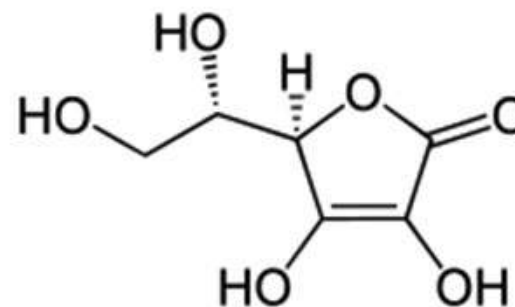
## ENZIMATIKUS

- **Primér antioxidánsok:**
  - szuperoxid-dizmutáz,
  - kataláz,
  - glutation- peroxidáz.
  
- **Szekunder antioxidánsok:**
  - glutation-reduktáz,
  - glükóz-6-foszfátdehidrogenáz.

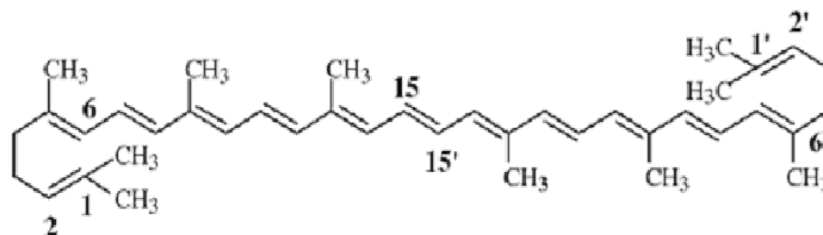
# Antioxidáns vegyületek és felosztásuk

## NEM ENZIMATIKUS

- Kofaktorok – koenzim Q<sub>10</sub>
- Ásványi anyagok – Se, Zn
- Vitaminok – A, C, E, K
- Karotinoidok - likopin
- Flavonoidok – antociánok
- Fenolsavak - hidroxifahéjsavak



**3. ábra:** Aszkorbinsav (C-vitamin)



**4. ábra:** Karotinoid (likopin)

# Mérési módszerek

HAT – hidrogénatom-átviteli módszerek

- Szabadgyök hatástalanítása H-atom hozzáadásával.
- ORAC
- LPIC
- TRAP
- IOC
- Crocin fehéritő nitrogén-monoxid gyök gátló aktivitás
- ABTS

# Mérési módszerek

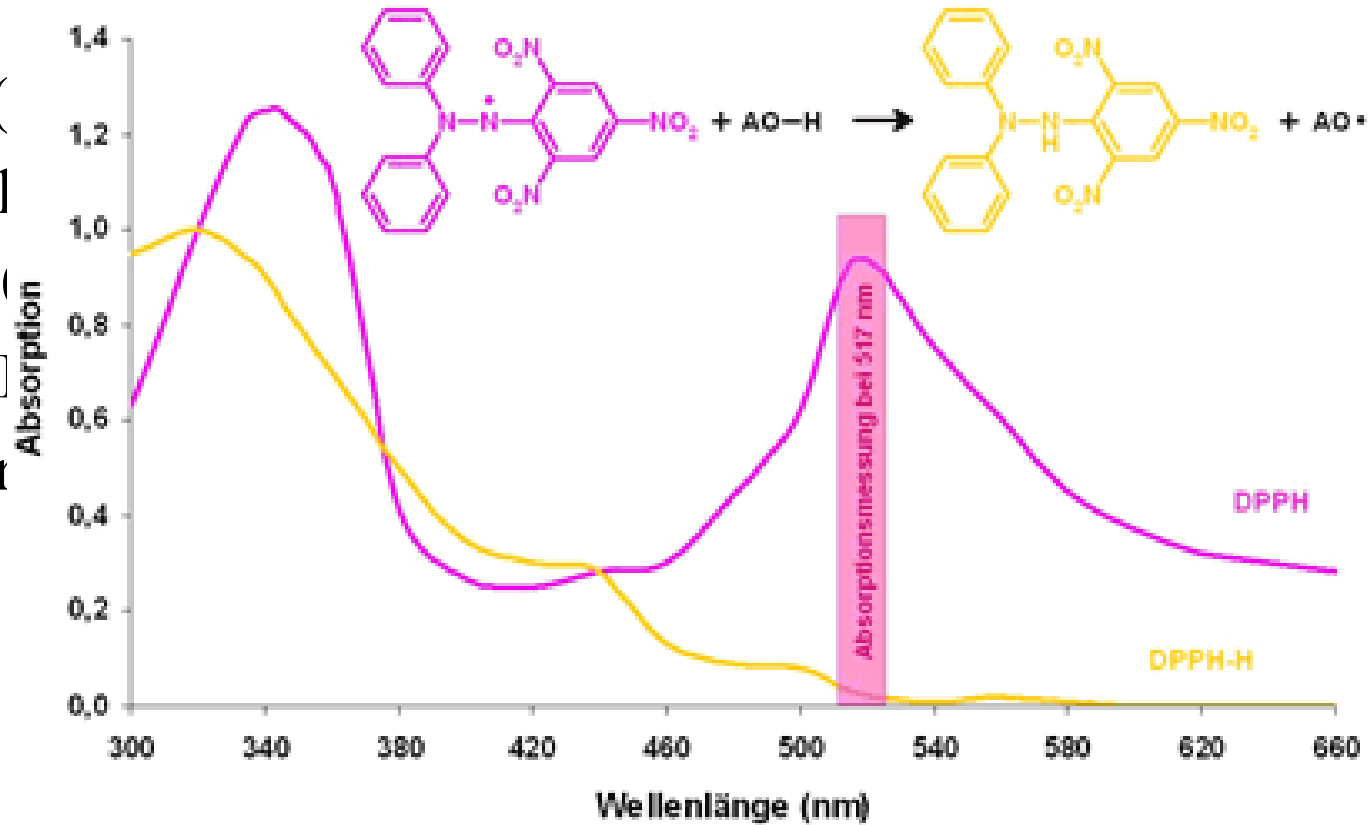
SET – egyszeres elektronátviteli módszerek

- Színváltozás mértékének - abszorbancia - mérése.
- Spektrofotometriás módszerek.
  
- TEAC
- FRAP
- CUPRAC
- F-C
- **DPPH**



# DPPH - módszer

- DPPH (
- Mély lil
- 515–520 nm
- Kevert ]
- Egyszeri



5. ábra: a DPPH gyökön alapuló módszer fényabszorpciós függvénye (példa)

# Felmerülő kérdések

- Végbe megy- e az összes reakció a 30 perces mérési időtartományban? – kinetika
- Ha 30 perc elteltével a mért értéket ( $A_{30}$ ) nem a minta kezdeti abszorbanciájához ( $A_0$ ) viszonyítom, hanem egy vakpróbához ( $A_{0st}$ ), ugyanazt az eredményt kapjuk?
- A vörös – lila növényi színanyagok szignifikánsan befolyásolják az mért eredményeket?
- Milyen szoros az összefüggés az ARA értékek és a beltartalmi anyagok közt?

# A kutatás objektumai

- Különbéféle gyümölcsfajok Komárom és Érsekújvár környékéről.
- Tudatos objektum választás
- Széles skála - színtelen és színes gyümölcsök

*Példák:*

fehér asztali szőlő – fehér eper – málna – fekete áfonya

# *Az analízisek folyamata*

# A kutatás során alkalmazott módszerek

- **Az antiradikál aktivitás (ARA) meghatározása DPPH módszerrel:**
  - a) Az eredmény viszonyítása a minta kezdeti abszorbanciájához.
  - b) A reakciók kinetikájának mérése.
  - c) Az eredmény viszonyítása egy vakpróbához.
- **Az L-askorbinsav meghatározása HPLC módszerrel.**

# Extrakció - ARA

1. lépés – Átlagminta készítése



**6. ábra:** Az átlagminta készítése

## 2. lépés – Homogenizálás

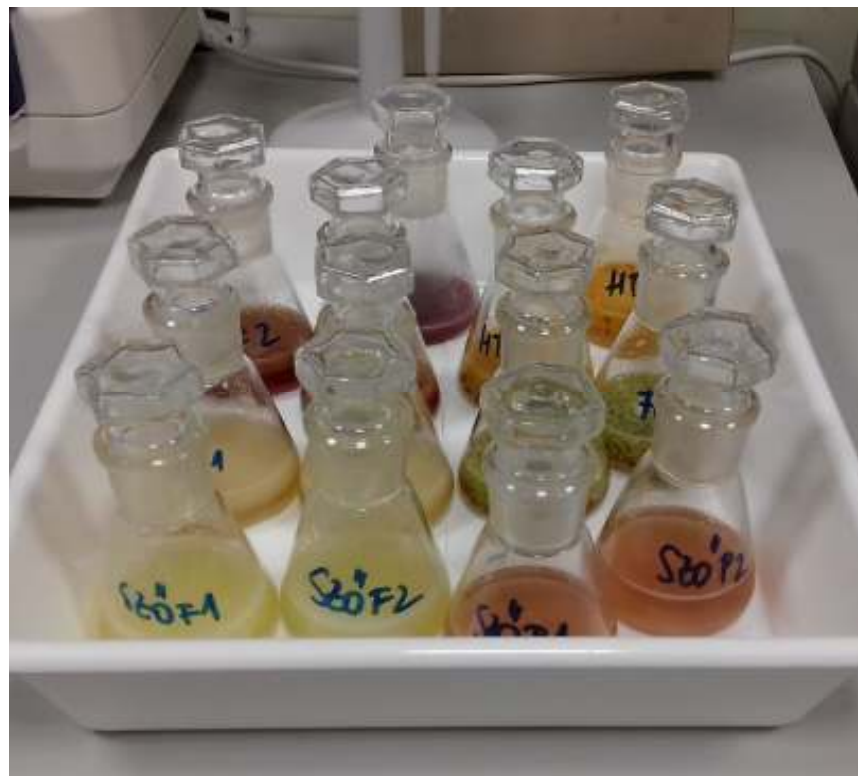
**7. ábra:** A homogenizálás folyamata



### 3.lépés – extrahálás



**8. ábra:** Az extrahálásra használt rázógépet



**9. ábra:** Az extrahált minták



#### 4. lépés – az extraktumok leszűrése



**10. ábra:** Az extraktumok szűrése

# A meghatározás menete

- Az eredmény viszonyítása a minta kezdeti abszorbanciájához.
  - Küvettás módszer – 4 ml űrtartalmú
- 1.lépés – a szűrletből kipipettázunk 0,067 ml mennyiséget



**11.ábra:** A szűrlet pipettázása

2.lépés - Hozzáadunk 2,667ml 25mg/l DPPH oldatot

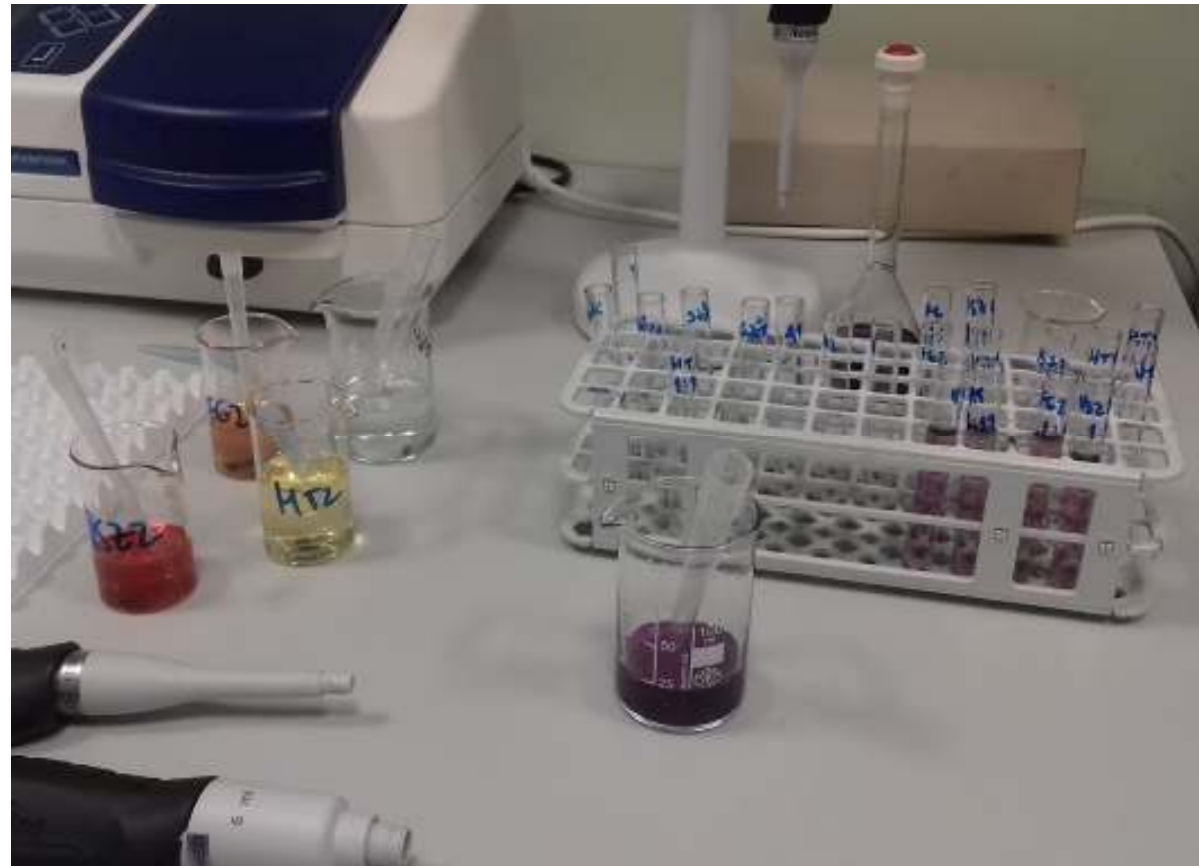
3.lépés – MÉRJÜK az abszorbanciót  $T_{0,1}$  időpontban ( $T_0 +$  késés),  
512 nm hullámhosszon majd megismételjük a 2., 4., 6., 8., 10.,  
15.,20.,25. és 30. percben.



**12. ábra:** A mérendő minta és a használt spektrofotométer

- Az eredmény viszonyítása egy vakpróbához
  - Kémcsöves módszer – 6 ml űrtartalmú
- 1.lépés - A szűrletből pipetázunk 0,1- 0,2ml-t
2. lépés - Hozzáadunk 4ml 25mg/l DPPH oldatot.

**13. ábra:** A mérendő minták előkészítése



3.lépés – 30 perc elteltével mérjük az abszorbanciót



**14.ábra:** A méréshez használt spektrofotométer és automata pipetták

# Extrakció – L-aszkorbinsav

Az extrakció első két lépése megegyezik az ARA extrakciós lépéseivel.

3.lépés – A mintához 50 ml 2%-os oxálsavat adunk ultrahangos fürdőbe tesszük.



**15.ábra:**  
A minták az ultrahangon

4.lépés – Ezután a minta tisztítására az oldathoz adagolunk 1 ml Carrez I és 1 ml Carrez II oldatot, majd összekeverjük.



**16.ábra:** A minta tisztítására használt oldatok

## 5.lépés – Az oldatokat leszűrjük



**17.ábra:** A minták szűrése



**18.ábra:** A kapott szűrletek



# A meghatározás menete

- A kapott szűrleteket HPLC analízishez használjuk



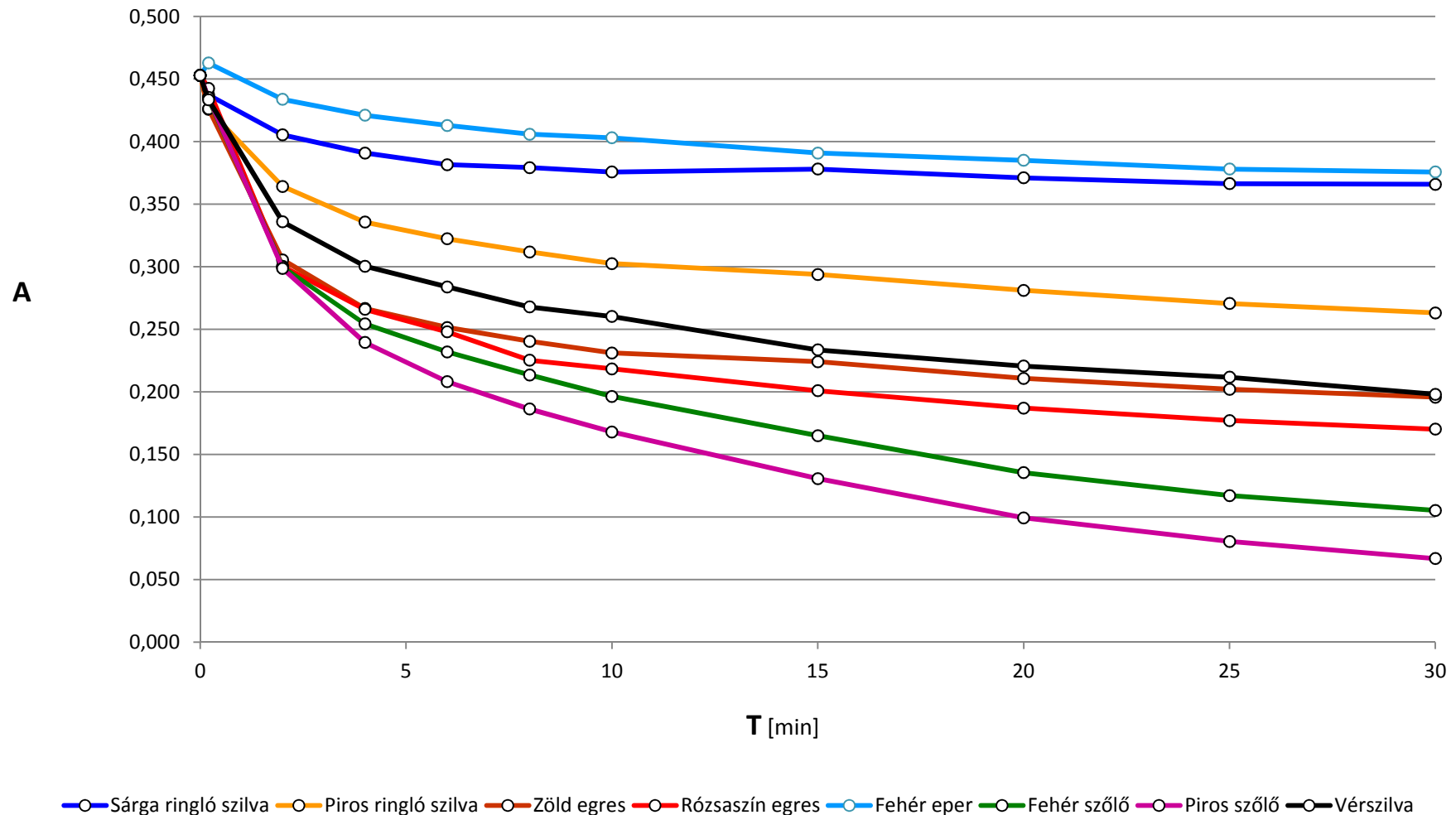
**19.ábra:** A méréshez használt HPLC

# *Eredmények*

## Az analizált gyümölcsök antioxidáns aktivitásának kiértékelése

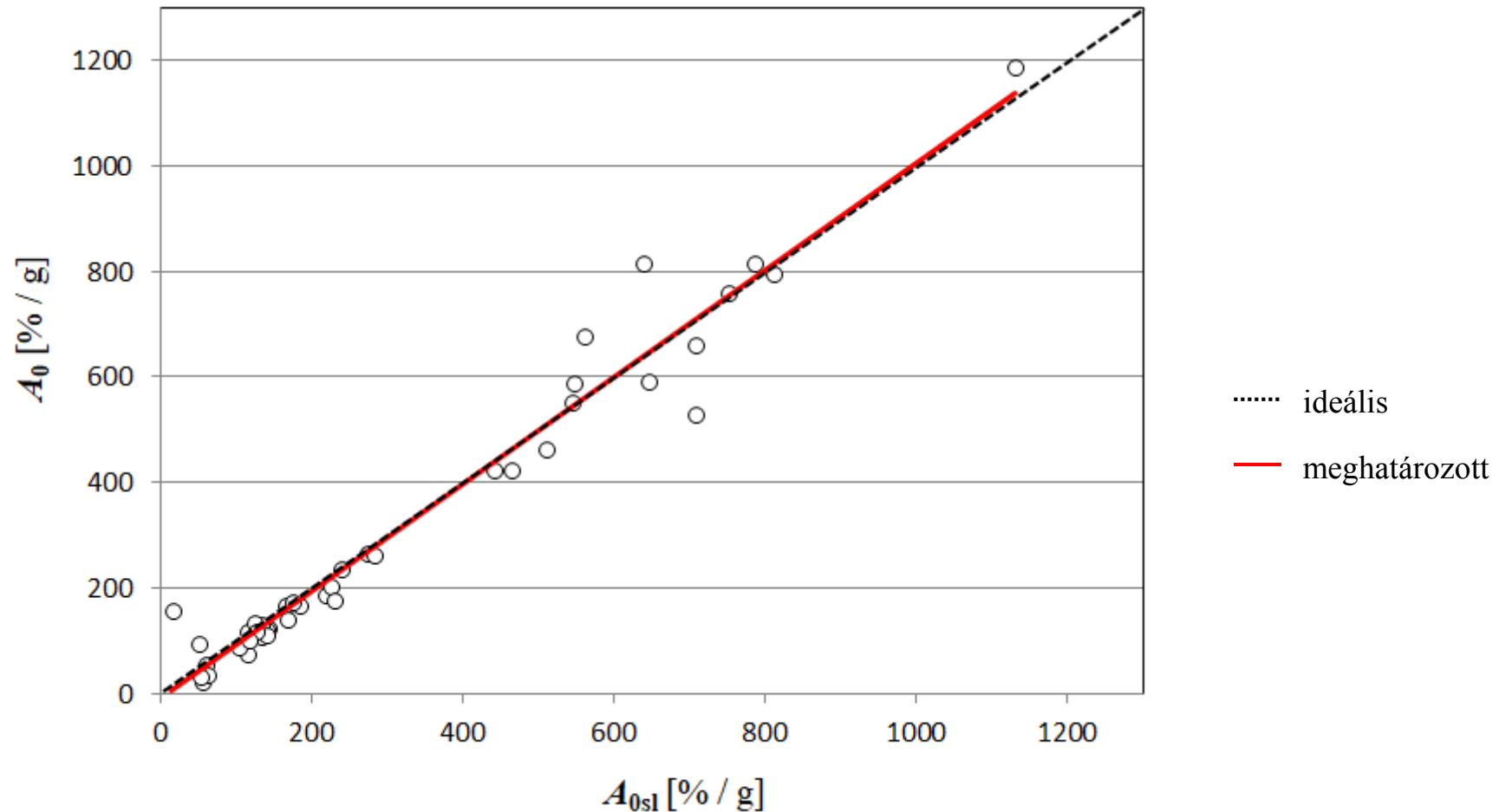
Rangsor	Gyümölcs	Átlagos ARA %
1.	Fekete ribizli	1294
2.	Meggy	780
3.	Fekete eper	712
4.	Homoktövis	706
5.	Josta	602
6.	Narancs	509
7.	Málna	493
8.	Fekete áfonya	486
9.	Citrom	485
10.	Piros ribizli	340
11.	Piros csemege szőlő	178
12.	Banán	174
13.	Fehér csemege szőlő	166
14.	Vörös egres	141
15.	Nyári alma	134
16.	Közönséges füge	131
17.	Zöld egres	122
18.	Vérszilva	121
19.	Vörös ringlószilva	108
20.	Sárga ringlószilva	56
21.	Fehér eper	56
22.	Kajsziarack	31

# A reakciók kinetikájának mérése



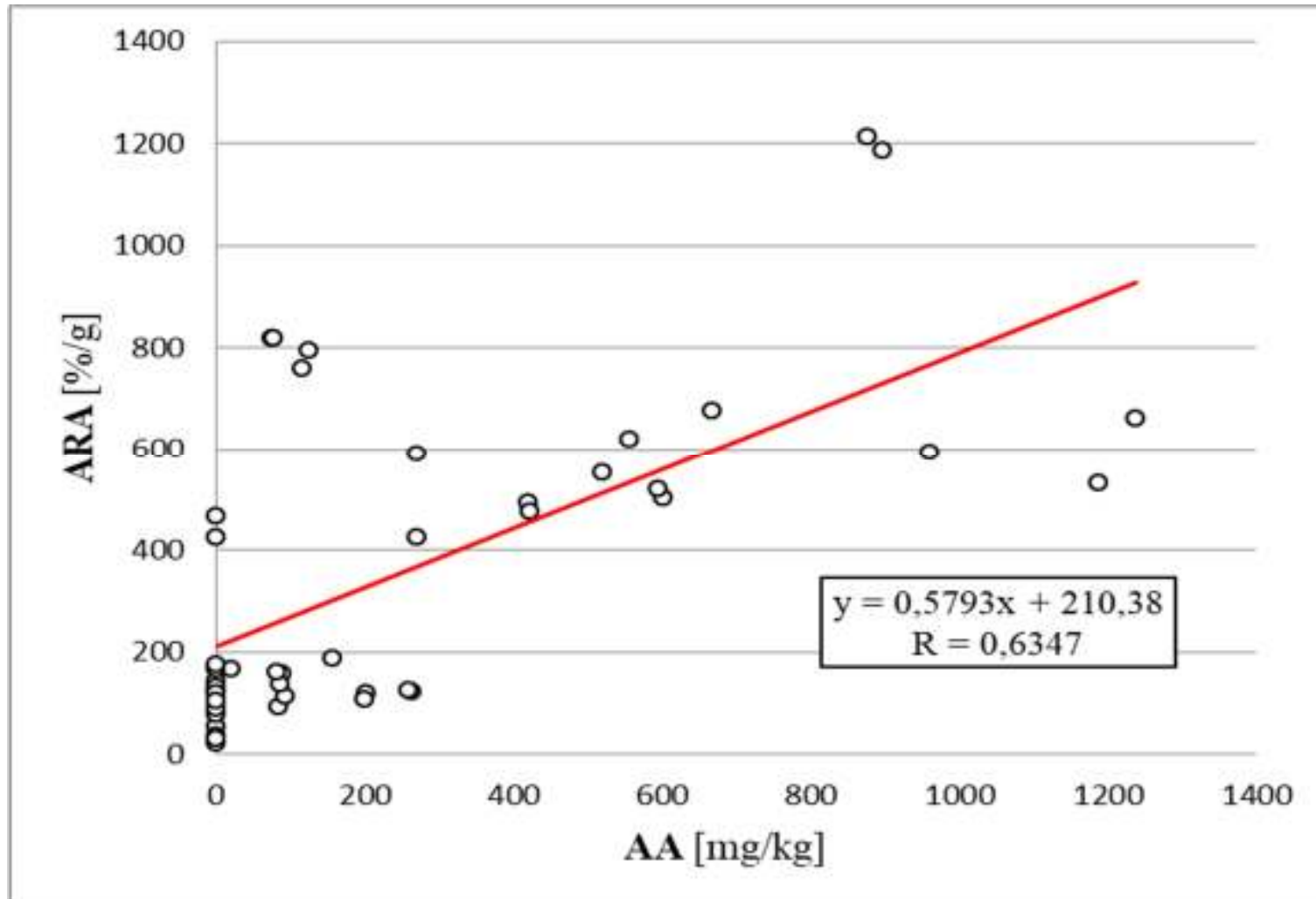
**20. ábra:** A DPPH reakciókeverék abszorbanciájának csökkenése a gyümölcs kivonatokban

## A módszer két modifikációjával mért eredmények összevetése

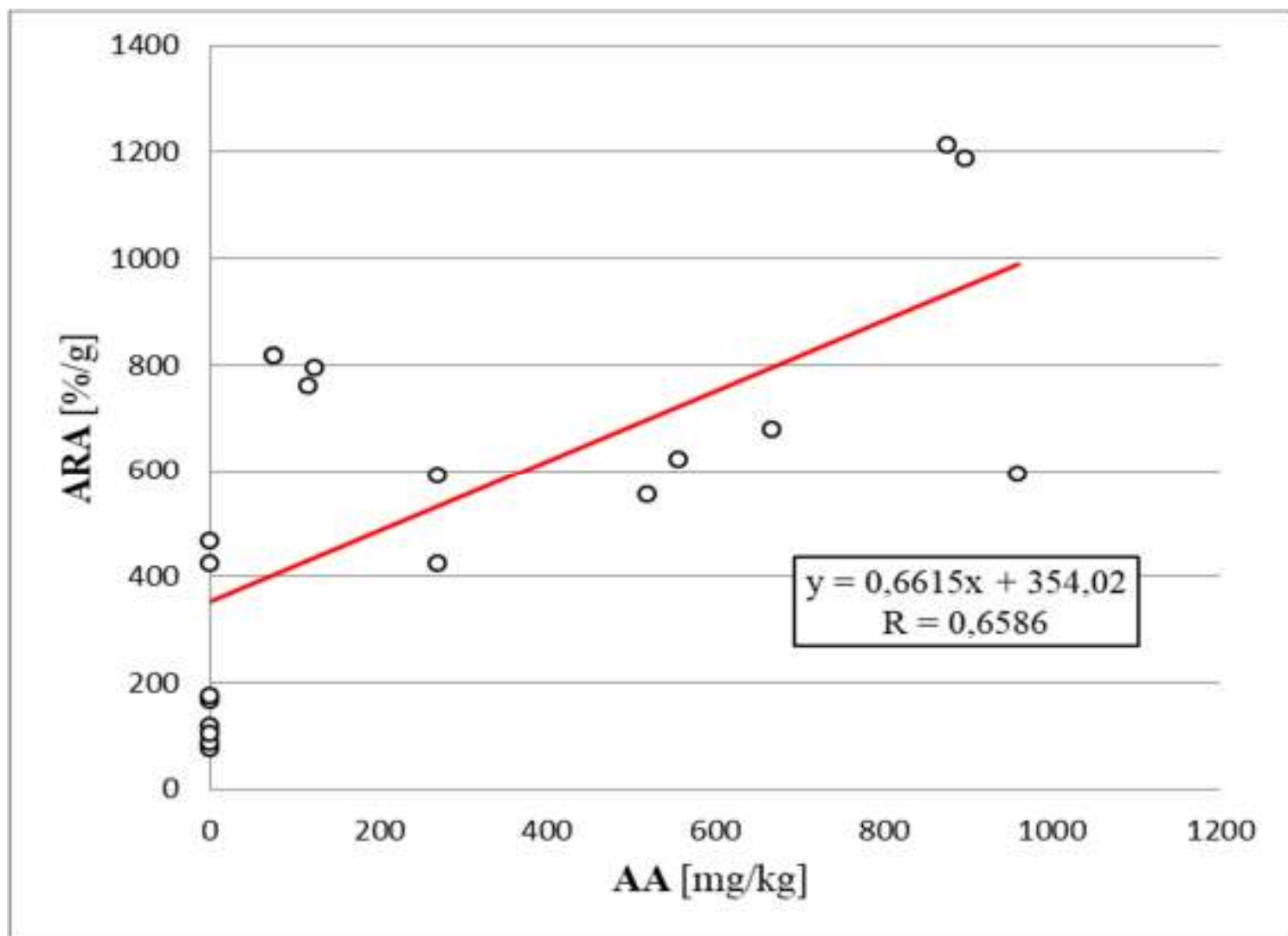


**21. ábra:** A vakminta abszorbanciaérték ( $A_{0sl}$ ) alapján meghatározott ARA-értékek grafikus értékelése és az egyes DPPH-reakcióelegyek és a minták kezdeti abszorbanciája alapján meghatározott ARA-értékek összehasonlítása ( $A_0$ )

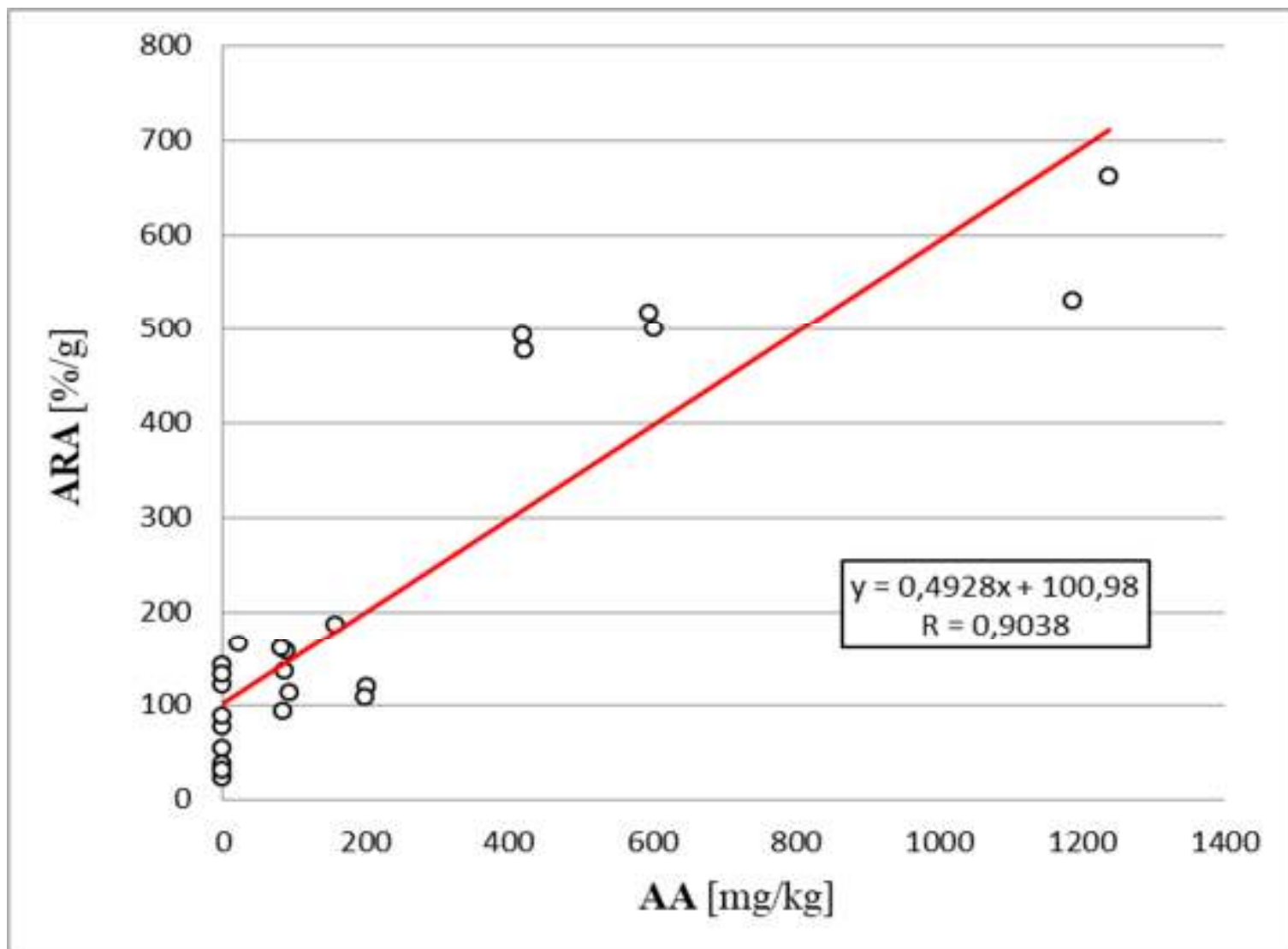
## Az ARA és az L-aszkorbinsav összevetése



**22.ábra:** Az ARA érték függése az összes elemzett mintán az L-aszkorbinsav (AA) tartalomtól



**23. ábra:** Az ARA érték függése az L-aszkorbinsav (AA) tartalomtól vörös növényi színanyagot tartalmazó minták esetében





# Konklúzió

- Az analizált gyümölcsök közül a fekete ribizli, a meggy, a fekete eper, a homoktövis és a josta mutatott kiemelkedően nagy antioxidáns aktivitást.
- A módszer két modifikációjával mért eredmények nem adnak szignifikáns különbséget. Mind a két módszer modifikáció egyaránt alkalmazható a gyakorlatban.
- A vörös – lila színanyagok nem befolyásolják szignifikánsan az eredményeket.
- Az ARA az L-aszorbinsavval magas korrelációt mutat.

# Képek forrása:

- 1. ábra:  
[https://hu.wikipedia.org/wiki/Szabad\\_gy%C3%B6k%C3%B6k#/media/File:Free-radicals-oxygen.jpg](https://hu.wikipedia.org/wiki/Szabad_gy%C3%B6k%C3%B6k#/media/File:Free-radicals-oxygen.jpg)
- 2. ábra: <http://vismegoldas.hu/taplalkozas/antioxidansok/>
- 5. ábra:  
[https://www.researchgate.net/post/DPPH\\_Antioxidant\\_assay\\_Method\\_Development2](https://www.researchgate.net/post/DPPH_Antioxidant_assay_Method_Development2)

*Köszönjük a figyelmet!*