

A SZAMÓCA, MINT GYÓGYNÖVÉNY

Szakedolgozat
Biológia alapszak, biológus szakirány

Készítette:
Nagy Gábor Zsolt

Témavezető:
Dr. Preininger Éva
Adjunktus

Növény szervezettani Tanszék

Eötvös Loránd Tudományegyetem
Természettudományi Kar
Biológiai Intézet



Budapest
2010

Tartalomjegyzék

| | |
|---|----|
| 1. Bevezetés | 3 |
| 2. A fenoloidokról általában | 4 |
| 3. A szamóca hatóanyagai és azok biológiai hatása a növényre | 6 |
| 4. A szamóca flavonoid, fenoloid és antocianin beltartalma és ezek eloszlása a növény egyes részeiben, fajták összehasonlítása..... | 11 |
| 5. Gyógynövényi vonatkozások, ember számára hasznos tulajdonságok | 19 |
| 6. In vitro sejt- és szövettenyésztési technikák | 22 |
| 7. Következtetések | 27 |
| 8. Összefoglalás | 28 |
| 9. Summary | 29 |
| 10. Köszönetnyilvánítás | 30 |
| 11. Irodalomjegyzék..... | 31 |

1. Bevezetés



Kedves szamóca! téged
Én, - én az isteneknek
S az istenasszonyoknak
Tennélek asztalára.
Sőt csak beszélni tudnál
És csókot adni, mindjárt
Hasonlatos lehetnél
A Lilla ajjakához.

(Csokonai Vitéz Mihály: A szamóca)

A szamóca a legismertebb és legnagyobb mennyiségben termesztett bogyós gyümölcs. Kelet-Ázsiából származik, de feltételezhetően a vadon élő szamócát már az őseink is gyűjtötte, fogyasztotta. Az Európában ismert szamóca a virginiai és chilei szamócák keresztezéséből született.

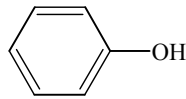
Az élelmiszeripar számtalan módon felhasználja ezt az üde, kellemes ízű gyümölcsöt: torta, joghurt, pálinka, szörp, lekvár, fagyalt és turmix is készíthető belőle. Ami még fontosabb, napjainkra a modern gyógyászat középpontjába került. Olyan fontos hatóanyagokat tartalmaz, melyek kulcsát jelenthetik modern civilizációs betegségek gyógyításának. A szamóca legfontosabb hatóanyagai közé soroljuk a fenoloidokat, antocianinokat, ellágsavat. Ezek az anyagok hozzásegítik a növényt, hogy alkalmazkodni tudjon a különböző környezeti hatásokhoz (pl. UV sugárzás, fagy stressz), de a szaporodásban is nagy jelentőségük van. Ami számunkra is kedvező, hogy az emberi szervezetre is pozitív hatással vannak. Példaként hozhatjuk fel tumoros betegségek gyógyítását, a szervezetben keletkező szabadgyökök megkötését és a fájdalomcsillapító hatást is.

Szakterületemben arra vállalkozom, hogy betekintést nyújtsak ezen sokoldalú gyümölcs titkaiba. Az elmúlt évtizedekben leírt irodalom segítségével próbálok rávilágítani, milyen hatóanyagok találhatók meg a szamócában, ezek milyen hatással vannak a növényre és emberre, valamint, hogy ezt a gyógyászatban miként lehet felhasználni. Továbbá írok arról is, hogy a modern tudomány milyen módon próbálja a szamócánál elérni, hogy ezen kincset érő hatóanyagokat még nagyobb mennyiségben állítsa elő a külső környezeti tényezőktől (évszakok váltakozása, szélsőséges klíma) függetlenül.

2. A fenoloidokról általában

A növények életük során számos szerves anyagot állítanak elő. Ezeket két nagy csoportra lehet bontani: primer és secunder anyagcseretermékek. A primer metabolitok növények felépítéséhez és működéséhez szükségesek. A secunder metabolitok közvetlenül nem vesznek részt a növény növekedésében és fejlődésében, de fokozhatják annak rátermettségét, elősegítik a környezethez való alkalmazkodást. A növények életében betöltött szerepük változatos: védelmül szolgálhatnak növényevő állatokkal és mikroorganizmusokkal szemben, szerepük lehet a beporzásban is a pollinátorok csalogatásával, jelmolekulaként szolgálnak más szervezetekkel történő interakciókban, védelmet biztosíthatnak az UV fényvel szemben, azáltal, hogy a növényekben fellelhető változatos pigmentek elnyelik a mutációt okozó káros sugarakat.

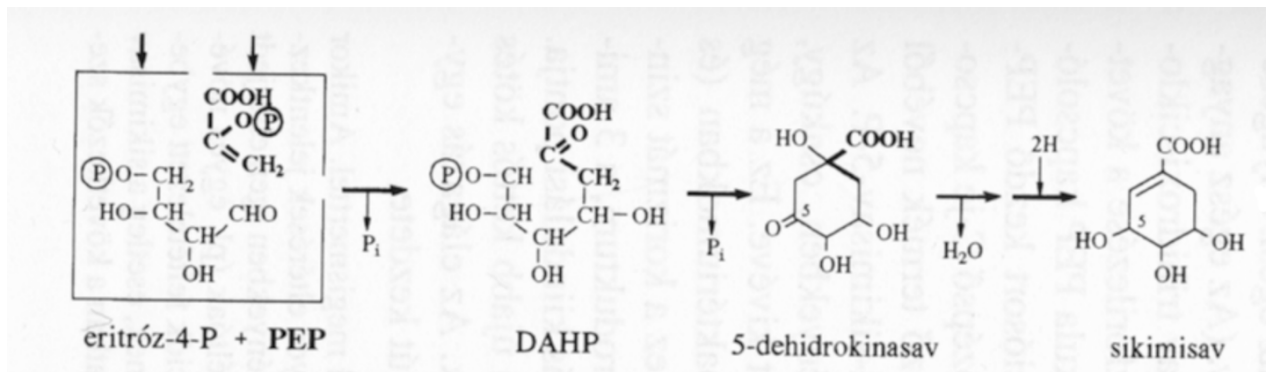
A másodlagos anyagcseretermékek egyik legnagyobb csoportját a fenoloidok és származékaik képviselik. A csoport általános jellemzője, hogy fenolcsoportot és az aromás gyűrűn funkcionális hidroxil csoportot tartalmaznak (1. ábra)



1. ábra

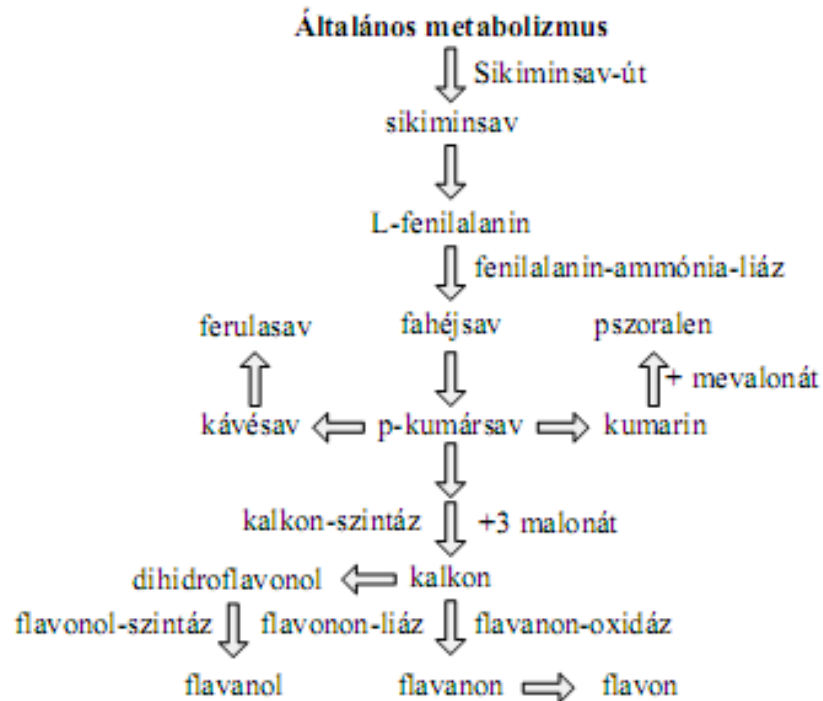
A fenoloidok kémiaiailag igen heterogén vegyületek, egyesek szerves oldószerekben oldódnak, mások vízdékonyak és vannak nem oldódó fenol polimerek is. A fenoloidok bioszintézise két fő útvonalon valósulhat meg: egyik a sikimisav út, másik a malonsav út. A sikimisav út a növényekre jellemző.

A sikimisav keletkezését a 2. ábrán követhetjük nyomon:



2. ábra: A sikimisav keletkezése (Láng, 1998)

A sikimisav bioszintézis út biztosítja az aromás aminosavak, így a fenilalanin és a tirozin szintézisét is, amely prekuzora a flavonoidoknak (3. ábra). A malonsav bioszintézis út a baktériumokra és gombákra jellemző.



3. ábra: Fenoloidok szintézisének általános útvonala

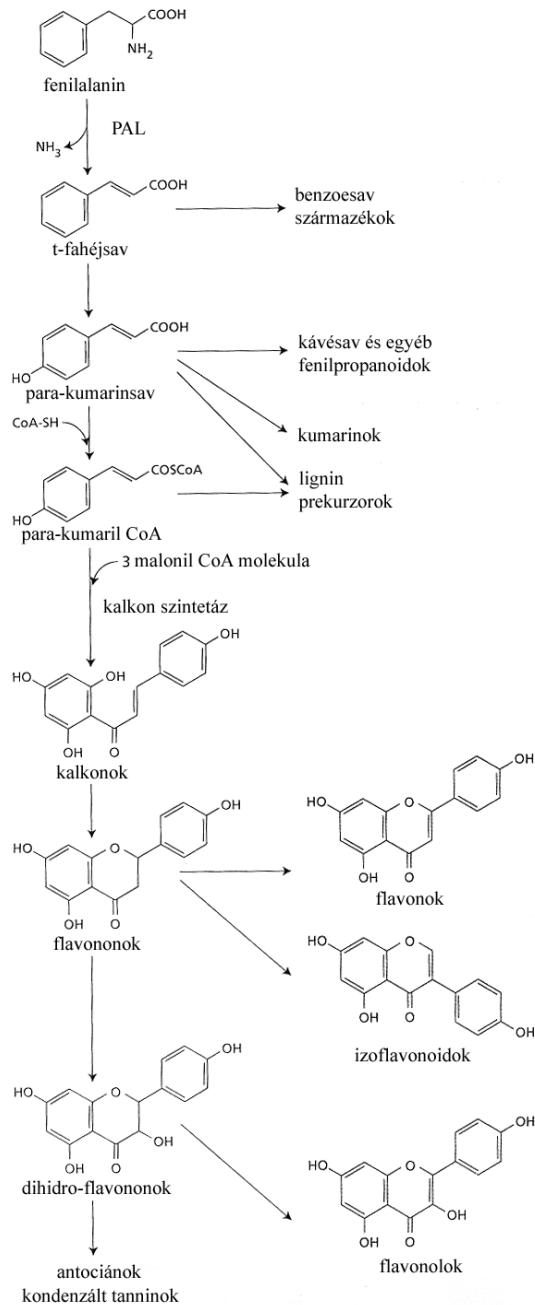
A fenoloid bioszintézis két kulcsenzime a fenilalanin-ammónia-liáz (PAL) és a kalkon-szintáz (CHS). A PAL feladata az ammónia molekula eltávolítása a fenilalaninból, míg a CHS kalkonokat alakít ki. A bioszintézis során ammónia-liázok közreműködésével elsőként az aminocsoport eltávolítása történik meg, s így keletkeznek az első fenilpropánsavak, a fahéjsav-származékok (cinnamoidok): fahéjsav, p-kumársav, kávésav, ferulasav, lorigénsav.

A fenoloidok polimerizálódhatnak, metileződhetnek, ezen felül sokféle glikozidjuk létezik. Így jönnek létre a fehérjekicsapó sajátosságú polifenolok, cserzőanyagok (Pozsgainé, 2008).

A fenoloidokat 7 anyagosztályba tudjuk besorolni: pimer pifenoloidok, aromás intermedierek, cinnamoidok, poliketid cinnamoidok (pl flavonoidok), degradatív átalakulási termékek, poliketid-benzoidok, fenoloid kinonok.

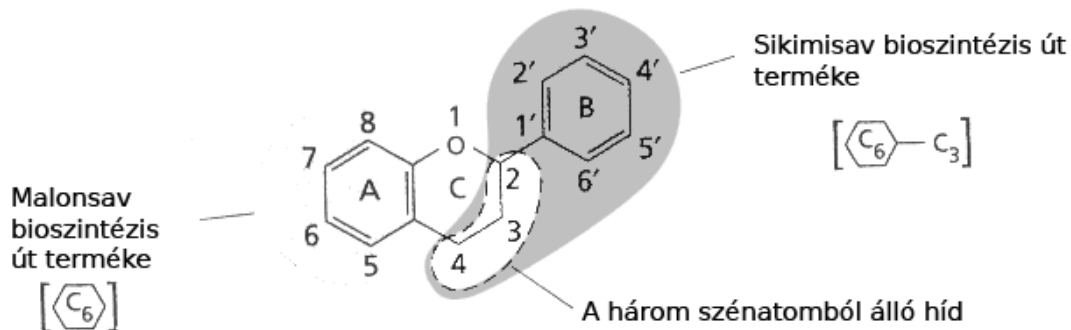
3. A szamóca hatóanyagai és azok biológiai hatása a növényre

A szamócában legnagyobb mennyiségben a flavonoidok találhatóak meg, melyek a fenoloidok poliketid cinnamoidok csoportjába tartoznak. A flavonoidok csoportjába sorolhatjuk mindazokat az oxigéntartalmú heterociklusos vegyületeket és a velük szerkezeti izomer nyíltláncú származékokat, amelyek difenil- propán vázat ($C_6-C_3-C_6$) tartalmaznak (Hahlbrock, 1981). Bioszintézisük fenilalaninból indul ki (4. ábra).



4. ábra: Fenoloidok bioszintézise fenilalaninból

A szerkezet két bioszintetikus út eredménye, ahol az „A” gyűrű malonsav eredetű, a „B” gyűrű és a három szénatomos híd („C” gyűrű) a sikimisav útvonal terméke (5. ábra).



5. ábra: A flavonoidok szénváza

A flavonoidok különböző csoportokba sorolhatók a C_3 híd oxidációjának mértéke alapján. Ezek a flavanonok, a flavonok, a flavonolok, az antocianinok és az izoflavonoidok. Jellemző rájuk, hogy a növényi sejtekben vakuólumokban vagy kromoplasztiszokban halmozódnak fel.

A különböző flavonoidok azonosítására és elválasztására sokféle technikát dolgoztak ki. Ilyen például a HPLC, vékonyréteg kromatográfia, fluoreszcens kromatográfia, gázkromatográfia, mágneses rezonancián alapuló spektrometria (Havsteen, 2002)

Flavanonok, flavonok, flavonolok

A főbb hatóanyagok melyeket a gyógyászatban és kutatásokban felhasználnak: a flavonolok (pl. quercetin, kaempferol), fenolsavak (pl. ellágsav), melyek nagy mennyiségben vannak jelen a szamócában. (Hakkinen és mtsai, 1996)

A flavanonok a kalkonokból a kalkon-izomeráz enzim segítségével származtathatóak, a legtöbb növényben a flavonoid bioszintézis köztes termékeként fordulnak elő. Belőlük alakulnak tovább a flavonolok és az antocianinok. A flavonolok a 3-as szén atomon hidroxil csoportot tartalmaznak. Virágokban és gyümölcsökben fordulnak elő kopigmentként, de általánosan megtalálhatóak a levelekben, szárban és a gyökérben. Flavonolok közül a quercetin és kaempferol, myricetin, flavonolok közül pedig a catechin a legjellemzőbbek.

A flavonok és a flavonolok gyakran a levelek epidermisz rétegében is nagy mennyiségben felhalmozódnak. Ennek az a magyarázata, hogy elnyelik a káros UV-B sugarakat és így megvédik a növényt a káros sugárzástól (Robberecht és Caldwell, 1978).

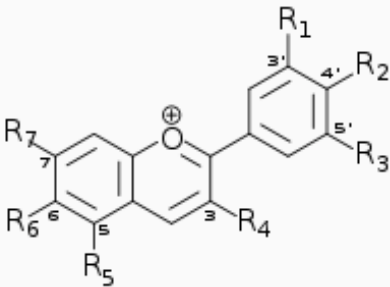
A molekulák fényelnyelő tulajdonsága a virágszirmokban is jelen van, azonban itt más funkciót tölt be. Különböző mintázatokat alakítanak ki a szirmokon, melyek a megporzást végző rovarokat hozzásegítik a nektár és a pollen megtalálásához (McCrea és Levy, 1983). A pillangós növények gyökereiken keresztül flavonokat és a flavonolokat juttatnak a talajba, melyek kémiai szignálkként segítik a *Rhizobium*- növény szimbiotikus kapcsolat kialakítását (Hartwig és mtsai, 1991).

A flavonoidok szerepe a növény életében rendkívül fontos, számos életfunkcióra hatással vannak. A színek, illatok kialakításában, valamint a környezettel való kommunikációban alapvető fontosságúak. A pollinátorok (madarak, rovarok, emlősök) könnyebben megtalálják a növényt jellegzetes színe és illata alapján, ezáltal növelve a magok szétterjedésének lehetőségét. A növény növekedését is befolyásolják a flavonoidok. A mezőgazdaság szempontjából ez azért fontos, mert ezáltal lehetőség nyílik növénytermesztésre olyan területeken is, ahol a növény számára kedvező körülmények csak rövid ideig tartanak (Havsteen, 2002). A flavonoidok gátlóan is hathatnak a növényre. A fotofoszforilláció során a quercetin gátolja az energia transzportot, ezáltal a fotoszintézist (Mukohataetal.,1978; Cantley & Hammes,1976).

A katechin gyűjtőneve a 3-hidroxi-flaván különböző szén atomokon, hidroxilcsoporttal helyettesített származékainak. Színtelen, kristályos vegyületek. A legtöbb növényben észter formájában vannak jelen. A katechinek különböző növényi cserzőanyagok kiindulási anyagai. Bőr-cserzésre azért alkalmazhatóak, mert vizes oldatban főzéskor nagy molekulású kolloidokká alakulnak át.

Antocianinok

A színes flavonoidok legjellegzetesebb csoportja az antocianinok, amelyek a karotinoidokkal együtt a virágok és a gyümölcsök fő színező komponensei, de a növények levelei is tartalmazhatják. Mintegy 260, a természetben előforduló antocianint írtak le (Harborne, 1991). Az antocianinok két különböző elemből épülnek fel. Az egyik egy antocianidin (6. ábra), ami már eleve is színes, és az antocianidinhez egy vagy két cukorrész kapcsolódik. A szénhidrátok az antocianidinhez glikozidkötéssel kapcsolódnak (Furka Árpád, 2002).

| Anthocyanidin | Basic structure | R ₁ | R ₂ | R ₃ | R ₄ | R ₅ | R ₆ | R ₇ |
|---------------|---|-------------------|----------------|-------------------|----------------|-------------------|----------------|-------------------|
| Aurantidin |  | -H | -OH | -H | -OH | -OH | -OH | -OH |
| Cyanidin | | -OH | -OH | -H | -OH | -OH | -H | -OH |
| Delphinidin | | -OH | -OH | -OH | -OH | -OH | -H | -OH |
| Europinidin | | -OCH ₃ | -OH | -OH | -OH | -OCH ₃ | -H | -OH |
| Luteolinidin | | -OH | -OH | -H | -H | -OH | -H | -OH |
| Pelargonidin | | -H | -OH | -H | -OH | -OH | -H | -OH |
| Malvidin | | -OCH ₃ | -OH | -OCH ₃ | -OH | -OH | -H | -OH |
| Peonidin | | -OCH ₃ | -OH | -H | -OH | -OH | -H | -OH |
| Petunidin | | -OH | -OH | -OCH ₃ | -OH | -OH | -H | -OH |
| Rosinidin | | -OCH ₃ | -OH | -H | -OH | -OH | -H | -OCH ₃ |

6.ábra: Jellegzetes antocianidinek és szerkezeti felépítésük

(<http://en.wikipedia.org/wiki/Anthocyanin#Structure>)

Az antocianinok közé tartozik például a cianin, amelynek antocianidin része cianidin, és a cianidin a 3-as és az 5-ös helyzetű hidroxilcsoportjával létesít kötést két molekula glükózzal.

Ha stresszhatás éri a növényt, akkor antocianin akkumulálódik bizonyos szervekben és segíti a túlélést. Ilyen folyamat játszódik le ősszel a levelek színesedésével, UV-sugárzásra adott válaszként, hideghatásra és talajfagyok esetén, patogén támadás esetén, számos ásványi anyag hiányakor vagy mechanikai károsodás esetén. Ősszel, amíg zöld a levél, antocián nincs jelen egészen addig, amíg a növény nem kezdi el lebontani a klorofillt. Ekkor a növény antociánt kezd szintetizálni, hogy az védelmet nyújtson a káros sugarak ellen (Hrazdina, 1982).

Legalább 7 különböző faktor szükséges a pigmentáció kialakulásához, ezek a pH, az aglikon természete, a glikozidáció mértéke, a fémekkel alkotott komplex milyensége, az antocianin koncentráció, a cukor és pektintartalom, tanninnal és más fenollal való kapcsolódás. Az antocianinok és antocianidinek fenolos hidroxil csoportja miatt amfoter jellegű vegyületek és színük pH függő. Ha a pH 3 vagy kevesebb, akkor piros színű, ha a pH 8 vagy magasabb, akkor ibolyaszínű lesz az adott növényi rész. Az antocianinoknak a sejtnedv kémhatásától függően változó színe eredményezi a virágszirmok változatos színét is. A szirmok színárnyalatait leginkább a társpigmentek jelenléte befolyásolja. Ide tartoznak a sárga színű flavonok, illetve a kalkon- és kinonszármazékok. Összefüggés tapasztalható az

antocianinok fényelnyelése és az állatok szemérzékenysége között. Az antocianinoknak fényelnyelése a látható tartományban 520- 560 nm között van, mely értéktartomány megegyezik az állatok szemének érzékenységével. Tehát a virágok színárnyalatai nagyban hozzájárulnak a megporzáshoz és a termések szétterjesztéséhez (Harborne, 1991)

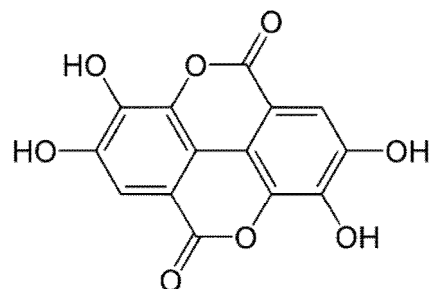
Tanninok

A tanninok olyan fenol polimerek, melyek a növény védekező mechanizmusában vesznek részt. Megtalálhatóak a levélben, a szárban és a gyümölcsben is. Elsőként tanninoknak nevezték azokat a vegyületeket, melyek segítségével a nyers állati bőrt cserzéssel kikészítették. Ennek lényege a tanninok fehérjékkel létrehozott kereszt kötése (Schmidt és Mayer, 1956). Általában a növények vakuólumaiban halmozódnak fel, gyakran az epidermiszben szövetben koncentrálnak. Savakkal és lúgokkal kezelve cukor komponensekre és fenolkarbonsavakra esnek szét. A tanninok két csoportja ismert: a kondenzált és hidrolizáló tannin. A kondenzált tannin flavonoid egységekből polimerizálódik. A kondenzált tanninok erős savval antocianidinekre hidrolizálhatók, ezért proantocianidineknek is nevezik őket. A hidrolizáló tannin (a gallotannin és az ellagitannin) a sikimisav bioszintézis út intermedierjéből (dehidrosikimisav) származik.

A növény számára azért hasznosak ezek a vegyületek, mert antimikrobiális hatásúak, valamint egyes növényevő rovarok és állatok ellen is hatékonyak (Lewis és Yamamoto, 1989). A tannin hozzákötődik a növényevők emésztő enzimeikhez és inaktíválja azokat, ezáltal nem tudja megemészteni a növényt. (Okuda és mtsai, 1989).

Ellágsav

Az ellágsav egy polifenol antioxidáns. Növények termelik és tannin formában raktározzák el, amit ellagitanninnak neveznek. Ezek a formák glikozidok, melyek könnyen hidrolizálhatók, így visszanyerhetjük az ellágsavat (7.ábra). Nagy mennyiségben megtalálható szamócában, málnában és a gránátalmában.

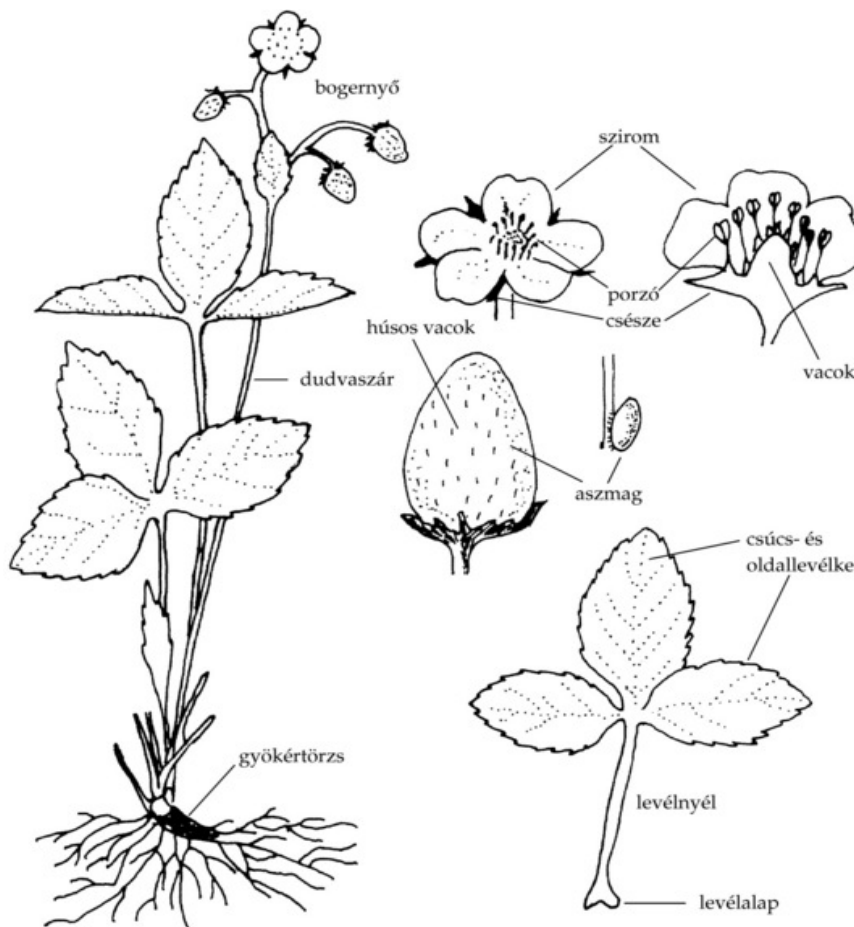


7.ábra: Ellágsav képlete

4. A szamóca flavonoid, fenoloid és antocianin beltartalma és ezek eloszlása a növény egyes részeiben, fajták összehasonlítása

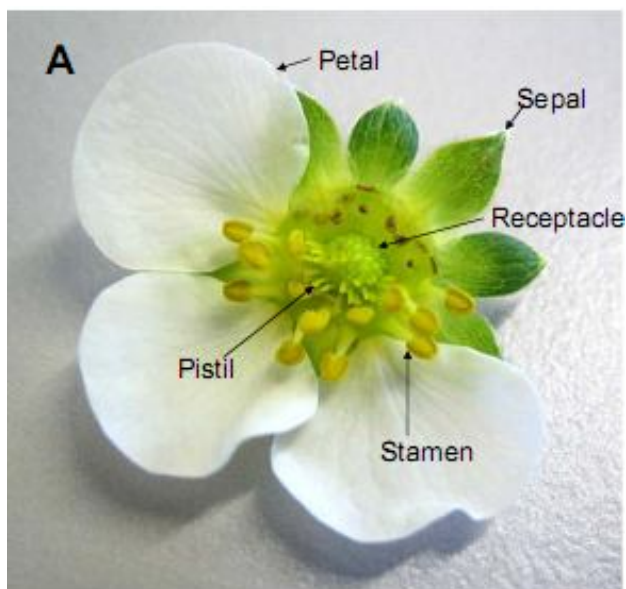
A szamóca termésének szárazanyag-tartalma viszonylag alacsony. Átlagosan 88-92% vizet, 6-8% cukrot, 0,8-1,1% szerves savat, 1,2-1,5% cellulózt, 40-80 mg C-vitamint és jelentős mennyiségű, 0,5-0,6%-nyi ásványanyagot, főleg káliumot, kalciumot, foszfort, magnéziumot és vasat tartalmaz, de jelentős a réz, a cink, a kobalt, a króm, a mangán és a nikkeltartalma is (Papp és Porpáczy, 1999). A szamóca növény vegetatív részeit is figyelembe véve az alábbi másodlagos anyagcseretermékek jellemzők: a gyökérben triterpének, cserzőanyagok, a levélben citromsav, quercetin, kempferol, ellágsav és antocianin, a gyümölcsben pedig az ízt és állapotot adó cukor, pektin, szerves sav és aromaanyag mellett különböző flavonoidok, antocianinok is megtalálhatók. (Heinz és Hoppe, 1975)

Változatos eloszlást mutat a növény egyes részeinek ellágsav tartalma is. A legnagyobb mennyiséget a levélben találjuk, majd a magban és legkisebb mennyiség a gyümölcshúsban van. Az éretlen gyümölcs több ellágsavat tartalmaz, mint az érett. (Maas és mtsai, 1991)



8. ábra: A szamócanövény részei

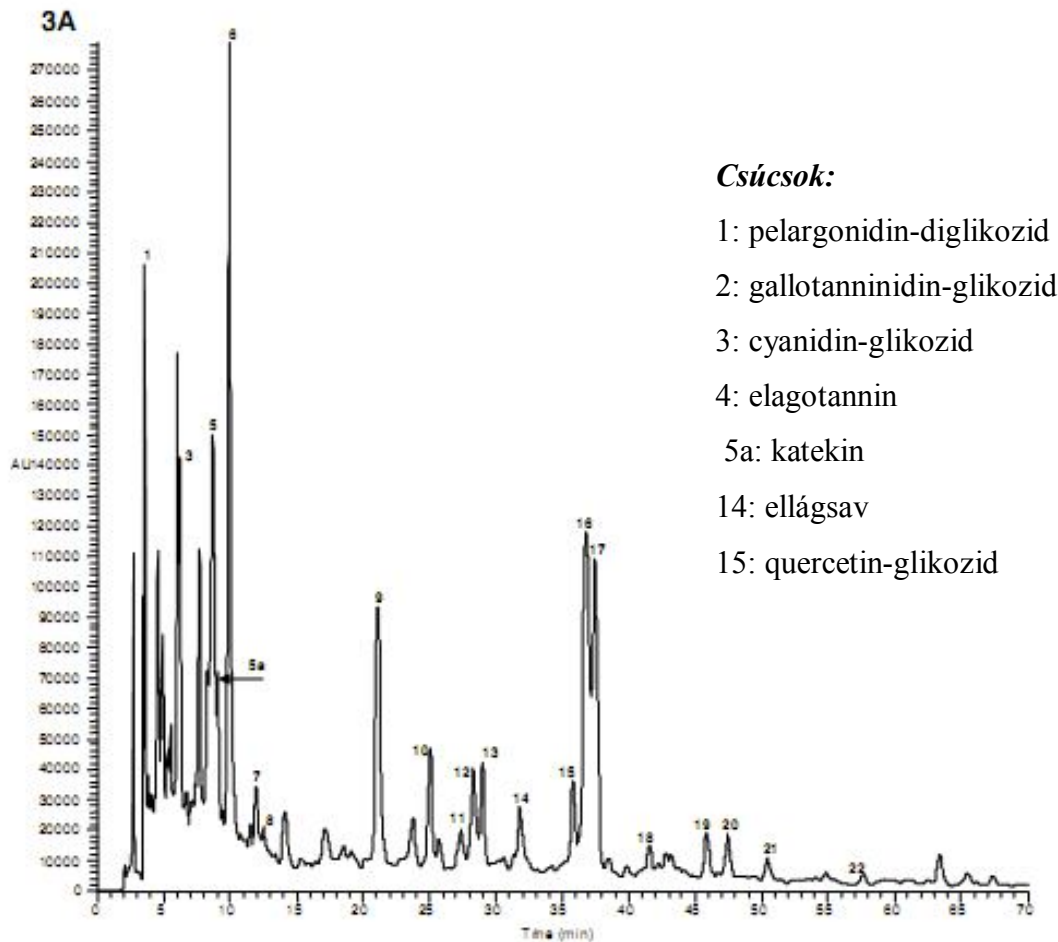
A virágok fontos feladata a pollinátorok odacsalogatása a növényhez az élénk szín és jellegzetes illat segítségével. A szíromlevelekben általában nagy mennyiségben találunk antocianinokat és ezek segéd pigmentjeit (flavonok, flavonolok), melyek a szirmok különböző színárnyalatát alakítják ki (Nielsen és mtsai, 2005; Fukui és mtsai, 2003). A szamóca virágában a különböző hatóanyagoknak jellegzetes térbeli elhelyezkedését figyelhetjük meg. A virágban kimutatott metabolitok legnagyobb része ellagitanninok, melyek mind az öt fő virágalkotóban (szíromlevél, csészelevél, porzó, bibe, vacok) akumulálódnak eltérő mennyiségben. A szíromlevelekben legalacsonyabb, a bibében pedig a legmagasabb az ellagitannin tartalom. Míg a proantocianidinek főként a vacokban és a csészelevelekben, addig a fenolsavak és flavonolok a szíromlevelekben mutathatók ki legnagyobb mennyiségben. Összehasonlítva a quercetin és a kaempferol eloszlását, a következőt tapasztaljuk: a quercetin a csészelevelekben és a porzóban, a kaempferol pedig a csésze- és szíromlevelekben dominál. (Hanhineva és mtsai, 2008)



9. ábra A szamóca virágának felépítése
(Hanhineva és mtsai, 2008)

A fehér szamócában (*Fragaria chiloensis* ssp *chiloensis* form *chiloensis*) a következő arányokat mutatták ki HPLC-DAD–ESI-MS módszer segítségével: gyümölcsben 12, rhizómában 18, levelekben 18 féle fenolszármazék van. A rhizóma és a levelek jó forrásnak bizonyultak antioxidáns kapacitás szempontjából (Simirgiotis és Hirschmann, 2010).

A növény hatóanyag tartalmának mérésére különböző technikákat fejlesztettek ki az elmúlt évtizedekben. Két fő csoportot különböztetünk meg: kvalitatív (minőségi) és kvantitatív (mennyiségi) vizsgálatok. A hatóanyag tartalom mérés legismertebb technikái a következők: spektrofotometria, magas nyomású folyadék kromatográfia (HPLC) különböző típusai (HPLC-DAD, HPLC-UV, PLC-PDA, HPLC-MS), folyékony kromatográfias elektropray ionizációs tömegspektroszkópia (LC-ESI-MS). Ezen mérések eredményét kromatogrammon (10. ábra) szokás ábrázolni. (Seeram, 2006)



10. ábra: LC-ESI-MS módszerrel készített kromatogram a szamóca termésében levő fenolszármazékokról (Seeram, 2006)

A különböző szamóca fajok és fajták hatóanyagtartalma eltérő értékeket mutat. Simirgiotis és mti (2009) kísérletében 2 vad típust (*F. chiloensis form chiloensis* és *F. chiloensis form patagonica*) és egy termesztett fajtát (*Fragaria x ananassa 'Chandler'*) hasonlítottak össze. A két vad típusban előforduló domináns flavonol és antocianin vegyületek azonosak voltak. A legmagasabb antocianin tartalma a termesztett fajtának volt, míg az

ellágsav a két vad típusnál volt kiemelkedően magas (1. táblázat). A quercetin és kaempferol értékek hasonlóak mindhárom esetben

A antioxidáns hatás mértéke korrelációt mutat az összantocianin értékekkel, melyek értelmében a termesztett fajtának legnagyobb a szabadgyökfogó aktivitása (Simirgiotis és mtsai, 2009).

1. táblázat A fontosabb fenolszármazékok különböző szamóca alfajok és fajták gyümölcsében (mg/100g friss tömegre vonatkoztatva) (Simirgiotis és mtsai, 2009)

| Összetevő | F. chiloensis form. chiloensis | F. chiloensis form. patagonica | Fragaria x ananassa cv. Chandler |
|-----------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|----------------------------------|
| Teljes antocianin tartalom | 2,20 | 22,53 | 27,90 |
| Szabad ellágsav | 5,91 | 1,85 | 0,54 |
| Quercetin | 0,83 | 0,56 | 0,90 |
| Kaempferol | 0,95 | 1,08 | 0,86 |
| Teljes flavonoid tartalom | 1,78 | 1,64 | 1,76 |

Az egyes szamócafajták közti különbséget több kísérlet is alátámasztja. Az alábbiakban Brazíliában (2, 3. táblázat) és Finnországban termesztett (4. táblázat) szamócafajták eltérő beltartalmi értékei láthatók.

2. táblázat Szabad és teljes ellágsav tartalom (mg/100 g friss tömegre vonatkoztatva) különböző szamócafajtákban. (Pinto és mtsai, 2008)

Free and total ellagic acid (EA) contents (mg/100 g sample FW) of the strawberry cultivars

| Cultivar | Free EA | Total EA |
|---------------|--------------------------|-------------------------|
| Piedade | 0.61 ± 0.05 ^a | 19 ± 1 ^a |
| Oso Grande | 2.22 ± 0.05 ^b | 28 ± 2 ^b |
| Sweet Charlie | 0.75 ± 0.02 ^c | 24.7 ± 0.5 ^c |
| Camp Dover | 1.3 ± 0.1 ^d | 32 ± 1 ^b |
| Dover | 2.60 ± 0.05 ^e | 47 ± 1 ^d |
| Camarosa | 2.2 ± 0.1 ^b | 42 ± 1 ^e |
| Toyonoka | 1.05 ± 0.04 ^f | 17 ± 2 ^a |

Values are expressed as means ± SD for triplicates. Means in the same column with common letters are not significantly different ($p < 0.05$).

3. táblázat Flavonoid tartalom (mg/100 g friss tömegre vonatkoztatva) különböző szamócafajtákban. (Pinto és mtsai, 2008)

Flavonoid compositions and contents (mg/100 g sample FW) of strawberry cultivars

| Constituent | Cultivar | | | | | | |
|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|-------------------------|--------------------------|--------------------------|
| | Piedade | Oso Grande | Sweet Charlie | Camp Dover | Dover | Camarosa | Toyonoka |
| <i>Anthocyanins</i> | | | | | | | |
| Pelargonidin derivatives | 34.9 ± 0.8 ^a | 17.0 ± 0.2 ^b | 29 ± 2 ^c | 11.9 ± 0.2 ^d | 22.8 ± 0.6 ^e | 43 ± 2 ^f | 18 ± 1 ^b |
| Cyanidin derivatives | 0.85 ± 0.04 ^a | 2.1 ± 0.2 ^b | 0.31 ± 0.02 ^c | 0.54 ± 0.03 ^d | 1.1 ± 0.1 ^e | 1.2 ± 0.1 ^e | 1.3 ± 0.1 ^e |
| <i>Flavonols</i> | | | | | | | |
| Quercetin derivatives | 1.21 ± 0.04 ^a | 2.8 ± 0.1 ^b | 2.27 ± 0.04 ^e | 3.1 ± 0.1 ^d | 3.3 ± 0.1 ^d | 2.7 ± 0.2 ^b | 4.4 ± 0.2 ^e |
| Kaempferol derivatives | 0.60 ± 0.04 ^a | 1.02 ± 0.02 ^b | 0.58 ± 0.02 ^a | 0.77 ± 0.02 ^c | 2.3 ± 0.1 ^d | 0.79 ± 0.03 ^c | 1.11 ± 0.05 ^b |
| <i>Flavanols</i> | | | | | | | |
| Catechin | 3.0 ± 0.4 ^a | 2.8 ± 0.6 ^a | n.d. | 5.7 ± 0.1 ^b | 2.7 ± 0.3 ^a | n.d. | 3.3 ± 0.5 ^a |
| Epicatechin | 2.1 ± 0.2 ^a | 1.4 ± 0.2 ^b | n.d. | 2.0 ± 0.2 ^a | 2.2 ± 0.2 ^a | n.d. | 2.2 ± 0.1 ^a |
| Total Flavonoids | 42.7 ± 0.6 ^a | 27.1 ± 0.5 ^b | 32 ± 1 ^c | 24.0 ± 0.4 ^d | 34.4 ± 0.6 ^e | 48 ± 2 ^f | 30 ± 2 ^c |

Values are expressed as means ± SD for triplicates. Means in the same column with common letters are not significantly different ($p < 0.05$).

A teljes ellágsav tartalomnak (átlagosan 30 mg/100 g) csak kis része a szabad ellágsav (átlagosan 1,5 mg/100 g) (2. táblázat). A katekin értéke nem ingadozik ilyen nagy mértékben, 2,8 és 5,7 között mozog. A teljes flavonoid tartalmat tekintve elmondhatjuk, hogy viszonylag nagy eltérések vannak az egyes fajták között, ugyanis a mért értékek 24 és 48 mg/100 g között mozognak. A 'Camp Dover' fajta esetében mérték a legalacsonyabb antocianin és teljes flavonoid értéket, ugyanakkor a legmagasabb összflavanol tartalmat. A 'Dover' fajtának a legmagasabb az ellágsav tartalma, de az antocianin és összflavonoid értékek is viszonylag magasak. Elmondható tehát, hogy az azonos földrajzi helyen és éghajlati körülmények között termesztett szamócafajták beltartalmi értékei között nagy eltérések mutathatók ki (Pinto és mtsai, 2008)

4. táblázat: Flavonol és fenolsav tartalom (mg/100g friss tömegre vonatkoztatva) különböző Finnországban termesztett szamócafajtákban (Hakkinen és Torronen, 2000)

Contents of flavonols and phenolic acids (mg/100 g fresh weight, mean±S.D. of duplicate assays) in strawberry cultivars cultivated by conventional or organic (OR) techniques in eastern Finland in 1997^a

| Sample | Kaempferol | Quercetin | Ellagic acid | p-Coumaric acid | Total |
|-----------------|------------|-------------|--------------|-----------------|-------------|
| 'Senga Sengana' | 0.6±0.00a | 0.3±0.01a | 39.6±2.3a | 1.7±0.03a | 42.1±2.2a |
| 'Korona' | 0.4±0.06a | 0.4±0.06a,b | 45.9±1.3b | 0.9±0.21a,b | 47.6±1.2a,b |
| 'Bounty' | 0.4±0.01a | 0.4±0.11a,b | 50.4±0.5b | 1.5±0.04a | 52.7±0.7b |
| 'Polka' | 0.5±0.08a | 0.4±0.02b | 51.7±6.9b | 1.6±0.27a | 54.2±6.5b |
| 'Polka'-OR | 0.5±0.11a | 0.3±0.00a,b | 51.3±0.0b | 2.1±0.08a,c | 54.2±0.3b |
| 'Jonsok' | 0.2±0.02b | 0.3±0.01a | 52.2±2.2b | 1.7±0.01a | 54.4±2.2b |
| 'Jonsok'-OR | 0.5±0.10a | 0.3±0.08a,b | 58.6±0.4c | 1.6±0.10a | 61.1±0.1c |
| 'Honeoye' | 0.9±0.13c | 0.5±0.04b,c | 46.7±3.7b | 4.1±0.96d | 52.2±2.5b |
| 'Honeoye'-OR | 0.9±0.06c | 0.5±0.06b,c | 48.3±0.2b | 3.7±0.31d | 53.4±0.5b |

^a Values for the same column marked by the same letter/letters are not significantly different at $P < 0.05$.

A Finnországban termesztett szamócafajtáknál is megfigyelhetők különbségek. A kaempferol tartalomban akár 4-szeres eltérés is előfordul ('Jonsok' és 'Honeoye' között). Az ellágsav tartalom ezekben a fajtákban is messze a legmagasabb. Ha összehasonlítjuk a finnországi szamócafajtákat a braziliai szamócafajtákkal, megállapíthatjuk, hogy a finnországiakban az ellágsav tartalom jóval magasabb értékeket mutat. Ez esetlegesen az éghajlathatásának tudható be, bár mivel nem azonos fajtákról van szó, lehet ez is a genotípusok közti variabilitás eredménye.

A 'Senga Sengana' szamócafajtát Lengyelországban és Finnországban is termesztik. Ha összehasonlítjuk a növényeket, azt tapasztaljuk, hogy egy ország különböző termőhelyein mért értékek között nincs igazán különbség. De ha a két különböző országból származó egyedeket nézzük, ott már van eltérés, pl. a kumársav a finn szamócákban dupla mennyiségű, mint a lengyel egyedekben. A szamócák szántóföldi termesztésében érdekes módon a műtrágyázás alkalmazása nem befolyásolja a fenoloidok mennyiségét (Hakkinen, Torronen, 2000).

A hatóanyagok mennyiségét és működését a környezeti körülmények jelentősen befolyásolják. Ha hosszabb ideig (7-9 hónap) fagyasztással, -20 °C-on tároljuk a szamóca termését, akkor a következő változásokat tapasztalhatjuk: a quercetin tartalom megnövekszik, míg a kaempferol mennyisége lecsökken, sőt egy idő után már nem is mérhető. Az ellágsav fagyponthoz alatti hőmérséklet hatására lassú ütemben, de elkezd csökkenni és 9 hónap után az eredeti mennyiség csupán 60%-a mutatható ki. (Hakkinen, Torronen, 2000).

Wang és mtsai több gyümölcs és zöldség termésének antioxidáns kapacitásának vizsgálata során a szamócában kapták messze a legnagyobb értéket (5. táblázat). A mérésekhez ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity) eljárást alkalmaztak. A vizsgálat során összekeverünk biológiai mintát, szabadgyök képzőket és fluoreszcens molekulákat, mint például a beta-phycoerythrin vagy fluorescein. A szabadgyök képzők általában azo-iniciátor vegyületek, melyek rendelkeznek egy R-N=N-R' csoporttal, ahol R és R'' lehet aril vagy alkil csoport.

5. táblázat: Különböző gyümölcsök (és zöldség termékek) antioxidáns kapacitása
(Wang és mtsai, 1996)

| Termés | Teljes ORAC (friss tömeg) | Teljes ORAC (száraz tömeg) | ORAC kinyert lé |
|------------------|------------------------------|-------------------------------|--------------------|
| Szamóca | 15 | 150 | 12 |
| Szilva | 9 | 80 | 8 |
| Narancs | 7 | 50 | 7 |
| Szőlő, vörös | 7 | 36 | 4 |
| Kiwi | 6 | 36 | 6 |
| Grapefruit, pink | 5 | 48 | 5 |
| Szőlő, fehér | 5 | 26 | 3 |
| Banán | 2 | 9 | 2 |
| Alma | 2 | 13 | 2 |
| Paradicsom | 2 | 38 | 2 |
| Körte | 1 | 10 | 1 |
| Dinnye | 1 | 13 | 1 |

A szabadgyök képzők peroxil-gyököket képeznek, melyek roncsolják a fluorszcens molekulákat, így azok vesztenek fluoreszkáló tulajdonságukból. Azt mérik, hogy a fluorezcens molekuláknak milyen mértékű az oxidatív degradációja. Az antioxidánsok képesek megvédeni ettől a roncsolódástól a fluorezcens molekulákat. Tehát minél nagyobb a minta antioxidáns kapacitása, annál kevésbé csökken a fluorezcencia, ami fluoriméterrel regisztrálható (Cao és mtsai, 1993).

A méréseket kétféle mintával végezték. A teljes termést, valamint a kinyert gyümölcs- és zöldséglevet vizsgálták. Minkét esetben azt kapták, hogy a szamócában messze a legnagyobb az ORAC aktivitás. A teljes termést nézve a szamóca után sorban a következő gyümölcs, a szilva, mindössze fele arányú antioxidáns értékkel rendelkezik, a többi termés még ennél is jóval kisebb értékeket mutat (Wang és mtsai, 1996).

Hatóanyag tartalom módosítása

A szamócában sokféle hatóanyag megtalálható. A kutatások sok esetben arra irányulnak, hogy ezek valamelyikét a növény nagyobb mennyiségben termelje. A körülmények megváltoztatása (pH, CO₂, hőmérséklet) negatívan vagy pozitívan befolyásolja ezen hatóanyagok mennyiségét. Az egyik ilyen tényező a levegő CO₂ tartalma. Eltérő CO₂ koncentrációk mellett (10, 20, 40 %) vizsgálták 10 napig változásokat. Lecsökkent a légzési aktivitás valamint az etilén termelés. A megemelt CO₂ hatására a szamóca termés külső része elhalványodott, míg kontrol körülmények közt (normál levegő) a szín élénkpiros maradt.

A fenoltartalmat ugyancsak befolyásolja a szén-dioxid koncentráció. Újabb fenol vegyületek jelentek meg vagy a meglévők mennyisége változott meg a kezdeti állapothoz képest. Tíz nap elteltével a quercetin és a kaempferol nagyobb mennyiségben volt jelen, mint a kezdetekkor. Az ellágsav mennyisége megnövekedett, mely az elagitanninok degradációjával magyarázható. A p-Coumaroylglucose esetében is növekedés volt megfigyelhető. Antocianin tekintetében eltérő változásokat tapasztaltak. A külső szövetrétegekben nem változott az antocianin tartalom, míg a belső szövetrétegekben érzékelhetően csökkent (Gil és mtsai, 1997).

5. Gyógynövényi vonatkozások, ember számára hasznos tulajdonságok

A zöldségekről és gyümölcsökről évezredek óta tudja az emberiség, hogy tartalmaznak olyan anyagokat, melyek hozzájárulnak az egészséges élethez, gyógyító hatásúak, bizonyos betegségek megelőzhetőek rendszeres fogyasztásuk által. A szamóca számtalan másodlagos anyagszertermékkal rendelkezik, ami nemcsak a növénynek hasznos, hanem az emberi szervezet számára is pozitív hatásokkal rendelkezik.

A növény áldásos hatását már régóta ismerik, hiszen a népgyógyászatban gyakran használták és használják napjainkban is. A szamócának gyümölcsét és levelét használják fel. A vitamintartalmat tekintve igen jelentős mennyiségű C-vitaminnal rendelkezik, ami fontos szerepet játszik a sejtek biokémiai folyamataiban és elősegíti a vas felszívódását a bélrendszerből (Ursel, 2004). A szamóca levelét (néha a gyümölcssel együtt) kiszárítják, majd főzetet készítenek belőle, amit meg lehet inni, de külső borogatásként is használható. A főzet elkészítése a következő módon zajlik: 3 dl forró vízzel leforrázunk 1 teáskanálnyi szárított, apróra vágott szamócalevelet, majd negyedóra elteltével leszűrjük. A növény gyökeréből is készíthető tea, de ebben az esetben fele mennyiségű porított gyökeret használunk (Szabó és Lopes-Szabó, 2008). E főzetnek étvágygerjesztő, tisztító-, vizelethajtó-, érösszehúzó és gyulladáscsökkentő hatást tulajdonítanak, továbbá hasmenés, sárgaság és bélhurut esetén is hatásos gyógyírként szolgál (Koethe, 2008; Varró, 2006).

Különböző kutatások igazolták, hogy a benne levő hatóanyagok immunerősítő és gyulladáscsökkentő hatásúak, valamint gátolják a daganatok növekedését. Nemcsak a betegségek orvoslását, hanem megelőzését is segíti a szamóca. Példaként hozható a szív- és érrendszeri problémák megelőzése vagy az erek közötti vérrögök kialakulásának gátlása (Hakkinen és mtsai, 1999, Sauvaget és mtsai, 2004)

A szamócában található fő hatóanyagok: flavonoidok, ellágsav, antocianinok. Ezeknek fontos élettani hatásai vannak. Molekuláris vizsgálatok és sejttenyészeteken végzett kísérletek azt igazolják, hogy ezek a hatóanyagok mennyire fontos szerepet játszanak a biokémiai háztartásunkban, és a jelenleg még súlyos, sokszor gyógyíthatatlan betegségek jövőbeli gyógyításának alapjait jelenthetik. Ezekre szeretnék néhány példát hozni.

A **fehérvérűség (leukémia)** a vérképző rendszer rosszindulatú megbetegedése, amikor a csontvelőben a vérsejtképzés (leggyakrabban a fehérvérsejteké) folyamata kórossá válik, és korlátlan sejtburjánzás kezdődik el (Tsagarakis és mtsai, 2010). A szamócának bizonyos alkotóelemei (quercetin, kaempferol) rendelkeznek gyulladáscsökkentő és rákellenes hatással. A hatásuk abban nyilvánul meg, hogy indukálják a leukémiás sejtek apoptózisát. A hatásmechanizmus 3 kulcseleme a sejt mitokondriális membránja, a caspase-3 enzim, és a DNS fragmentáció. Quercetin, kaempferol hatására depolarizálódik a mitokondriális membrán, így eltűnik a membránpotenciál (Green és Reed, 1998), a caspase-3 aktivitása nagymértékben megnő, és nagyfokú DNS fragmentáció következik be (Cohen,1997; Earnshaw és mtsai,1999; Janicke és mtsai,1998). A quercetin és kaempferol hatása már 24 óra elteltével érzékelhető a sejteken, tehát tapasztalhatók az indukált sejthalál első fázisai. Ezáltal lehetőség nyílik a kóros sejtek elburjánzásának megakadályozására (Zuhino és mtsai, 2009).

A **prosztatarák** a férfiakat sújtó betegség. A prosztatában kialakult daganatos sejtek megjelenését, elburjánzását jelenti, mely a szerv kóros megnagyobbodásához vezet. A betegséget nehéz felismerni, mert kezdetben nem okoz tüneteket, csak egy bizonyos stádium elérése után (JNCI Cancer Spectrum, 2001). A hormon rezisztens prosztatarák gyógyításában az ellágsav antioxidáns és rákellenes hatását próbálják felhasználni. A kemoterápia az egyetlen lehetőség napjainkban a prosztatarák kezelésére. Ez sok betegnél fájdalmat és a sejtek toxikus károsodását eredményezi. Az ellágsav meggátolja a karcinogén molekulák hozzákötődését a DNS-hez valamint elindítja a sejtek apoptózisát, és megakadályozza a már kialakult rákos sejtek terjedését valamint további tumorsejtek proliferációját (Falsaperla és mtsai, 2005).

Az **emlőrák** az emlő sejtjeiből kiinduló daganatos megbetegedés. Leggyakrabban az emlő mirigyszövetéből, illetve a tejutak falát bélelő hámszövetből kiinduló rosszindulatú daganat (American Cancer Society, 2007). A rákos sejtek túlburjánzása összefügg a kromoszóma végein található telomerrel és a telomeráz enzim működésével. A telomer a kromoszómát alkotó DNS-szál két végén található rövid, többszörösen ismétlődő szakasz, mely megakadályozza a kromoszómavégek összetapadását, továbbá sejtosztódáskor védi a DNS-t a rövidülések káros hatásaitól. A telomeráz enzim a sejtosztódást követően újra és újra kiegészíti a csonkolódott telomer szakaszt, ezáltal megakadályozza a sejtek elöregedését. A rákos sejtekben a telomeráz szabályozatlanul működik, ezáltal eredményez sejtburjánzást. Az ellágsav kihat a hTERT (humán telomeráz reverz transzkriptáz) gén expressziójára, mely a telomeráz enzimet szabályozza, meggátolja a hTERT expresszióját.

Tehát az ellágsav megfelelő módon alkalmazva meggátolja a rákos sejtek növekedését, továbbá indukálja ezen sejtek apoptózist (Strati és mtsai, 2009).

A **nyelőcsőrakkal** kapcsolatos kutatásokban is kimutatták az ellágsav preventív és gyógyító hatását egyaránt. Sőt a rákkutatásban eddig használt quercetinél jóval hatékonyabbnak bizonyult mind a DNS-hez való kötődés, mind a sejtekben való felhalmozódás tekintetében (Whitley, 2003).

A szamócában található hatóanyagok közül a flavonoidoknak kiemelkedő szerepe van. Több betegség kapcsán vizsgálták már a flavonoidok hatását és szinte kivétel nélkül azt tapasztalták, hogy pozitív hatásuk van, és gyógykezelések alapjául szolgálhatnak a jövőben. Ilyen betegségek a magas vérnyomás, magas koleszterin szint, diabetes mellitus, allergia és asztma, ér- és keringési betegségek, ischaemia (sejtek oxigénhiányos állapota), gyomorfekély, reumás panaszok, Alzheimer kór, sebgyógyítás. Szájműtéteknél régóta alkalmazzák, ugyanis helyi érzéstelenítő hatásúak. Ödéma kialakulásakor a felesleges vizet elszívják a megduzzadt szövetekből és a vérbe juttatják. Stresszhelyzetben befolyásolják a stresszhormonok bioszintézisét, így elősegítve a szervezet gyorsabb és hatékonyabb reagálását. A flavonoidoknak fontos szerep jut a bakteriális, gombás, vírusos fertőzések elleni küzdelemben. Egyrészt elpusztítják baktérium/gomba sejteket, másrészt a toxinok hatását gátolják. A születésszabályozás egyik lehetséges módját jelenti a flavonoidok alkalmazása. A flavonoidok gátolják a megtermékenyített petesejt beágyazódását, továbbá gátolják a hyaluronidáz enzimet a spermában, mely a petesejtbe való bejutáshoz szükséges.

Tehát a flavonoidok sokoldalú hatóanyagok, melyek jótékony hatását egyre több helyen alkalmazzák az orvostudományban, ugyanis antioxidáns, szabadgyök fogó, enzimgátló, antimikrobiális hatásúak, valamint gének expresszióját is elősegítik (Havsteen, 2002)

6. In vitro sejt- és szövettenyésztés

Az intakt növény által termelt hatóanyagok a laboratóriumban előállított *in vitro* sejt- és szövetkultúrákban is képződnek. Ez azért lehetséges, mert a soksejtű növény minden élő sejtje teljes értékű, totipotens, vagyis teljes génkészlettel, genetikai és biokémiai potenciállal rendelkezik és megfelelő körülmények mellett képes lehet önálló fejlődésre.

Az *in vitro* növényi rendszerek fontosságát és hasznosságát a következő pontokban lehet összefoglalni (Vozár, 2006):

- A kérdéses növényi faj védett vagy kihalófélben lévő, s így az ipari feldolgozáshoz szükséges mennyiség nem biztosítható
- A kérdéses növény a trópusokon él és a beszerezhetősége nem mindig garantált
- A stresszhatásra a sejt-kultúra nagyságrendekkel több hatóanyagot termel, mint az intakt növény
- A kérdéses hatóanyag csupán a sejttenyésztésben képződik különböző biogén és abiogén elicitorok hatására
- A szuszpenziós kultúrák bioreaktorokban ellenőrzött és optimalizált körülmények között tenyészthetők egész évben, tehát nincs holtidény a kísérletekben
- Bioreaktorokban a hatóanyag külső feltételektől (időjárás, kórokozók, stb.) függetlenül végezhető

Számos publikáció foglalkozik az antociánok számoça szövettenyésztésekben történő képződésével. Kimutatták, hogy a számoça növény különböző részeiből létrehozott kallusz- és szuszpenziós kultúrák, beleértve a gyümölcset is, képesek antocianinok termelésére (Mori és mtsai, 1994, Mori és mtsai, 2001).

A szövettenyésztés során sterilizált növényi inokulumot helyezünk táptalajra, amely tartalmazza az összes szükséges tápanyagot, ásványi sót, vitamint és hormonokat. Ilyen mesterséges körülmények között először primer kallusz fejlődik (11. ábra), majd azt leválasztva és átoltva a szekunder kallusz rendszeres passzálásokkal hosszú ideig fenntartható (12. ábra). A kallusztenyésztés általában kiinduló anyaga a sejtsuszpenziós kultúráknak (13. ábra), de sok esetben a kallusztenyésztéssel végzik a kísérleteket. A kallusztenyésztés növekedését befolyásolhatjuk azzal, hogy variáljuk a tápanyagok összetételét, leginkább a növényi hormonok mennyiségét és arányát.

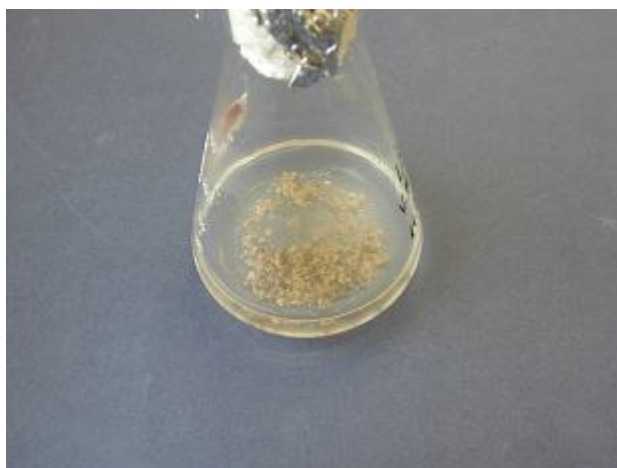


11. ábra: LS közegen, sötétben nevelt primer kallusz (készült az ELTE Növény szerzettani Tanszékén)



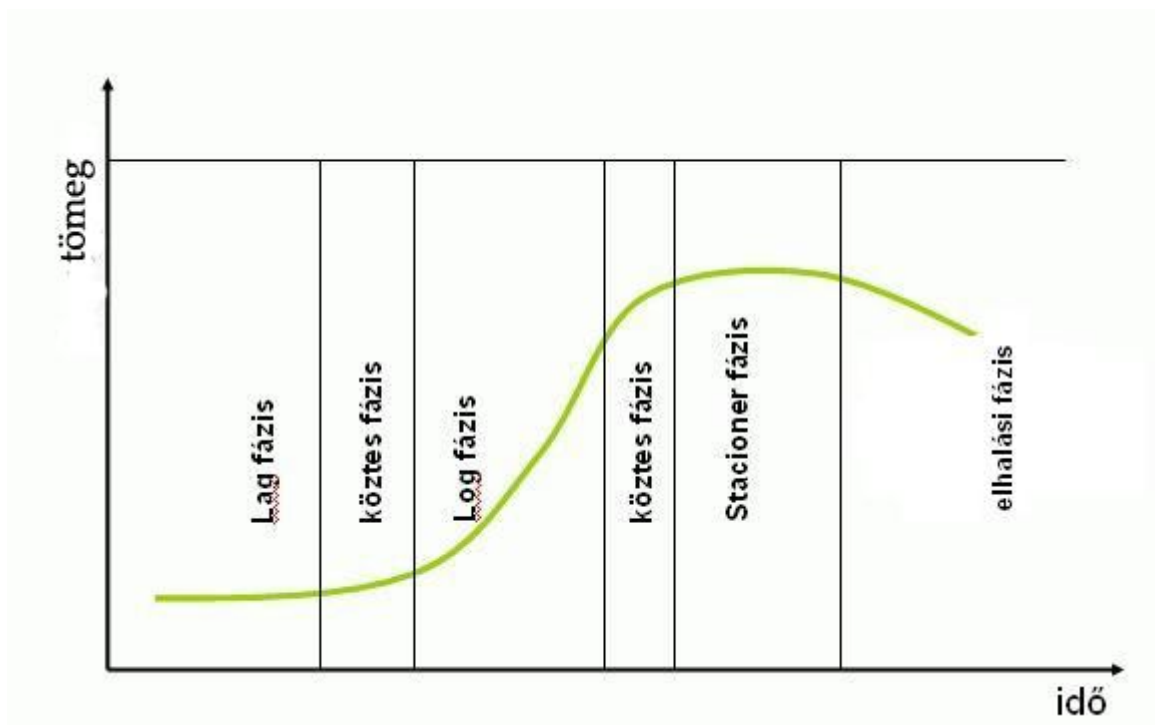
12. ábra Fényen nevelt szamóca kallusz, LS közegen fenntartva (készült az ELTE Növény szerzettani Tanszékén)

A sejtosztódás gyakorisága és a sejtek hatóanyagtermelése általában fordított arányú, azaz az intenzíven gyarapodó tenyészet kevés hatóanyagot termel, mert a termelés a sejtek differenciáltsági szintjétől jelentős mértékben függ. Ha például a 2,4-diklórfenoxi ecetsav (2,4-D) kis koncentrációban van jelen a tápközegben, a csökken a sejtosztódás mértéke, ugyanakkor megnő a sejtek antocianin termelése (Nakamura és mtsai, 1998).



13. ábra LS közegen, sötétben nevelt szuszpenzió (készült az ELTE Növény szerzettani Tanszékén)

Sok növény esetében a kallusz kultúra akkor kezd el másodlagos metabolitokat termelni, amikor az exponenciális növekedési fázisból a stacionárius fázisba lép (14. ábra). Szamócánál az antocianin termelése már a lag fázisban és az exponenciális növekedés fázisban is jellemző. Stacionárius fázisban a szamóca sejtek újabb másodlagos metabolitokat (lignin, kumarin) termelnek, melyek gátolják az antocianin produkcióját



14. ábra: A sejtek növekedési görbéje

(http://www.tankonyvtar.hu/site/upload/2008/09/images_abrak_abra_003.jpg)

A táptalajhoz adott riboflavin és emelt szacharózmennyiség ugyancsak mérhető változásokat okoznak. A riboflavin hatására lassul a sejtosztódás, míg az antocianin termelés fokozódik. Négy mg/l riboflavin koncentráció esetén 8 nap elteltével háromszorosára nőtt az antocianin termelés a kontroll tenyészetéhez képest. Ha együttesen alkalmazták a riboflavint és a megemelt mennyiségű szacharózt, még nagyobb mértékű növekedést tapasztaltak 8 nap után: 4 mg/l riboflavin + 5% szacharóz esetén 10-szeres, 4mg/l riboflavin + 10% szacharóz esetén pedig 12-szeres antocianin akkumulációt mértek a kontrollhoz képest (Mori és Sakurai, 1995).

A legtöbb szamóca csak napfény vagy erős megvilágítás hatására képes előállítani az antocianint. Szövettenyésztés segítségével sikerült olyan sejtvonalat létrehozni (FAR), mely sötétben is termel antocianint nagy mennyiségben. Ha a FAR sejtvonal sejtjeit sötétben hagyjuk, akkor a 11. naptól kezdve jóval nagyobb sejttömeget hoz létre, mint a FAR-L, mely meg volt világítva (Nakamura és mtsai, 1999).

Az antocianinok termelésének fokozása a szövettenyészetekben

Egy adott kallusz sejtjei által termelt faktorok és anyagcseretermékek stimulálhatják vagy gátolhatják más növényfaj sejtenyészetének fiziológiás működését. Rózsa és szőlő (fehér és piros) sejtekből készült sejtenyészetek tartottak fenn 1 hétig, ezalatt az idő alatt a sejtek különböző faktorokat, anyagokat termeltek és bocsátottak ki a tápközegbe. Ha ebbe az úgynevezett kondicionált táptalajba oltottak pl. *Fragaria x ananassa* 'Shikinari' szamócafajtát és ebben nevelték 5 napig, jóval nagyobb mértékű az antocianin termelést tapasztaltak, mint a saját tápközegében (Mori és Sakurai, 1998). Megállapították azt is, hogy a stimuláló hatás koncentrációfüggő. Az első nap az antocianin termelés értéke 800 mg/g sejt volt, ami a piros szőlő értékének felel meg. Az 5. nap végére ugyanez az érték kb. a felére csökkent. Ennek valószínűleg az a magyarázata, hogy az első nap még sok volt a stimuláló faktor - amit a szőlő sejtenyészet termelt -, de az ötödik nap végére ezeket felvették a szamóca sejtek, így azok elfogytak az oldatból.

Az in vitro növényi sejtenyészetek egyik nagy előnye, hogy kontrollált körülmények között lehet tenyészeteket nevelni. A hőmérséklet (hirtelen) megváltoztatása fontos anyagcsere módosító hatással bír. *Fragaria x ananassa* 'Shikinari' szamócafajtát vizsgálták különböző hőmérsékleteken, 15-35 °C-os intervallumban. A biomassa növekedése 30°C-on érte el a maximumot. Az antocianin termelés viszont alacsonyabb hőmérsékleten, 20°C-on volt a legmagasabb. Ha 3 nap után hirtelen megváltoztatták a hőmérsékletet (pl. 30°C-ról

lecsökkentették 20°C-ra), a környezeti stressz - ebben az esetben a hőmérséklet változás - stimulálta a másodlagos anyagcseretermékek szintézisét. Azt tapasztalták pár napon belül, hogy minél nagyobb arányú volt a hőmérséklet csökkentés, annál több antocianin termelődött; 10°C csökkentésnél (30°C→20°C) négyszeresére növekedett a termelt antocianin mennyisége (Zhang és mtsai, 1997).

Az alfa fenilalanin prekuzora az antocianin bioszintézisének. Ha számóca sejtenyészethez alfa fenilalanint adunk, akkor azt tapasztaljuk, hogy a intenzívebbé válik az antocianin termelése a sejtekben. Edahiro és mtsai (2005) 81 százalékos antocianin termelés fokozódást tapasztaltak a prekuzor-kezelés nélküli kontroll tenyészetekhez képest.

7. Következtetések

Az elmúlt évtizedekben végzett kísérletek és kutatási eredmények rávilágítottak, hogy a szamócában található hatóanyagok új lehetőségeket nyitnak meg a modern gyógyászatban, orvostudományban. Több alapkutatás irányult különböző betegségek gyógyítására. A vizsgálatok eredményei bizakodásra adnak okot, ugyanis különféle daganatos megbetegedésnél (prosztatarák, emlőrák, nyelőcsőrák) mutatták ki, hogy a szamócában található fenoloidok, ellágsav olyan biokémia folyamatokat indítanak el, melyek eredménye a rákos sejtek pusztulása, daganat megszűnése. Ezen felbuzdulva érdemes lenne másféle rákos megbetegedéseknél is alkalmazni ezeket a terápiás kezeléseket, hátha ott is eredményes gyógyulás érhető el.

A kísérletekben vizsgálták, hogy a klíma, földrajzi elhelyezkedés, és faji- és fajta sajátosságok miként befolyásolják a különböző fenoloidok, tanninok és antocianinok mennyiségét szabadföldön termesztett szamócafajoknál. Az eredmények azt mutatják, hogy a fent említett tényezők nagymértékben befolyásolják a termelt másodlagos anyagcseretermékek mennyiségét és arányait. Ebből tehát az következik, hogy a megfelelő környezeti körülmények javításával (üvegház, mikorrhiza kapcsolatok, tápanyagpótlás, trágyázás, öntözés), esetlegesen új fajták létrehozásával növelhető a termelt hatóanyag mennyisége.

Alapvető probléma, hogy természetes körülmények között korlátozott, hogy mennyi szamócát tudunk termesztetni, így a hatóanyagok limitált mennyiségben állnak rendelkezésre. Így a jövőbeli kutatások fő kérdése: hogyan lehet fokozni a hatóanyagok mennyiségét? A megoldást a növényi sejtgyárak kialakítása jelenti, ahol is az intakt növényekre jellemző hatóanyagok a laboratóriumban előállított *in vitro* sejt- és szövetkultúrákban képződnek (Gyurján, 2009). Ezáltal szabályozott feltételek mellett jóval nagyobb mennyiségben állíthatunk elő szamóca sejteket, és különféle módon befolyásolhatjuk hatóanyag termelésüket. A következőkben felsorolt tényezők további vizsgálatával és az optimális értékek megtalálásával nagy eséllyel növelhető a termelt hatóanyag mennyisége:

- tápközeg hormontartalma
- tápközeg cukortartalma illetve cukor/hormon aránya
- tápközeg pH értéke
- fény, hőmérséklet és páratartalom változtatása
- különböző elicitorok alkalmazása
- prekursorok alkalmazása

8. Összefoglalás

A szamócára legjellemzőbb másodlagos metabolitcsoport a fenoloidok csoportja. A fenoloidok bioszintézise a sikimisav útnak nevezett reakciósoron zajlik. Több csoportra bonthatjuk a fenoloidokat: flavonok, flavanok, izoflavonoidok, neoflavonoidok, antocianinok. Ezek mindegyike a növények számára fontos biológiai hatású. Az epidermisz rétegben felhalmozódó flavonoidok az UV-B sugárzás 90%-át is képesek megkötni. Egyes flavonoidok allelopatikus hatásúak, s így gátolják a szomszédos növények csírázását illetve növekedését. Ezeken kívül növekedési inhibitoroként, rovarriasztóként is hatnak.

A szamócában a legjelentősebb flavonoidok az antocianinok és az ellágsav. Mindkettő nagy mennyiségben van jelen, azonban a különböző szervekben eltérő módon oszlanak meg. Fontos, hogy fajtánként is eltér ezen hatóanyagok mennyisége.

A flavonoidok élettani szerepe szereteágazó: immunerősítő, gyulladáscsökkentő hatásúak, gátolják a daganatok növekedését, csökkentik az asztma kialakulásának esélyét. Májvédő, vírus- és baktériumellenes hatásúak. Kedvező hatással vannak a szívre és az érrendszerre, gátolják a vérrög kialakulását, csökkentik a koleszterinszintet. A környezeti stressz, megerőltető munka, nem megfelelő táplálkozás növeli a relatív szabadgyökök termelődését a szervezetünkben, melyek károsan hatnak az egészséges sejtek működésére, károsítják a DNS-t, fehérjéket. A flavonoidok antioxidáns hatásúak, melyek beépítésével a mindennapi étrendbe számos betegség megelőzhető. Egyre több bizonyíték támasztja alá, hogy az antocianinok védenek a daganatok ellen, javítják az agyműködést és elősegítik a szív egészségét is.

Az ellágsav rákellenes hatású. Képes a glükózon keresztül a rákos sejtekhez kapcsolódni, és a hozzájuk való kötődés után apoptotikus módon azokat elpusztítani.

Az intakt növények által termelt hatóanyagok laboratóriumi körülmények között, *in vitro* sejt- és szövettenyészetekben is szintetizálódnak. A szamóca különböző részeiből létrehozott kallusz- és szuszpenziós kultúrák képesek antocianinok termelésére. Ez lehetőséget biztosít az adott hatóanyag nagyobb mennyiségű és évszaktól független előállítására. A kutatások fő célpontjában az adott hatóanyagtartalom növelése áll, melyek kulcsát jelenthetik modern civilizációs betegségek gyógyításának.

9. Summary

Strawberry is a well known fruit all over the world mainly used as fresh, delicious fruit. But due to secondary metabolites, it also possesses special therapeutic properties.

The main group of secondary metabolites produced by strawberry is the phenoloids. Their biosynthesis belongs to the shikimic acid pathway. Phenoloids can be divided into more groups: flavonols, flavanols, isoflavonoids, neoflavonoids, anthocyanins. All of these compounds have biological effects, the flavonoids, for example, which can be accumulated in the epidermis layer of the leaves protect the plant against UV-B irradiation.

The most important flavonoids of the strawberry are the anthocyanins and the ellagic acid. These metabolites are synthesized in big amount in the whole plant, but their distribution is various in the organs. The amount of these active substances is influenced by the climate and varies in the different species and cultivars.

Flavonoids possess many physiological effects: protection of the immune system, anti-inflammatory effect, inhibition of tumor cells, reduction the chance of asthma. They have favorable effects on heart, vascular system, in addition inhibit the formation of thrombus and reduce the level of cholesterol.

The modern, stressful lifestyle, inadequate diet increase the amount of free radicals which have harmful effects on the function of healthy cells, DNA, proteins. The flavonoids have antioxidant action. Sufficient input of flavonoids can prevent many troubles. More and more data confirm protecting effect of anthocyanins on tumors, stimulation of the cerebellum and enhancement of the human heart.

Ellagic acid has anti-cancer effect. It can connect to the cancer cell through a glucose molecule, destroying it by apoptosis.

Most of the compounds produced in the intact plants, can be synthesized by *in vitro* cell cultures. The callus- and cell suspension cultures are able to produce anthocyanins. This allows the production of the metabolites in high amount independently from the seasons. The main target of researches is to increase the production of secondary metabolites by *in vitro* cultures.

The strawberry is not only a popular fruit but also an important possibility for therapeutic purposes because it produces many important compounds, which can be key factors for healing of serious illnesses.

10. Köszönetnyilvánítás

Szeretnék köszönetet mondani Prof. Dr. Böddi Béla, tanszékvezetőnek, hogy BSc szakdolgozatomat az ELTE Növény szerzettani Tanszéken végezhettem el.

Köszönettel tartozom Dr. Preininger Éva adjunktus tanárnőnek, témavezetőmnek, hogy maximálisan segített, szakmailag támogatott szakdolgozatom elkészítésében.

Köszönöm barátnőmnek és lakótársaimnak, hogy mellettem álltak és türelmükkel, szeretetükkel segítették munkámat.

11. Irodalomjegyzék

1. **American Cancer Society**: What Is Breast Cancer?, 2007. September 26
2. **Cantley, L.C., & Hammes, G.G.** (1976). Investigation of quercetin binding sites on chloroplast coupling factor 1. *Biochemistry* 15, 1–8.
3. **Cao G, Alessio H, Cutler R** (1993). "Oxygen-radical absorbance capacity assay for antioxidants". *Free Radic Biol Med* 14 (3): 303–11
4. **Cohen, G.M.** (1997). Caspases: The executioners of apoptosis. *Biochemistry Journal*, 326, 1–16
5. **EAHIRO J., MASAYUKI NAKAMURA, MINORU SEKI, SHINTARO FURUSAKI**: Enhanced Accumulation of Anthocyanin in Cultured Strawberry Cells by Repetitive Feeding of L-Phenylalanine into the Medium
JOURNAL OF BIOSCIENCE AND BIOENGINEERING, No. 1, 43–47. 2005 DOI: 10.1263/jbb.99.043
6. **Earnshaw, W.C., Martins, L.M., & Kaufmann, S.H.** (1999). Mammalian caspases: Structure, activation, substrates, and functions during apoptosis. *Annual Review of Biochemistry*, 68, 383–424
7. **Falsaperla M., Giuseppe Morgiabi, Alfredo Tartaronec, Raffaele Arditoc, Giampiero Romano** : Support Ellagic Acid Therapy in Patients with Hormone Refractory Prostate Cancer (HRPC) on Standard Chemotherapy Using Vinorelbine and Estramustine Phosphate *European Urology* 47 (2005) 449–455
8. **Fukui, Y., Tanaka, Y., Kusumi, T., Iwashita, T., Nomoto, K.**, 2003. A rationale for the shift in colour towards blue in transgenic carnation flowers expressing the flavonoid 30,50-hydroxylase gene. *Phytochemistry* 63, 15–23.
9. **Furka Árpád** (2002): Szerves kémia
10. **Gil M., Deirdre M. Holcroft, and Adel A. Kader** Changes in Strawberry Anthocyanins and In Other Polyphenols in Response to Carbon Dioxide Treatments *J. Agric. Food Chem.* 1997, 45, 1662–1667
11. **Green, D.R., & Reed, J.C.** (1998). Mitochondria and apoptosis. *Science*, 81, 1309–1312.
12. **Gyurján I. (2009)** Növény-hatóanyag-technológia: növényi sejtgárak létrehozása a gyógyhatású anyagok termeltetésére. OTKA pályázat

13. **Hahlbrock**, K.: Flavonoids, in *Secondary Plant Products* (E. E. Conn, ed), Vol. 7 of *The Biochemistry of Plants* (P. K. Stumpf and E. E. Conn, eds), 425-456, Academic Press, New York, 1981.
14. **Hakkinen**, S., Mykkanen, H., Karenlampi, S., Heinonen, M., & Torronen, R. (1996). HPLC method for screening of flavonoids and phenolic acids in berries: phenolic profiles of strawberry and black currant. In J.T. Kumpulainen, & J.T. Salonen (Eds.), *Natural Antioxidants and Food Quality in Atherosclerosis and Cancer Prevention* (pp.298-300). Cambridge: Royal Society of Chemistry.
15. **Hakkinen**, S., Heinonen, M., Karenlampi, S., Mykkanen, H., Ruuskanen, J., Törrönen, R., Screening of selected flavonoids and phenolic acids in 19 berries (1999), *Food Res. Int.* 32, 345-353
16. **Hakkinen** S., A. Riitta Torronen: Content of flavonols and selected phenolic acids in strawberries and *Vaccinium* species in influence of cultivar, cultivation site and technique. *Food Research International* 33 (2000) 517-524
17. **Hanhineva** K., Ilana Rogachev, Harri Kokko, Shira Mintz-Oron, Ilya Venger, Sirpa Kärenlampi, Asaph Aharoni: Non-targeted analysis of spatial metabolite composition in strawberry (*Fragaria x ananassa*) flowers *Phytochemistry* 69 (2008) 2463-2481
18. **Harborne**, J. B., Flavonoid pigments, in *Herbivores: Their interactions with Secondary Plant Metabolites*, Vol. 1. (G. A. Rosenthal and M. R. Berenbaum, eds), 389-429, Academic Press, San Diego, CA, 1991.
19. **Hartwig**, U. A. and Phillips, D. A., Release and modification of nod-gene-inducing flavonoids from alfalfa seeds, *Plant Physiol.*, 95, 804-807 (1991).
20. **Havsteen**, (2002): The biochemistry and medical significance of the flavonoids, *Pharmacology & Therapeutics* 96(2002) 67-202
21. **Heinz, Hoppe**, *Drogenkunde* 8 Aufl-Berlin: de Gruyter, 1975
22. **Hrazdina**, G., Anthocyanins, in *The Flavonoids: Advances in Research* (J.B. Harborne and T.J. Mabry, eds.), 135-188, Chapman & Hall, London, 1982.
23. **Janicke**, R.U., Sprengart, M.L., Wati, M.R., & Porter, A.G. (1998). Caspase-3 is required for DNA fragmentation and morphological changes associated with apoptosis. *Journal of Biological Chemistry*, 273, 9357-9360.
24. **JNCI Cancer Spectrum**. Oxford University Press. December 19, 2001.
25. **Kothe** H.: 1000 gyógynövény, Pécs, Alexandra Kiadó, 2008,

26. **Láng** Ferenc (1998) *Növényélettan (A növényi anyagcsere)*, Egyetemi tankönyv, ELTE Eötvös Kiadó, Budapest
27. **Lewis**, N. G. and Yamamoto, E., Tannins-Their place in plant metabolism, in *Chemistry and Significance of Condensed Tannins* (R. W. Hemingway and J. J. Karchesy, eds.), 23-46, Plenum Press, New York, 1989.
28. **Maas**, J. L., Wang, S. Y., Galletta, G., J. (1991a). Evaluation of strawberry genotypes for ellagic acid, an antimutagenic and anticarcinogenic plant phenol. In: *The Strawberry Into the 21st Century*, A. Dale and J. J. Luby, editors. Timber Press. P. 115-117
29. **McCrea**, K. D., and Levy, M., Photographic visualization of floral colors as perceived by honeybee pollinators, *Am. J. Bot.*, 70, 369-375 (1983).
30. **Mori**, T. Sakurai, M.: Production of anthocyanin from strawberry cell suspension cultures; effects of sugar and nitrogen, *Journal of Food Science* vol. 59. No. 3. 588-593. (1994)
31. **Mori** T., Sakurai M.: Effects of riboflavin and increased sucrose on anthocyanin production in suspended strawberry cell cultures *Plant science* 110 (1995) 147-153
32. **Mori** T., Miei Sakurai: Conditioned medium from heterogeneous plants (rose and grape) on cell growth and anthocyanin synthesis of *Fragaria ananassa* *Biotechnology Letters*, Vol 20, No 1, January 1998, pp. 73–75
33. **Mori**, T. Sakurai, M. Sakuta, M. Effects of conditioned medium on activities of PAL, CHS, DAHP synthase (DS-Co and DS-Mn) and anthocyanin production in suspension cultures of *Fragaria ananassa*, *Plant Science*, 160, 355-360, (2001)
34. **Mukohata**, Y., Nakabayashi, S., & Higashida, M. (1978). Quercetin, an energy transfer inhibitor in photophosphorylation. *FEBS Lett* 85, 215–218.
35. **Nakamura** M., Minoru Seki, and Shintaro Furusaki: Enhanced anthocyanin methylation by growth limitation in strawberry suspension culture. *Enzyme and Microbial Technology* 22:404–408, 1998
36. **Nakamura** M., You Takeuchi, Kazuhiko Miyana, Minoru Seki Shintaro Furusaki: High anthocyanin accumulation in the dark by strawberry (*Fragaria ananassa*) callus *Biotechnology Letters* 21: 695–699, 1999
37. **Nielsen**, A.H., Olsen, C.E., Møller, B.L., 2005. Flavonoids in flowers of 16 *Kalanchoe blossfeldiana* varieties. *Phytochemistry* 66, 2829–2835.

38. **Okuda**, T., Yoshida, T. and Hatano, T., Ellagitannins as active constituents of medicinal plants, *Planta medica*, 55, 117-122 (1989).
39. **Papp, J. – Porpáczy, A.** : Szamóca, málna. Bogyósgyümölcsűek I., Mezőgazda Kiadó, Budapest, 1999.
40. **Pinto M. S.**, Franco Maria Lajolo, Maria Ine's Genovese: Bioactive compounds and quantification of total ellagic acid in strawberries (*Fragaria x ananassa* Duch.) *Food Chemistry* 107 (2008) 1629–1635
41. **Pozsgainé Harsányi Mónika**: ABIOTIKUS HATÁSOK KÉMIAI VIZSGÁLATA A KOCSÁNYOS TÖLGY (*QUERCUS ROBUR* L.) MAKK TÁROLÁSA ÉS KORAI ONTOGENEZISE FOLYAMÁN, Sopron, 2008
42. **Robberecht**, R. and Caldwell, M. M., Leaf epidermal transmittance of ultraviolet radiation and its implications for plant sensitivity to ultraviolet- radiation induced injury, *Oecologia*, 32, 277-287 (1978)
43. **Sauvaget**, C., Kasagi, F., Waldren, C. A., (2004) Dietary factors and cancer mortality among atomic-bomb survivors, *Mutat. Res.* 551, 145-152
44. **Schmidt**, O.T., and Mayer, W. (1956), *Natürliche Gerbstoffe*, *Angew. Chem.*, 68, 103-105.
45. **Seeram** N. P, Rupo Lee, H. Samuel Scheuller, David Heber: Identification of phenolic compounds in strawberries by liquid chromatography electrospray ionization mass pectroscopy, *Food Chemistry* 97 (2006) 1–11
46. **Simirgiotis** M., Guillermo Schmeda-Hirschmann: Determination of phenolic composition and antioxidant activity in fruits, rhizomes and leaves of the white strawberry (*Fragaria chiloensis* spp *chiloensis* form *chiloensis*) using *Journal of Food Composition and Analysis* (2008), doi:10.1016/j.jfca.2009.08.020
47. **Simirgiotis** M., Cristina Theoduloz, Peter D.S. Caligari, Guillermo Schmeda-Hirschmann: Comparison of phenolic composition and antioxidant properties of two native Chilean and one domestic strawberry genotypes. *Food Chemistry* 113 (2009) 377–385
48. **Strati** A., Zoi Papoutsis, Evi Lianidou, Paraskevi Moutsatsou: Effect of ellagic acid on the expression of human telomerase reverse transcriptase (hTERT) $\alpha+\beta+$ transcript in estrogen receptor-positive MCF-7 breast cancer cells, *Clinical Biochemistry* 42 (2009) 1358–1362

49. **Szabó Gy. és Lopes-Szabó Zs.:** A bükki füvesember gyógynövényei, Debrecen, Szabó György , 2008, ISBN 978-963-06-5111-0
50. **Tsagarakis** és mtsai (2010) Acute lymphoplasmacytoid dendritic cell (DC2) leukemia: Results from the Hellenic Dendritic Cell Leukemia Study Group, *Leukemia Research* 34 (2010) 438–446
51. **Ursel:** *Vitaminok és ásványi anyagok kézikönyve*, Budapest, Mérték Kiadó, 2004 ISBN 963-9519-57-X
52. **Varró** Aladár Béla (2006): *Gyógynövények gyógyhatásai*, Gyöngyös, Pallas antikvárium Kft
53. **Vozár M.** (2006) Fenoloidok akkumulációja és szintézisük fokozása *Fragaria x ananassa* (szamóca) *in vitro* szövettenyészetekben. Egyetemi szakdolgozat. ELTE
54. **Wang H**, Guohua Cao, and Ronald L. Prior: Total Antioxidant Capacity of Fruits *J. Agric. Food Chem.* 1996, 44, 701–705
55. **Whitley A.**, Gary D. Stoner, Michael V. Darby, Thomas Walle: Intestinal epithelial cell accumulation of the cancer preventive polyphenol ellagic acid—extensive binding to protein and DNA *Biochemical Pharmacology* 66 (2003) 907–915
56. **Zhang W**, Minoru Seki, Shintaro Furusaki: Effect of temperature and its shift on growth and anthocyanin reduction in suspension cultures of strawberry cells. *Plant science* 127 (1997) 207-214
57. **Zunino S**, David H. Storms, Yanjun Zhang, Navindra P. Seeram : Growth arrest and induction of apoptosis in high-risk leukemia cells by strawberry components *in vitro* *Journal of Functional Foods, Volume 1, Issue 2, April 2009, Pages 153-160*

Internetes hivatkozások:

- http://www.szepezold.hu/files/hobbi/Az%20erdei%20szam%C3%B3ca/SuperStock_1558-25322_resize.jpg
- <http://en.wikipedia.org/wiki/Anthocyanin#Structure>
- http://www.tankonyvtar.hu/site/upload/2008/09/images_abrak_abra_003.jpg