

## СЪДЪРЖАНИЕ НА ПОЛИФЕНОЛИ И АНТИОКСИДАНТНА АКТИВНОСТ НА ДОМАТИ, ОТГЛЕЖДАНИ ПРИ ОРАНЖЕРИЙНИ И ПОЛСКИ УСЛОВИЯ

Ана Атанасова<sup>a</sup>, Иванка Тринговска<sup>a</sup>, Петко Денев<sup>b</sup>, Даниела Ганева<sup>a</sup>,  
Станислава Грозева<sup>a</sup>, Мария Крачанова<sup>b</sup>

e-mail: ani76\_1976@abv.bg

<sup>a</sup> Институт по зеленчукови култури „Марица“, ул. „Брезовско шосе“ 32, 4003 Пловдив,  
България

<sup>b</sup> Институт по органична химия с център фитохимия - Българска Академия на Науките,  
Лаборатория по биологично активни вещества, бул. „Руски“ 132, 4000 Пловдив, България

## CONTENT OF POLYPHENOLS AND ANTIOXIDANT ACTIVITY OF GREENHOUSE AND FIELD GROWN TOMATOES

Ana Atanasova<sup>a</sup>, Ivanka Tringovska<sup>a</sup>, Petko Denev<sup>b</sup>, Daniela Ganeva<sup>a</sup>, Stanislava Grozeva<sup>a</sup>,  
Maria Krachanova<sup>b</sup>

<sup>a</sup> Maritsa, Vegetable Crops Research Institute 32 Brezovsko shose Str, 4003 Plovdiv, Bulgaria

<sup>b</sup> Institute of Organic Chemistry with Centre Phytochemistry-Bulgarian Academy of Sciences,  
Laboratory of biologically active substances 132 Ruski Blvd 4000 Plovdiv, Bulgaria

### ABSTRACT

The purpose of this study was to determine the content of total polyphenols, rutin, chlorogenic acid and antioxidant activity in fruits of tomato, grown under greenhouse and field conditions. Experimental work was carried out in 2012 with two tomato varieties, Alya and Plovdivska karotina, created at Maritsa VCRI, Plovdiv. The amount of total polyphenols was 20-46% higher in field grown tomatoes than the same varieties, grown in greenhouse conditions. A similar tendency was observed in the content of rutin and antioxidant activity measured by the *Oxygen Radical Absorbance Capacity* (ORAC) and *Hydroxyl Radical Averting Capacity* (HORAC). Therefore, it can be concluded that tomatoes, grown under field conditions have higher content of polyphenols and greater antioxidant activity, in comparison with the same varieties, grown in greenhouse. This proves that the growing conditions are one of the main factors determining the content of biologically active substances in fruits.

**Key words:** rutin, chlorogenic acid, HPLC, antioxidant activity

### Въведение

Доматите (*Solanum lycopersicum* L.) са една от основните зеленчукови култури, отглеждани в България. Те са ценен източник на антиоксиданти, от които най-добре проучени са ликопен,  $\beta$ -каротен и витамин С. През последните години учените насочват изследванията си и към друга голяма група вторични метаболити, синтезирани в растенията – полифенолите (Slimestad and Verheul, 2009). Антиоксидантното им действие се дължи на тяхната химична структура и най-общо се изразява чрез директно улавяне на свободните радикали, чрез прихващане на йони на преходните метали, които са катализатори на образуването на хидроксилни радикали или чрез инхибиране на дейността на ключови ензими, отговорни за продуцирането на оксиданти в организма (Aрак et al., 2007). Епидемиологични изследвания показват, че при повишена консумация на домати намалява рискът от различни видове заболявания на сърдечно-съдовата и дихателната система (Iwamura et al., 2010). Съдържанието на флавоноиди в плодовете на домати зависи основно от генотипа, но също така и от външните фактори като: температура, светлина, хранене на растенията и нападение от болести и неприятели (Slimestad and Verheul, 2009).

Полифенолният състав в плодовете на български сортове домати е слабо проучен, оскъдни са данните и за влиянието на условията на отглеждане върху натрупването на фенолни компоненти в тази култура.

Целта на настоящото проучване е да се определи съдържанието на общи полифеноли, рутин и хлорогенова киселина, както и антиоксидантната активност в плодове от два сорта домати, отглеждани при оранжерийни и полски условия.

### Материал и методи

*Растителен материал:* Експериментът е изведен през 2012 година в стоманено-стъклена оранжерия и при полски условия със сортове Пловдивска каротина (средно едри плодове, с маса на плода от 51 до 100 g) и Аля (тип „Чери“) на ИЗК „Марица“ – Пловдив.

*Подготовка на пробите за анализ:* Средна проба от 300-400 g доматени плодове в степен на пълна зрелост е лиофилизирана, стрита на блендер и съхранена при  $-20^{\circ}\text{C}$  до анализа.

*Екстракция на полифенолните компоненти:* Към 0.5 g лиофилизирана проба са прибавени 20 mL 80% ацетон. Извличането на фенолните компоненти е извършено на ултразвукова вана за 20 min при стайна температура.

*Определяне на общи полифеноли:* Общото количество на полифенолите е определено спектрофотометрично при дължина на вълната 765 nm по метода на Singleton and Rossi (1965).

*Определяне на индивидуални фенолни съединения в доматени плодове:* Хроматографското определяне е осъществено на система за високоефективна течна хроматография Agilent 1200 с UV-DAD детектор при дължина на вълната 320 nm и 365 nm. Използвана е мобилна фаза А 0,5% оцетна киселина, В: метанол, рН-2.7, в условия на градиентно елуиране.

*Oxygen Radical Absorbance Capacity – ORAC метод:* Използван е методът, разработен от Ou et al. (2001) с някои модификации, описани подробно от Denev et al. (2010).

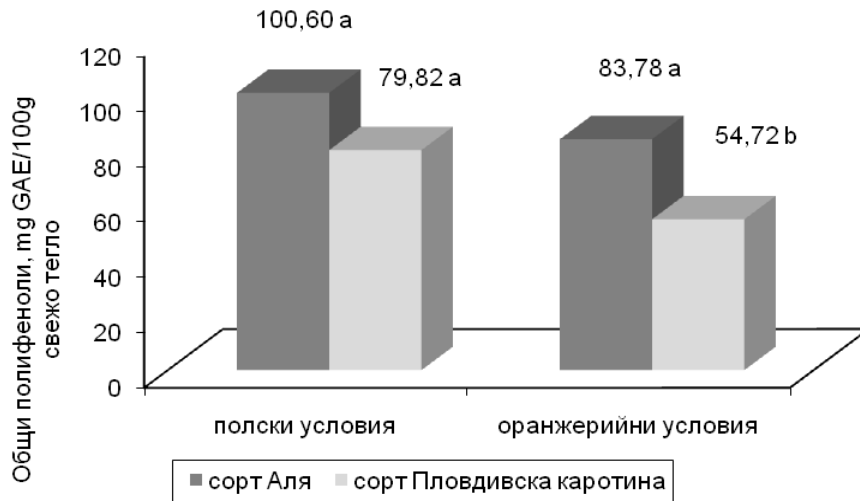
*Hydroxyl Radical Averting Capacity – HORAC метод:* Методът е разработен от Ou et al. (2002) и измерва комплексообразуващата способност на даден антиоксидант в условия на реакция на Фентън, предизвикана от взаимодействие между  $\text{Co(II)}$  и  $\text{H}_2\text{O}_2$ .

*Статистическа обработка:* Данните са представени като средна стойност от три повторения  $\pm$  Стандартно отклонение (sd) и са обработени чрез Duncan's Multiple Range Test при  $P < 0.05$  за разделяне на средните стойности.

### Резултати и дискусия

Съдържанието на полифенолни компоненти в изследваните проби домати е представено на Фиг. 1. В сравнение със сорт Пловдивска каротина, при сорт Аля съдържанието на общи полифеноли е по-високо с 1.3-1.5 пъти (Фиг. 1), а на рутин – 2-4 пъти (Табл. 1). Това се дължи на факта, че фенолните съединения се натрупват предимно в кожата, а при домати, тип „Чери“, както е сорт Аля, съотношението между кожата на плода и перикарпа е по-голямо (Chandra et al., 2011).

Освен генотипът, върху натрупването на фенолни съединения в доматените плодове оказват влияние и условията на отглеждане. Резултатите от експеримента показват, че при сорт Пловдивска каротина, отглеждан в полски условия, количеството на полифенолите е по-високо с 45.9% (Фиг. 1), а това на рутин – с 2.3 пъти (Табл. 1), спрямо същия сорт, отглеждан при оранжерийни условия. Подобна тенденция на завишаване на полифенолните компоненти в полски условия се наблюдава и при сорт Аля: количеството на общите полифеноли е по-високо с 20.1%, а това на рутин – с 1.2 пъти в сравнение с оранжерийното отглеждане.



**Фиг. 1.** Съдържание на общи полифеноли при сорт Аля и сорт Пловдивска каротина, отглеждани при оранжерийни и полски условия

По отношение на хлорогеновата киселина данните са противоречиви (Табл. 1). При сорт Аля, отглеждан в оранжерии, концентрацията на този компонент е по-висока в сравнение с полското му отглеждане, докато при сорт Пловдивска каротина концентрацията на хлорогеновата киселина е по-висока в плодовете на растения, отгледани на поле.

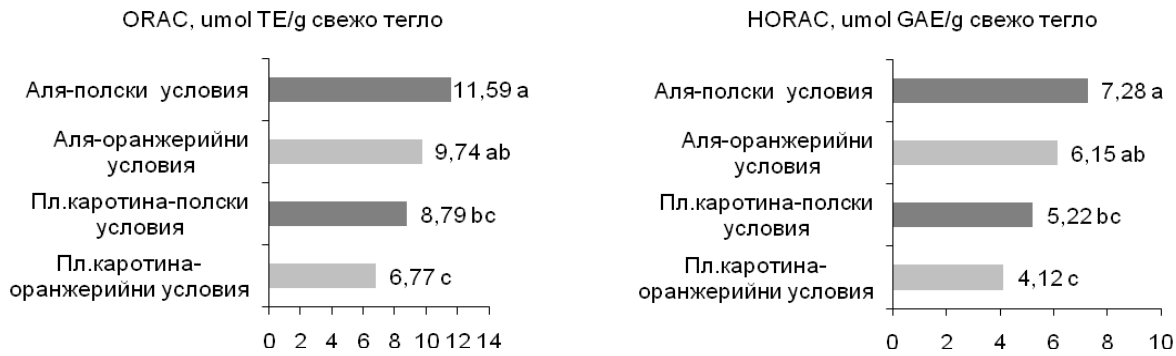
**Таблица 1.** Съдържание на хлорогенова киселина и рутин в сортове Аля и Пловдивска каротина, отглеждани при оранжерийни и полски условия

Сорт домати-условия на отглеждане	Хлорогенова киселина, mg/100 g свежа маса ± sd	Рутин, mg/100 g свежа маса ± sd
Аля-оранжерийни	2.48±0.34 a	5.53±1.75 a
Аля-полски	2.07±0.31 a	6.54±1.58 a
Пловдивска каротина-оранжерийни	1.02±0.20 b	1.33±0.31 c
Пловдивска каротина-полски	1.28±0.38 b	3.05±1.19 b

a,b,c,...p≤0.05 Duncan's Multiple Range Test

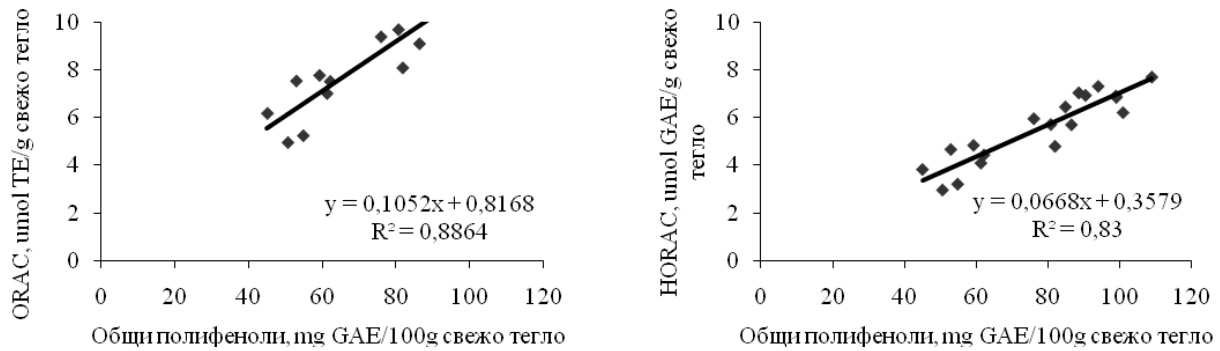
Растенията, отглеждани при полски условия са изложени на пряка слънчева светлина, рязка смяна на дневните и нощни температури, засушаване и други неблагоприятни условия. Установено е, че ултравиолетовото лъчение и другите екстремни фактори на средата стимулират биосинтеза на фенолните съединения, като по този начин растенията се предпазват от възникналия стрес (Lathuria et al., 2006; Sanchez-Rodriguez et al., 2011). Това вероятно е причината за наблюдаваните по-високи нива на полифенолите в плодовете на домати, отглеждани при полски условия, в сравнение с оранжерийните, където влиянието на факторите на околната среда е по-ограничено.

По отношение стойностите на антиоксидантната активност, измерени по ORAC и HORAC тенденцията е същата както и при рутин и общи полифеноли. С по-висока антиоксидантна активност са сортовете, отглеждани при полски условия (Фиг. 2).



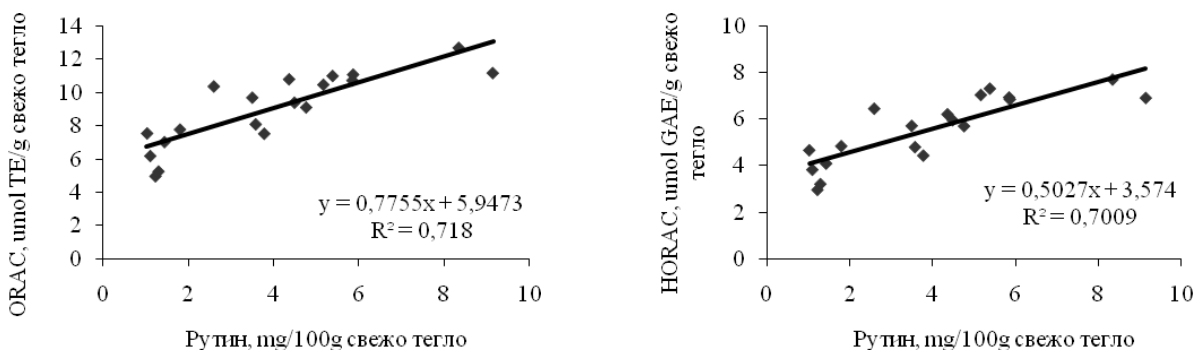
**Фиг. 2.** Антиоксидантна активност на сортове Аля и Пловдивска каротина, измерена по методите ORAC и HORAC

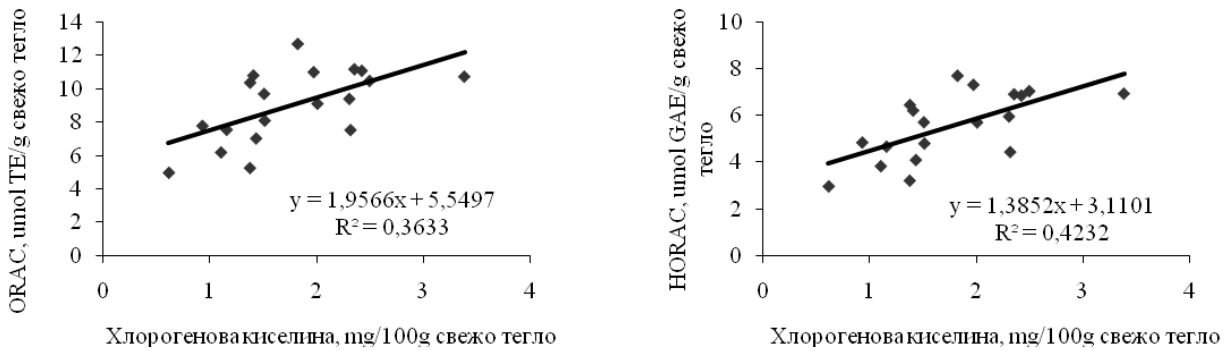
Установена е също и зависимост между концентрацията на общите полифеноли и антиоксидантната активност с много високи коефициенти на корелация –  $r^2=0.88$  за ORAC и  $r^2=0.83$  за HORAC (Фиг. 3). Това дава основание да се смята, че полифенолите определят до голяма степен антиоксидантния капацитет на доматиите.



**Фиг. 3.** Корелация между общи полифеноли и ORAC и HORAC антиоксидантна активност

Установени са зависимости между концентрацията на рутин и хлорогенова киселина с антиоксидантна активност (Фиг. 4). От данните се вижда, че рутинът се отличава с висок коефициент на корелация ( $r^2=0.70$  – ORAC,  $r^2=0.71$  – HORAC) и при двата метода на измерване на антиоксидантната активност в сравнение с хлорогеновата киселина ( $r^2=0.36$  – ORAC,  $r^2=0.42$  – HORAC). Следователно, антиоксидантната активност на доматиите плодове се определя до голяма степен и от концентрацията на рутин.





**Фиг. 4.** Корелация между съдържанието на рутин и ORAC, HORAC, и съдържанието на хлорогенова киселина - ORAC, HORAC

### Заклучение

От настоящото проучване може да се направи изводът, че домати, отглеждани при полски условия са с по-високо съдържание на полифеноли и с по-висока антиоксидантна активност в сравнение със същите сортове, отглеждани в оранжерии. Това доказва, че условията на отглеждане на културата са един от основните фактори, определящи съдържанието на биологично активни вещества в плодовете.

*Изследванията са финансирани от проект ДМУ 03/76/12.12.2011 към Фонд „Научни изследвания”, Министерството на образованието, младежта и науката, България.*

### Литература

1. Apak, R., K. Güçlü, B. Demirata, M. Özyürek, S.E Çelik, B. Bektaşoğlu, K. Işıl Berker, D. Özyurt, 2007. Comparative Evaluation of Various Total Antioxidant Capacity Assays Applied to Phenolic Compounds with the CUPRAC Assay, *Molecules*, 12, 1496-1547
2. Chandra, H.M., S. Ramalingam, 2011. Antioxidant Potencial of Skin, Pulb and Seed Fractions of Commercially Important Tomato Cultivars, *Food Sci. Biotechnol.*, 20(1), 15-21
3. Denev, P., M. Ciz, G. Ambrozova, A. Lojek, I. Yanakieva, M. Kratchanova, 2010. Solid Phase Extraction of Berries' Anthocyanins and Evaluation of Their Antioxidative Properties, *Food Chemistry*, 123, 1055-1061
4. Iwamura, Ch., K. Shinoda, M. Yoshimura, Y. Watanabe, A. Obata, T. Nakayama, 2010. Naringenin Chalcone Suppresses Allergic Asthma by Inhibiting the Type-2 function of CD4 T Cells, *Allergology International*, 59, 67-73
5. Lathuria, D.L., S. Mukhopadhyay, D.T. Krizek, 2006. Content of Total Phenolic Acids in Tomato (*Lycopersicum esculentum* Mill) Fruits as Influenced by Cultivar and Solar UV Radiation, *J. Food Compos. Anal.*, 19, 771-777
6. Ou, B., M. Hampsch-Woodill, J. Flanagan, E.K. Deemer, R.L. Prior, D. Huang, 2002. Novel Fluorometric Assay for Hydroxyl Radical Prevention Capacity Using Fluorescein as the Probe, *J. Agric. Food Chem.*, 50, 2772-2777
7. Ou, B., M. Hampsh-Woodill, R.L. Prior, 2001. Development and Validation of an Improved Oxygen Radical Absorbance Capacity Assay Using Fluorescein as the Fluorescent Probe, *J. Agric. Food Chem.*, 49, 4619-4626
8. Sanchez-Rodriguez, E., D.A. Moreno, F. Ferreres, M. del Mar Rubio-Wilhelmi, J.M. Ruiz, 2011. Differential Responses of Five Cherry Tomato Varieties to Water Stress: Changes on Phenolic Metabolites and Related Enzymes, *Phytochemistry*, 72, 723-729
9. Singleton, V.L., J.A. Rossi, 1965. Colorimerty of Total Phenolics with Phosphomolybdic-phosphotungstic Acis Reagent, *Amer. J. Enol. Viticult.*, 16, 144-158
10. Slimestad R., M. Verheul, 2009. Review of Flavonoids and Other Phenolics from Fruits of Different Tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) Cultivars, *J. Sci. Food Agric.*, 89, 1255-1270