

DEBRECENI EGYETEM

**KERPELY KÁLMÁN NÖVÉNYTERMESZTÉSI ÉS KERTÉSZETI TUDOMÁNYOK
DOKTORI ISKOLA**

Doktori Iskola vezető:

Prof. dr. Holb Imre
az MTA doktora

Témavezető:

Gálné Dr. Remenyik Judit
tudományos főmunkatárs

**A MEGGY ANTIOXIDÁNS HATÁSÚ KOMPONENSEI ÉS AZ ANTOCIANINOK
SZEREPE A SZERVEZET GYULLADÁSOS FOLYAMATAINAK
PREVENCIÓJÁBAN**

Készítette:

Kun-Nemes Andrea
doktorjelölt

Debrecen
2021

**A MEGGY ANTIOXIDÁNS HATÁSÚ KOMPONENSEI ÉS AZ ANTOCIANINOK
SZEREPE A SZERVEZET GYULLADÁSOS FOLYAMATAINAK
PREVENCIÓJÁBAN**

Értekezés a doktori (PhD) fokozat megszerzése érdekében
a növénytermesztési és kertészeti tudományok tudományágban

Írta: Kun-Nemes Andrea okleveles élelmiszermérnök

Készült a Debreceni Egyetem **Kerpely Kálmán Doktori Iskolája**
(növénytermesztési és kertészeti tudományok programja) keretében

Témavezető: Gálné Dr. Remenyik Judit

A doktori szigorlati bizottság:

	név	tud. fokozat
elnök:	<u>Dr. Sipos Péter</u>	<u>PhD</u>
tagok:	<u>Dr. Helyes Lajos</u>	<u>DSc</u>
	<u>Dr. Szabó Zoltán</u>	<u>DSc</u>

A doktori szigorlat időpontja: 2016. április 29.

Az értekezés bírálói:

név	tud. fokozat	aláírás
_____	_____	_____
_____	_____	_____

A bírálóbizottság:

	név	tud. fokozat	aláírás
elnök:	_____	_____	_____
tagok:	_____	_____	_____
titkár:	_____	_____	_____

Az értekezés védésének időpontja: 20.....

TARTALOMJEGYZÉK

RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE	8
1. BEVEZETÉS	10
2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS	11
2.1. ANTIOXIDÁNSOK	11
2.2. A MEGGY ÉS HATÓANYAGAI	13
2.2.1. <i>A meggy jellemzése</i>	13
2.2.2. <i>A meggyhús és a héj kedvező élettani hatású vegyületcsoportjai</i>	14
2.2.2.1. <i>A fenolok jellemzése</i>	15
2.2.2.2. <i>A flavonoidok jellemzése</i>	18
2.2.2.3. <i>Az antocianinok jellemzése</i>	19
<i>Az antocianinok szerkezete és színváltozásai</i>	20
<i>Az antocianinok egészségre gyakorolt pozitív hatásai</i>	21
2.2.2.4. <i>A procianidinek jellemzése</i>	22
2.2.3. <i>A meggy mag jellemzése</i>	25
2.2.3.1. <i>A meggy magolaj kedvező élettani hatású vegyületei</i>	27
2.2.4. <i>A tokoferolok jellemzése</i>	28
2.2.4.1. <i>Tokoferolok hatása a humán szervezetre</i>	30
2.2.4.2. <i>γ-tokoferol antioxidáns hatása</i>	30
2.2.4.3. <i>A γ-tokoferol gyulladáscsökkentő hatása</i>	31
2.3. AZ ANTIOXIDÁNSOK MENNYISÉGI ÉS MINŐSÉGI MEGHATÁROZÁSÁNAK JELENTŐSÉGE, NEHÉZSÉGEI ÉS LEHETŐSÉGEI	32
2.3.1. <i>Mintaelőkészítés - Kioldás hatékonysága: szabad és kötött formák</i>	33
2.3.2. <i>Mérési lehetőségek: mennyiségi és minőségi meghatározások</i>	34
2.3.2.1. <i>Spektrofotometriás meghatározási eljárások</i>	35
2.3.2.2. <i>Fotokemilumineszcenciás meghatározási eljárások</i>	36
2.3.2.3. <i>Kromatográfiás meghatározási eljárások</i>	40
2.3.2.4. <i>Kapcsolt rendszerek jellemzése</i>	40
2.3.3. <i>Az antioxidánsok hatásainak igazolása</i>	41
2.4. AZ ELHÍZÁS (ÉS TÁRSBETEGSÉGEINEK) LEHETSÉGES EGÉSZSÉGÜGYI KÖVETKEZMÉNYEI	42
2.4.1. <i>Az elhízás jellemzése</i>	42

2.4.2. Az elhízás következtében fellépő WAT diszfunkciók és a kapcsolódó anyagcsere- -rendellenességek	43
2.4.3. A 2-es típusú diabetes jellemzése	46
2.4.4. Az elhízás és a T2DM megelőzése és kezelése	46
3. ANYAG ÉS MÓDSZER	49
3.1. FELHASZNÁLT ANYAGOK	49
3.1.1. Meggy	49
3.1.2. Egerek	49
3.1.2.1. Etikai engedély	49
3.1.3. Felhasznált vegyszerek és oldószerek	49
3.2. MINTÁK ELŐKÉSZÍTÉSE	50
3.2.1. Szárítás	50
3.2.2. A meggy magok olajtartalmának kinyerése	50
3.2.3. A liofilizált minták előkészítése antioxidáns kapacitás meghatározására	51
3.2.4. Az antocianinok kivonása	51
3.3. MEGGYKIVONATOK KÉSZÍTÉSE	51
3.3.1. Kioldható antioxidánsok kivonása	51
3.3.1.1. A kioldható antioxidánsok extrakciója etanol és víz elegyével (1-es oldó- szerkombináció)	52
3.3.1.2. A kioldható antioxidánsok extrakciója metanol és aceton felhasználásával (2-es oldószerekombináció)	52
3.3.1.3. A kivonatok előkészítése az UHPLC-s vizsgálatokhoz	54
3.3.2. Nem kioldható antioxidánsok kivonása savas hidrolítissal	54
3.3.2.1. Hidrolizálható tanninok kivonása	54
3.3.2.2. Kondenzált Tanninok kivonása	54
3.3.2.3. Nem kioldható antioxidánsok kivonása lúgos hidrolítissal	55
3.3.2.4. Nem kioldható antioxidánsok kivonása enzimes hidrolítissal	55
Enzimes hidrolízis Proteázzal	55
Enzimes hidrolízis Pektinázzal	56
Enzimes hidrolízis α -amilázzal	56
3.4. A KISÁLLATKÍSÉRLET KÖRÜLMÉNYEI	56
3.4.1. A kísérleti állatok tartási körülményei és kezelése	56
3.4.2. A vérminták előkészítése	57

3.5. MÉRÉSI MÓDSZEREK	57
3.5.1. <i>Mérési módszerek spektrofotométerrel</i>	57
3.5.1.1. Vasredukálóképességen alapuló antioxidáns kapacitást (FRAP) meghatározó módszer	58
3.5.1.2. DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) gyök megkötésén alapuló antioxidáns kapacitást meghatározó módszer	58
3.5.1.3. Troloxra vonatkoztatott Antioxidáns Kapacitást (TEAC) meghatározó módszer	59
3.5.1.4. Antocianinok meghatározása pH differenciális módszerrel	60
3.5.1.5. C-vitamin-meghatározás	61
3.5.2. <i>Mérési módszerek microplate readerrel</i>	62
3.5.2.1. Összantioxidáns kapacitás meghatározása FRAP módszerrel	62
3.5.2.2. Összantioxidáns kapacitás meghatározása DPPH módszerrel	62
3.5.2.3. Összantioxidáns kapacitás meghatározása TEAC módszerrel	63
3.5.2.4. Összfenoltartalom (TPC) meghatározása	63
3.5.2.5. Procianidin-tartalom meghatározása	63
3.5.3. <i>Antioxidáns kapacitás meghatározása kemiluminometriás (PLC) módszerekkel</i>	64
3.5.3.1. Vízoldható antioxidáns kapacitás (ACW) meghatározása	65
3.5.3.2. Zsíroidható antioxidáns kapacitás (ACL) meghatározása	65
3.5.3.3. Szuperoxid-dizmutáz (SOD) koncentrációjának meghatározása	66
3.5.4. <i>Kromatográfias módszerek</i>	66
3.5.4.1. A meggykivonat UHPLC analízise	66
3.5.4.2. A meggykivonat UHPLC-MS analízise	66
3.5.4.3. A tokoferolok mennyiségi meghatározása HPLC-vel	67
3.5.5. <i>A vérminták elemzéséhez használt mérési módszerek</i>	67
3.5.5.1. Orális glükóz tolerancia teszt (OGTT)	67
3.5.5.2. A plazma adiponektin és rezisztin koncentrációjának meghatározása	68
3.5.5.3. A citokinek mennyiségi meghatározása	68
3.6. STATISZTIKA	69
4. EREDMÉNYEK	70
4.1. MEGGYMAGOLAJ	70
4.1.1. <i>A magyarországi meggyfajták magjának olajhozama és tokoferol tartalma</i>	70

4.2. A MEGGYFAJTÁK ANTIOXIDÁNS TARTALMÁNAK ÖSSZEHASONLÍTÁSA KÜLÖNBÖZŐ MÉRÉSI MÓDSZEREKKEL	74
4.3. A MEGGY ANTIOXIDÁNS HATÁSÚ VEGYÜLETEINEK KIVONÁSA ÉS AZONOSÍTÁSA	77
<i>4.3.1. A meggy kioldható antioxidáns vegyületei</i>	77
4.3.1.1. A kioldható vegyületeket tartalmazó meggykivonatok antioxidáns kapacitása	77
4.3.1.2. A kioldható vegyületeket tartalmazó meggykivonatok UHPLC-MS analízise	78
4.3.1.3. A cinkonin beazonosítása	83
4.3.1.4. A meggyben található főbb antioxidáns vegyületek meghatározása UHPLC-vel	84
<i>4.3.2. Az extrakció után visszamaradt rost nem kioldható antioxidáns tartalma</i>	85
4.3.2.1. A meggy és a kivonás után visszamaradt rost összprocianidin tartalma (PAC)	85
4.3.2.2. A meggykivonatok nem kioldható antioxidáns kapacitása	86
4.4. AZ ANTOCIANINOK HATÁSVIZSGÁLATA	88
<i>4.4.1. Antocianinos kezelés hatása a testsúlyra és a vízfogyasztásra</i>	88
<i>4.4.2. Az antocianin kezelés hatása a glükóztoleranciára</i>	89
<i>4.4.3. Az antocianin kezelés hatása a gyulladásgátló, és a gyulladáscsökkentő adipokinekre</i>	90
<i>4.4.4. Az antocianin kezelés hatása a szervezet antioxidáns státuszára</i>	92
<i>4.4.5. Az antocianinok hatása a SOD értékekre</i>	93
<i>4.4.6. A krónikus antocianin kezelés hatásainak összefoglalása</i>	93
5. KÖVETKEZTETÉSEK, JAVASLATOK	96
6. ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK	101
7. GYAKORLATBAN ALKALMAZHATÓ EREDMÉNYEK	102
8. ÖSSZEFOGLALÁS	103
9. SUMMARY	105
10. IRODALOM	107
11. PUBLIKÁCIÓK AZ ÉRTEKEZÉS TÉMAKÖRÉBEN	125
12. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS	128

13. NYILATKOZATOK

129

14. MELLÉKLETEK

130

RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE

RÖVIDÍTÉS	ANGOL	MAGYAR
ACL	Lipid soluble Antioxidant Capacity	Zsírolható antioxidáns kapacitás
ACW	Water soluble Antioxidant Capacity	Vízoldható antioxidáns kapacitás
BMI	Body Mass Index	Testtömeg index
COX	Cyclooxygenases enzim	Ciklooxygenáz enzim
CRP	C-Reactive Protein	C-reaktív proteinek
DP	Degree of Polymerization	Polimerizáció foka
DPPH	2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical scavenging capacity	2,2-difenil-1-pikrilhidrazil gyök megkötésén alapuló antioxidáns kapacitás
EPF	Extractable Polyphenol	Kiextrahálható polifenolok
ET	Electron Transfer	Elektron átvitel
FRAP	Ferric Reducing Ability of Plasma,	A plazma vas redukálóképességén alapuló antioxidáns kapacitás
HAT	Hydrogen Atom Transfer	Hidrogénatom átvitel
HPLC	High Performance Liquid Chromatography	Nagyhatékonyságú folyadékkromatográfia
IR	Insulin Resistance	Inzulinrezisztencia
MEÉ	High-energy diet	Magas Energiatartalmú Étrend
MEÉA	High-energy diet with anthocyanin-rich sour cherry extract	Magas Energiatartalmú Étrend Antocianinnal kiegészítve
NAFLD	Non-Alcoholic Fatty Liver Disease	Nem alkoholos eredetű zsíros májbetegség
NEPA	Non-Extractable Proanthocyanidins	Nem extrahálható proanthocianidinek
NEPF	Non-Extractable Polyphenols	Nem extrahálható polifenolok
OGTT	Oral Glucose Tolerance Test	Orális glükóz tolerancia teszt
PCL	Photochemiluminescence	Fotokemilumineszcencián alapuló antioxidáns kapacitás
PGE2	Prostaglandin	Prosztaglandin
PPAR	Peroxisoma Proliferator Activated Receptor	Peroxiszóma proliferátorral aktivált receptorok
ROS	Reactive Oxygen Species	Reaktív oxigén formák
SOD	Superoxide Dismutase	Szuperoxid-dizmutáz
T2DM	Type 2 Diabetes Mellitus	2-es típusú diabetes
TEAC	Trolox Equivalent Antioxidant Capacity	Troloxra vonatkoztatott antioxidáns kapacitás
TNF-α	Tumor Necrosis Factor Alpha	Tumor nekrozis faktor alfa

TPTZ	2,4,6-Tris(2-pyridyl)-s-triazine	2,4,6-trisz(2-piridil)-s-triazin
UHPLC	Ultra High Performance Liquid Chromatography	Ultra-nagyhatékonyságú folyadékkromatográfia
UHPLC-MS	Ultra High Performance Liquid Chromatography-Mass Spectrometry	Ultra-nagyhatékonyságú folyadékkromatográfiával kapcsolt tömegspektrométer
WAT	White Adipose Tissue	Fehér zsírszövet

1. BEVEZETÉS

A fogyasztók egyre inkább tartózkodnak a mesterséges adalékanyagoktól, és emellett a szintetikus antioxidánsok toxikológiai szempontból sem előnyösek farmakológiai alkalmazásra, ezért egyre több kutatócsoport fókuszál a fitonutriensek vizsgálatára. Ez hívta életre a növényi kivonatok vizsgálatát, illetve a bennük lévő ható komponensek azonosítását, mennyiségi meghatározását, valamint a kíméletes, ugyanakkor nagy hatékonyságú izolálásuk kidolgozását. Ezzel egyidejűleg ezen bioaktív komponensek élettani hatásainak igazolása is a tudományos érdeklődés középpontjába került.

Ezeket a vizsgálatokat kezdetben főként a bogyós gyümölcsök körében végezték el kimagasló antioxidáns kapacitásuk miatt, viszont a bogyósok a termelési (terméshozam, betakarítás) és az eltarthatósági szempontok alapján az ipar számára már nem túl ideálisak.

Hozzájuk hasonlóan, a meggy héja, húsa és magja is számos biológiai aktivitással rendelkező, antioxidáns hatású vegyületet tartalmaz. További előnyük, hogy hazánk hatalmas fajtasortimenttel rendelkezik, a termesztéséhez szükséges körülmények ideálisak és Magyarországon az alma után ez a legnagyobb mennyiségben termesztett gyümölcs, tehát nagy mennyiségben rendelkezésünkre áll. Ezen kívül elmondható, hogy bár az antioxidánsok (antocianinok) vizsgálatára számos közlemény megjelent már a magyarországi meggyfajták esetében, szisztematikus analízist még nem végeztek, ezért irányultak vizsgálataink a termesztésben leggyakoribb fajták antioxidánsainak, illetve ezek élettani hatásainak vizsgálatára.

Ennek megfelelően doktori munkám során az alábbi célokat tűztem ki: a magyarországi meggyfajták magjából nyert olaj tokoferoltartalmának elemzése, a Magyarországon termesztett, jelentősebb meggyfajták antioxidáns kapacitásának felmérése illetve összehasonlítása, a meggyfajták mérésére használt antioxidáns kapacitást mérő módszerek összehasonlítása, a meggyben található kioldható és nem kioldható vegyületek kinyerése, azonosítása, azok felhasználóságának feltérképezése, a meggyből nyert magas antocianin tartalmú kivonat hatásának vizsgálata magas energiatartalmú étrenden tartott egerek esetében.

2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS

2.1. ANTIOXIDÁNSOK JELLEMZÉSE

A biológiai rendszerben lévő oxigén-, nitrogén- és kénmolekulákból származó szabad gyökök - a bennük lévő párosítatlan elektronok miatt - nagyon aktívak, így igen agresszíven reagálnak más molekulákkal. Élettani szempontból igen jelentősek a reaktív oxigén formák (ROS-reactive oxygen species), melyekből a legfontosabbak a hidroxil gyök (OH•) és a hidrogén-peroxid (H₂O₂). A ROS a celluláris anyagcsere és a funkcionális folyamatok során keletkezik a szervezetünkben, ahol a szignáltranszdukcióban, az apoptózisban, a génexpresszióban és az ionok szállításában van szerepük [VAJRAGUPTA et al., 2004]. Emellett azonban azt is meg kell említeni, hogy a túlzott mennyiségű ROS jelenléte káros hatással lehet számos molekulára. Megtámadják a nukleinsavakban lévő bázisokat, a fehérjék aminosav oldalláncait és a telítetlen zsírsavak kettős kötéseit, ami oxidatív stresszhez vezethet, ezzel károsíthatják a DNS-t, az RNS-t, a fehérjéket és a lipideket. A korábbi kutatások azt mutatják, hogy ezek a folyamatok hozzájárulnak a gyulladásos betegségek, a kardiovaszkuláris betegségek, a daganatos megbetegedés, a diabetes, az Alzheimer-kór, a szürkehályog, az autizmus és a korai öregedés patogeneziséhez/kialakulásához [GILES és JACOB, 2002; GEIER et al., 2009].

Ennek elkerülése érdekében, vagyis a szervezet megfelelő antioxidáns státuszának fenntartásában az intracelluláris antioxidáns enzimek, valamint a táplálkozással bevitt antioxidánsok segíthetnek.

Antioxidánsoknak olyan molekulák tekinthetőek, amelyek semlegesítik a szabad gyököket. Azáltal, hogy megköti azok párosítatlan elektronját, vagy átadnak nekik egy elektront, ezzel megszüntetve a gyök párosítatlan állapotát. Képesek komplexet alkotni az átmeneti fémionokkal, amelyek így már nem képesek a szabadgyökök kialakulását előidézni, tehát az antioxidánsok képes közvetlenül csökkenteni a szabad gyökök által okozott oxidatív károsodást. Emellett azáltal, hogy csökkentik a szabad gyököket termelő enzimek aktivitását és/vagy expresszióját, illetve, hogy fokozzák az intracelluláris antioxidáns enzimek aktivitását és/vagy expresszióját közvetve is képesek gátolni a nemkívánatos szabadgyökös reakciókat [LÜ et al., 2010]. Mivel az antioxidáns vegyületek igen változatos szerkezetűek és különböző funkciókat láthatnak el, az alábbi szempontok szerint tudjuk őket csoportosítani.

Hatásmechanizmusuk szerint első vagy másodrendű antioxidánsokról beszélhetünk. Az elsőrendű antioxidánsokat láncmegszakító antioxidánsoknak is nevezik. Ebben az esetben az antioxidáns molekulák közvetlenül reagálnak a reaktív gyökökkel, ekkor azonban ők maguk is

egy új szabad gyökké válnak, azonban ezen újonnan keletkezett szabad gyökök már kevésbé aktívak, így kevésbé veszélyesek, mint az eredeti gyökök. Az így létrejött vegyületek már nem vesznek részt az oxidációban, így a láncreakció megszakad. Az elsőrendű antioxidánsok az indukciós periódusban fejtik ki leginkább a hatásukat, mivel jelenlétükben az oxidáció később kezdődik el. Az új, stabilabb szabad gyököket pedig egy következő lépésben más antioxidánsok vagy más mechanizmusok semlegesíthetik. Ebbe a csoportba tartoznak például a fenolos szerkezetű molekulák, a tokoferolok, a galluszsav és származékai, valamint a flavonoidok. A másodrendű vagy preventív antioxidánsok jellemzője, hogy a különböző molekulák önmaguk oxidálódnak, vagy a gyökreakciók során keletkező átmeneti és végtermékeket átalakítják át kevésbé toxikus formákká. Ide tartoznak például a foszfolipidek vagy a citromsav [LUGASI, 2001].

Eredet szerint endogén és exogén antioxidánsokat különböztetünk meg. Az endogén antioxidánsokat a szervezetünk is előállítja, ide tartoznak például az enzimek, a koenzimek, amelyek a biokémiai reakciókat katalizálják, a húgysav és a glutation. Az exogén antioxidánsok közé tartoznak a vitaminok és a flavonoidok [LUGASI, 2001; BOUAYED-BOHN, 2010].

Míndezek mellett, megkülönböztetünk még természetes (vitaminok, flavonoidok, karotinoidek) és mesterséges (galluszsav-észterek és egyes fenolos vegyületek) antioxidánsokat is [GASZTONYI, 1992].

Az antioxidánsok egy másik fontos funkciója a ROS-sal összefüggő enzimek szabályozása. Az antioxidánsok csökkenthetik a sejtek szabadgyök szintjét azáltal, hogy közvetlenül gátolják a szabad gyökök aktivitását, de közvetve is hatnak rájuk azáltal, hogy akadályozzák azon enzimek expresszióját, melyek szabad gyököket termelnek (NAD(P)H-oxidáz, xantin-oxidáz (XO)), vagy azáltal, hogy fokozzák az antioxidáns enzimek aktivitását és expresszióját (superoxid-dizmutáz (SOD), kataláz (CAT), glutation-peroxidáz (GPX)) [PANCHATCHARAM et al., 2006; SHIH et al., 2007].

Fontos azonban azt is megemlíteni, hogy a gyöksemlegesítő tulajdonság mellett az antioxidánsok rendelkeznek számos egyéb jótékony hatással is, mint például antikarcinogén, gyulladáscsökkentő, antibakteriális, vírusellenes, májvédő és antiallergén hatás. Egyes antioxidánsok bevitele bizonyítottan óriási jelentőséggel bír az egészség megóvásában, az öregedés lassításában, és számos, a szabadgyökök jelenlétével kapcsolatba hozható betegség (rosszindulatú daganatok, szív-és érrendszeri betegségek, időskori szembetegségek, neurológiai rendellenességek) kialakulásának megakadályozásában, késleltetésében vagy kezelésében [LANGSETH, 1995].

Kedvező hatásait az antioxidánsok nem csak a szervezeten belül képesek kifejteni, így ezeket a vegyületeket egyes iparágak is előszeretettel alkalmazzák a termékeik előállításánál. Felhasználásuk például igen széleskörű az élelmiszeripar területén, mivel segítenek megelőzni az oxidáció okozta romlást (pl. zsírok avasodása) illetve bizonyos enzim reakciókat, ezáltal meghosszabbítják az élelmiszerek eltarthatóságát, és fenntartják a termékekre jellemző színt, ízt és illatot. A kívánt eredmény elérése érdekében az élelmiszeripar széles körben alkalmazza a szintetikus antioxidánsokat is (terc-butil-hidroxil-toluol, terc-butil-hidroxil-anizol, terc-butil-hidrokinon) [HORBAŃCZUK et al., 2019].

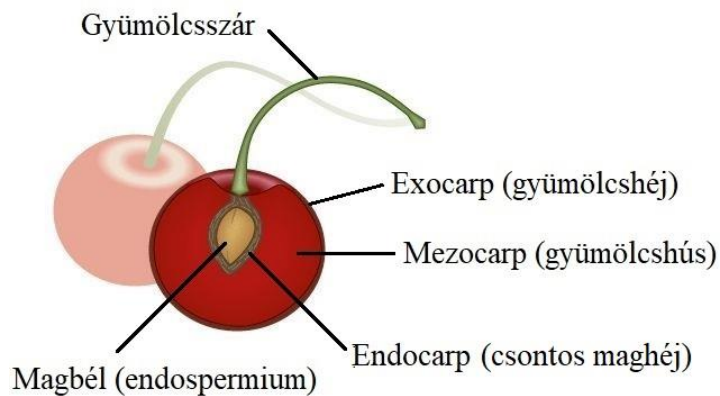
A legtöbb természetes antioxidáns gyümölcsökben, zöldségekben, fűszernövényekben, gabonafélékben és gyógynövényekben (ginzeng, kurkuma, ginkgo, rozmaring, zöld tea, szőlő, gyömbér, fokhagyma) található. Ezek a növények ugyanis számos antioxidáns komponenst, például fenolos vegyületeket (fenolokat és polifenolokat), flavonoidokat, karotinoidokat, szteroidokat és tiol vegyületeket tartalmaznak [LOTITO and FREI, 2006], melyek segíthetnek az oxidatív stresszel szembeni védelemben, és csökkentik a krónikus betegségek kockázatát. Példaként említhető a ginseng, mely olyan szteroidszerű vegyületeket (ginszenozidok) tartalmaz, melyek antioxidáns aktivitást mutatnak a szabad gyökök okozta károsodása ellen a vascularis endotheliumon (belső érfalon) [LÜ et al., 2009].

2.2. A MEGGY ÉS HATÓANYAGAI

2.2.1. A meggy jellemzése

A meggy (*Prunus cerasus* L.) a Rózsavirágúak (Rosales) rendjébe, azon belül a Rózsafélék (*Rosaceae*) családjában a Prunoideae alcsalád *Prunus* nemzetségének *Cerasus* (Cseresznye) alnemzetségbe tartozik. Ezt a hibridet, az édes cseresznye (*Prunus avium* L.) és az európai törpe cseresznye (*Prunus fruticosa*) keresztezésével állították elő [OLDEN and NYBOM, 1968].

A gyümölcsök termésének felépítése (1. ábra), vagyis a hús és a mag mérete fajtafüggő, de Yilmaz és Gökmen (2013) mérései alapján hozzávetőlegesen az alábbi arányokkal rendelkeznek: a meggy 85,4 % a gyümölcshús és 14,6 % a mag, melyből 23,3 % a magbél és 76,7% a maghéj. 100 g magbélből átlagosan 17,6 g olaj nyerhető ki [YIMAZ and GÖKMEN, 2013].



1. ábra. A meggy szerkezeti felépítése [11].

A világ meggytermelése az 1990-es évek elejére elérte az 1 000 000 tonnát, melynek csaknem fele az európai kontinensről származik, kiterjedt termőterülettel rendelkezik Németország, de Magyarország is a vezető exportáló országok egyike [APÁTI, 2009]. Hazánkban az alma után a meggy az áru gyümölcs-termesztés második legfontosabb gyümölcse, melyből 2014-ben 91 845 tonnát szüreteltünk le [KSH, 2014]. Legnagyobb mennyiségben az Alföldön, azon belül Szabolcs-Szatmár-Bereg megyében termesztik. A hazai meggytermesztést dinamikus fejlődés jellemzi, ami nemcsak az elmúlt 100 évben tapasztalható telepítési ütemnek, hanem az egyre bővülő fajta, klón és hibrid állománynak is köszönhető [HROTKÓ, 2003]. Felhasználását tekintve a meggy ipari gyümölcs, friss fogyasztása elenyésző. A piacra nagy részét gyorsfagyasztott gyümölcsként, gyümölcsléként, lekvárként, befőttként esetleg üdítő alapanyagaként kerül vissza [HROTKÓ, 2003], de az elmúlt években megjelentek az aszalványok, a sűrítmények, valamint a meggyálinkák és meggyborok is [HORVÁTH, 2010].

2.2.2. A meggyhús és a héj kedvező élettani hatású vegyületcsoportjai

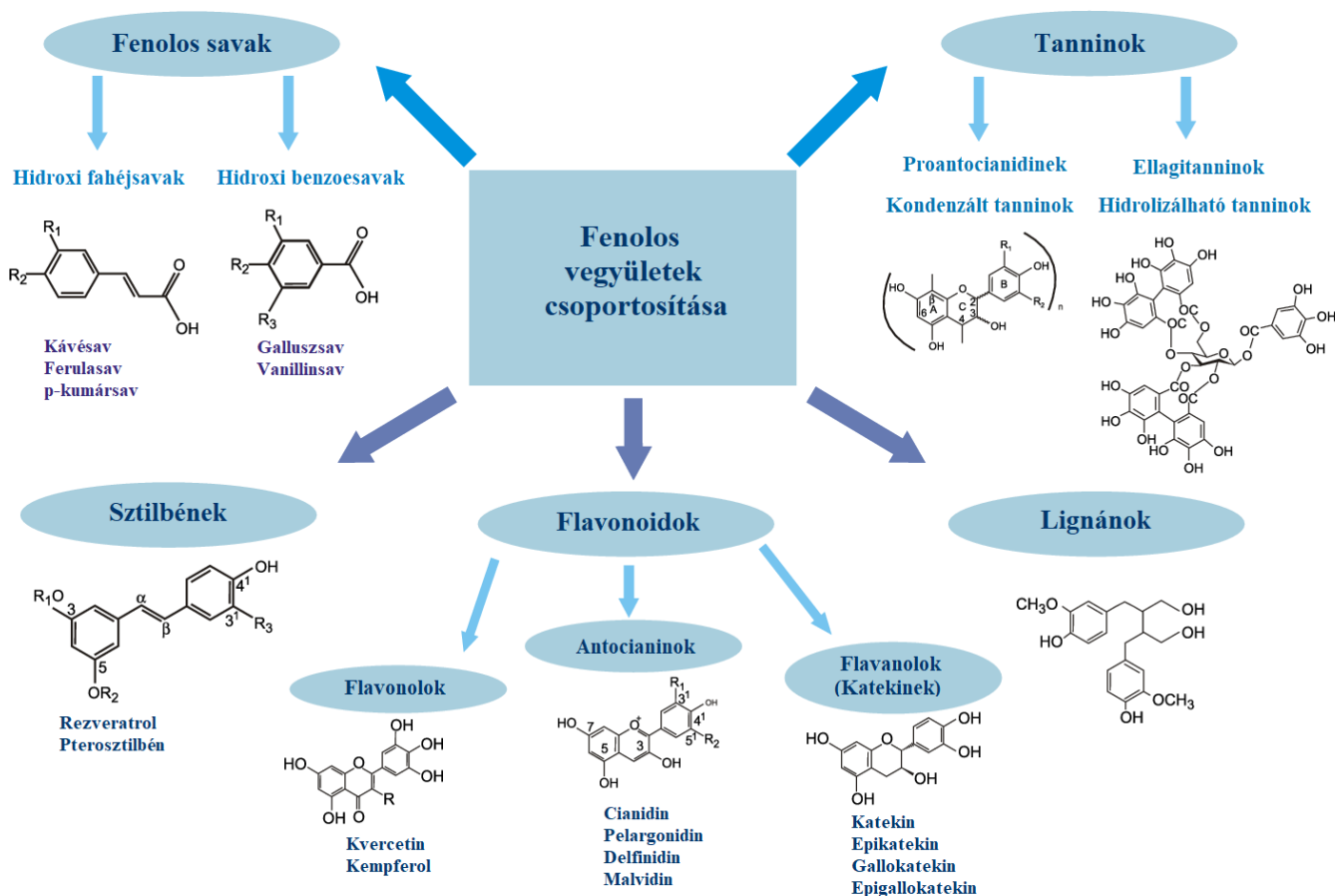
A táplálkozási szakemberek a gyümölcsök rendszeres, napi szintű fogyasztását javasolják. Ennek az ajánlásnak az egyik oka a gyümölcsök kedvező élettani hatása, amelyért a bennük található közel 8000 bioaktív vegyület, illetve azok additív és szinergista hatása a felelős. Ezeket a vegyületeket szerkezet, molekulaméret, polaritás és oldhatóság szerint csoportosíthatjuk, mivel ezek a tulajdonságok határozzák meg, a biológiai hozzáférhetőségüket és eloszlásukat a sejten belüli organellekben (sejtszervecske), a sejtekben, a szövetekben és a szervekben [LIU, 2003; CHANDRA et al. 2012].

A meggyben található antioxidáns tulajdonságú komponenseket az 1. táblázat foglalja össze.

1. táblázat. Fitonutriensek mennyisége a meggyben [FERRETTI et al., 2010].

A meggy összetétele (100 g-ra vonatkoztatva)	
C vitamin	10 mg
Niacin	0,4 mg
Pantoténsav	0,1 mg
A vitamin	1283 IU
E vitamin (α -tokoferol)	0,1 mg
K vitamin	2,1 μ g
β karotin	770 μ g
Lutein + Zeaxantin	85 μ g
Összes fenolos vegyület	228,9 mg

A felsoroltak közül, mennyiségi és egészségügyi szempontból, legnagyobb jelentősége a fenolos vegyületeknek (2. ábra), vagyis a fenoloknak, a flavonoidoknak, az antocianinoknak és a procianidineknek van.

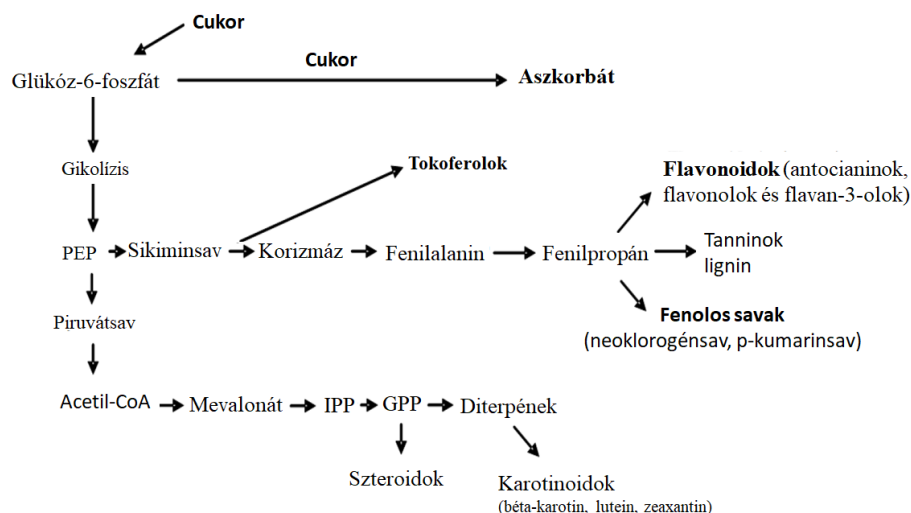


2. ábra. Fenolos vegyületek csoportosítása [PARADES-LÓPEZ et al., 2010 nyomán].

2.2.2.1. A fenolok jellemzése

A fenolok a bioaktív antioxidánsok egyik csoportja, másodlagos növényi metabolitok, melyek lehetnek egyszerű fenolok vagy polifenolok. A polifenol elnevezés számos vegyületsaládot takar (fenilpropanoidok, benzoésavak, flavonoidok, stilbének, tanninok, lignánok és ligninek valamint ezek származékai és polimerizált formái), melyek szerkezete, élettani hatása, kémiai tulajdonsága igen eltérőek lehetnek [SHAHIDI és NACZK, 2004]. Közös jellemzőjük, hogy legalább egy aromás gyűrűt tartalmaznak, melyhez egy vagy több hidroxilcsoport kapcsolódik hozzájuk, illetve az, hogy az állati szervezetekbe csak a növényi táplálék elfogyasztásával kerülhetnek be [SHAHIDI és NACZK, 2004; FERRES et al. 2009]. Csoportosításuk a bennük lévő szénatomok száma, illetve azok elhelyezkedése szerint lehetséges.

A legtöbb fenolos vegyület szénhidrátokból szintetizálódik a shikimát/fenilpropanoid (3. ábra) és/vagy a poliketid útvonalon, és a gének határozzák meg, hogy pontosan milyen vegyület képződik belőlük.

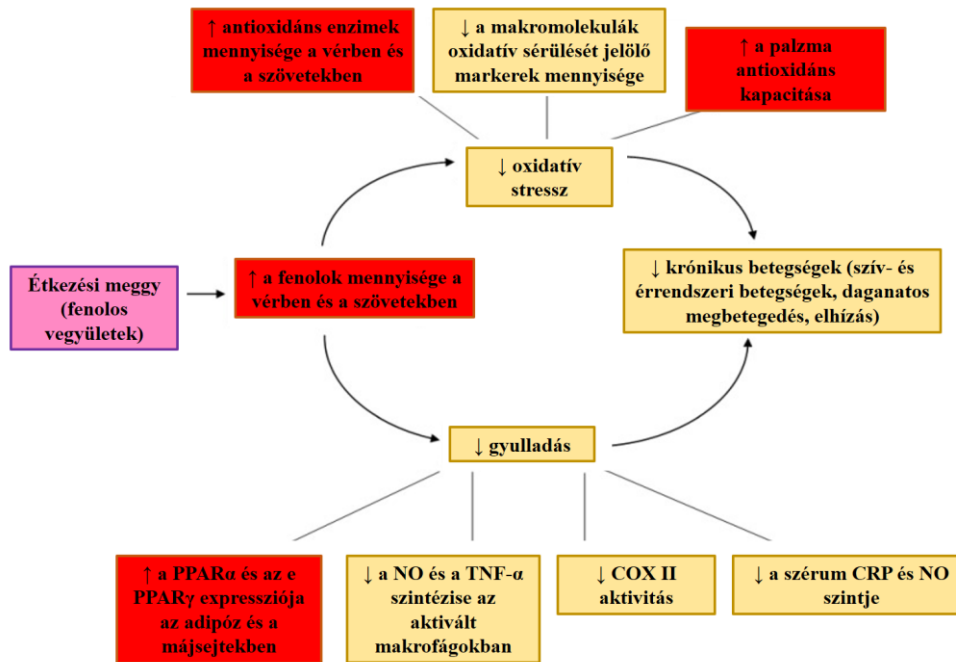


3. ábra. Fitonutriensek szintézise a növényi sejtekben [FERRETTI et al., 2010].

Rövidítések: PEP, foszfoenol; IPP, isopentenylpyrophosphate; GPP, geranilpirofoszfát

Az egyszerű fenolok aglikon formában keletkeznek, általában a növényt ért valamilyen stressz hatására (UV sugárzás, kártevők, oxidatív folyamatok, sérülések, gombák által okozott stressz) [SHAHIDI és NACZK, 2004; NACZK és SHAHIDI, 2004; ROBBINS, 2003]. Eloszlásuk a növényi szövetekben nem egyenletes, kötött formában a sejtfalban, míg oldott állapotba a vakuólusokban található meg [NACZK és SHAHIDI, 2004]. Az egyszerű fenolok antioxidáns hatása elsősorban redox tulajdonságaikban nyilvánul meg, mivel ez teszi lehetővé számukra, hogy hidrogén-donoroként és szingulett oxigén blokkolóként is funkcionálhatnak, de ezen kívül fém kelátképző képességük is van [RICE-EVANS et al., 1995].

A polifenolok osztályába tartozó vegyületek közös jellemzője, hogy nagy számú fenolgyűrűt tartalmaznak, melyek száma és minősége meghatározza egy adott polifenol fizikai, kémiai és biológiai tulajdonságait. A növényekben általában glikozált formában fordulnak elő, bár szervesen savval történő konjugációjuk és malonilációjuk szintén ismert. A természetben nagyon értékes másodlagos növényi metabolitok, mivel fontos szerepet játszanak a növények növekedésében, valamint a fertőzések és a sérülések elleni védekezésben, de mindemellett biztosítják a virágok, a gyümölcsök és a levelek színét is [HELDT és PLANT 1997].



4. ábra. A meggyfogyasztással (fenolos vegyületek) kapcsolatba hozható védőhatások a szervezetben [FERRETTI et al., 2010].

Miután epidemiológiai vizsgálatokkal sikeresen bizonyították, a gyümölcsökben és zöldségekben gazdag étrend előnyös élettani hatásait, a polifenolok a tudományos érdeklődés középpontjába kerültek, így számos tanulmány beszámolt már a polifenolok, köztük a meggyfélékben lévő polifenolok egészségre gyakorolt pozitív hatásairól, melyet Ferretti munkatársaival 2010-ben össze is foglalt (4. ábra).

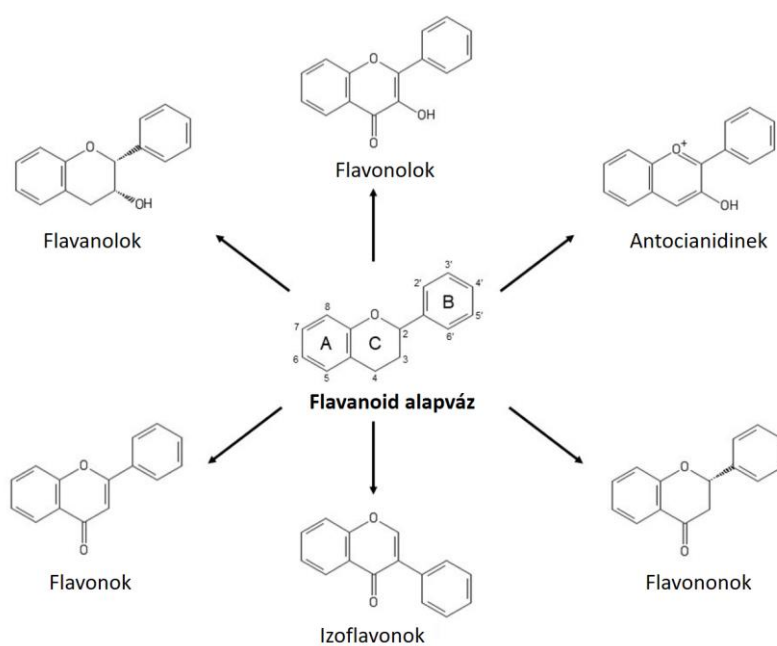
Kedvező tulajdonságaiknak köszönhetően a polifenolos vegyületeket széles körben alkalmazzák egyes kozmetikumokban, a gyógyászatban, a gyógyszerészetben, de az élelmiszeripar is felhasználja adalékanyagként a funkcionális élelmiszerek előállításához [SYTAR, 2012].

A meggyben lévő polifenolok közül a legfontosabbak a flavonoidok csoportja (főként az antocianinok), valamint a procianidinek [LEVAJ, 2010]. Ebben a tekintetben a magyar

meggyfajták azért igazán különlegesek, mert kutatások bizonyítják, hogy a bennük lévő polifenolok koncentrációja különösen magas [PAPP et al., 2010; PAPP et al., 2008].

2.2.2.2. A flavonoidok jellemzése

A flavonoidok olyan vegyületek, melyekben két 6 szénatomos aromás gyűrű egy 3 szénatomos, O-heterociklusos egységen keresztül kapcsolódik össze. Flavonoidok tehát általában a C6-C3-C6 szénvázú (difenilpropánváz) vegyületek csoportja, melyeket az alábbi alosztályokra tudunk felosztani: flavonok, flavonolok, flavan-3-olok, izoflavonok, flavanonok és antocianidinek [ABRANKÓ, 2018].



5. ábra. A flavonoidok alapszerkezete [COSME et. al., 2020].

A flavonoidok osztályozását az alap flavonoidvázat módosító számos szubsztituens teszi igazán összetetté (5. ábra). A legjellemzőbb szubsztituensek az alapvázhoz kapcsolódó különböző összetettségu szacharidmolekulák, de a hidroxilcsoportok gyakran metileződnek, és esetenként az alapvázhoz izopentil- (prenil-) csoportok is kapcsolódhatnak. Az alapvázhoz kapcsolódó cukormolekulák alkotta molekularészt glikánrésznek nevezzük. A glikánrész kapcsolódhat az alapváz OH-csoportjain keresztül éterkötéssel, ez esetben O-glikozidokról beszélünk, de kapcsolódhat közvetlenül az alapvázhoz C–C kötéssel (6-os és 8-as szénatomon keresztül) is, ami által C-glikozidok keletkeznek [CUYCKENS et al., 2005; ABRANKÓ, 2018]. A növényekben a flavonoidok döntő többsége jellemzően inkább glikozid forma, és nem

glikozidrész nélküli, ún. aglikon forma. A kapcsolódó cukoregységek legtöbbször mono- (glükóz, ramnóz, galaktóz, xilóz, azarabinóz), di- (rutinóz, neoheszperidóz), tri-, esetleg tetraszacharidok.

Nem ritka az sem, hogy egy flavonoid molekulához több ponton is kapcsolódik glikánrész. Így O,O-diglikozidok, C,C-diglikozidok, vagy akár O,C-diglikozidok is kialakulnak. A flavonoidokhoz kapcsolódó hidroxilcsoportok és a cukrok a vegyületek vízben való oldhatóságát javítja, míg a metil- és izopentil- (prenil-) szubsztituensek csökkentik azt. A flavonoidokhoz kapcsolódó szacharidok OH-csoportjaihoz további alifás karbonsavak (ecetsav és a malonsav), és fenolsavak (p-kumársav, kávéssav, ferulasav, szinapinsav) kapcsolódhatnak [KACHLICKI et al., 2008; ARAPITSAS et al., 2008; ABRANKÓ, 2018].

A flavonoidok csoportjába tartozó számos vegyületről bebizonyosodott, hogy antifungális, antibakteriális, tumorellenes, magas antioxidáns aktivitású és gyulladásgátló, tehát összességében elmondható, hogy a különféle enzimrendszerekre gyakorolt hatásuk miatt fontos szerepet töltenek be az élővilág molekuláris szintű működésének szabályozásában. A növények és a virágok színét elsősorban a flavonoidok közé tartozó antocianidinek és glikozidjaik, az antocianinok adják. Mindezek mellett megemlíthető még védő szerepük a növények különböző mikroorganizmusokkal, UV fényvel szembeni védelmében - bioszintézisük a mikrobiális támadás érzékelésekor fokozódik [MARKHAM et al., 1998; OLSSON et al., 1998].

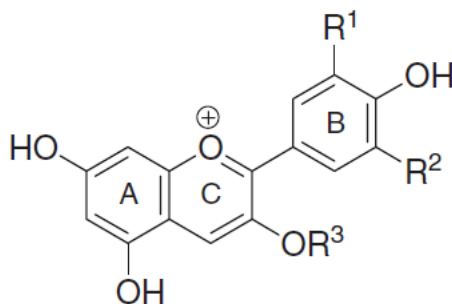
Az izolálásukra, azonosításukra és szintézisük feltérképezésére irányuló kutatások mellett megjelentek már a hatás és a szerkezet közötti kapcsolatok feltárására irányuló munkák is. Például mára általánosan elfogadott, hogy a flavonoidok *in vivo* körülmények között is hatékony gyökfogók, és a kutatások azt bizonyítják, hogy az 1,3-difenilpropanoid származékok körében ebben a 4-oxo, a C-2 és C-3 közötti kettős kötés valamint az o-dihydroxicsoport jelenléte játszik ebben meghatározó szerepet [DZIEDZIC és HUDSON, 1983; DAS és PEREIRA, 1990].

2.2.2.3. Az antocianinok jellemzése

Az antocianinok a flavonoidok egyik főcsoportja. Olyan másodlagos metabolitok, melyeket elsősorban a pigmentációért felelősek a gyümölcsökben, a zöldségekben, a virágokban és a növények más tárolószövetekben. E vegyületek az antocianint termelő sejtek erősen pigmentált vakuólumaiban (antocianoplastok) találhatóak meg. Ilyen organelumok akkor keletkeznek, amikor beindul a pigment-szintézis. A folyamat során az antocianinok

eloszlanak a vakuólumban, míg végül egy teljesen pigmentált antocianoplaszt alakul ki [DELGADO-VARFAS et al., 2000; PAREDES-LÓPEZ et al., 2010].

Az antocianinok stabilitása a pH-tól, a fénytől, a hőmérséklettől és az adott vegyület szerkezetétől függ. Általános molekuláris szerkezetük az 6. ábrán látható [CAVALCANTI et al., 2011].



6. ábra. Az antocianinok általános molekuláris szerkezete.

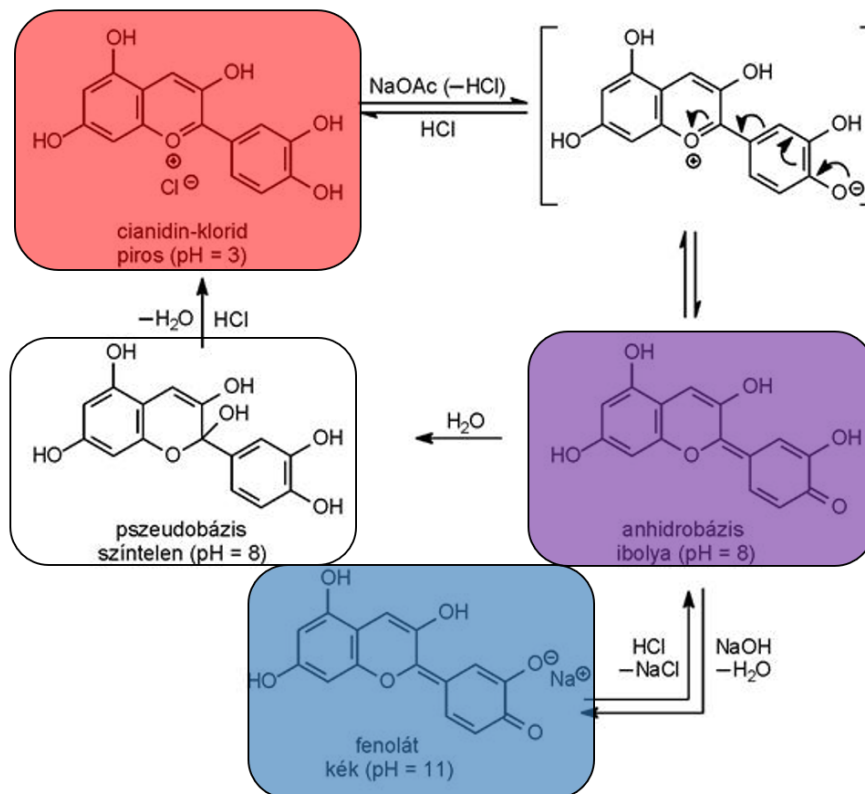
Az antocianinok kémiai szempontból glikozilát-polihidroxi vagy 2-fenil-benzopirilium polimetroxi származékok [ANDERSEN és JORDHEIM, 2010; HE és GIUSTI, 2010], általában 400 és 1200 közötti molekulatömeeggel (közepes méretű biomolekulák). További jellemzőjük még, hogy két benzilgyűrűt tartalmaznak (A és B), azaz az antocianinok egy aglikon egység (másnéven antocianidin, amely egy flavilium-ion származék) heterozidjai. A cukor molekulákat általában a 3-as, ritkább esetben az 5-ös szénatom köti meg.

Az antocianinok és glikozidjaik egészségmegőrző és terápiás hatásait antioxidáns tulajdonságaiknak tulajdonítják. Erős gyökfogó képességüket az antocianinok kalkonvázához és ketocsoportjához kapcsolódó konjugált kettős kötésű kinoid bázisok adják [BORS et al., 1990], míg magas antioxidáns kapacitásukért a glikozilezett B-gyűrűs szerkezete a felelős, ahol az orto-hidroxiláció és a metoxilezés lényegesen növeli az antioxidáns aktivitást [WANG et al., 1997]. Az antocianinok hatékony hidrogén donorok, ami a pozitív töltésnek (5. ábra), a hidroxilcsoportok számának és elrendezésének, illetve a szerkezeti konjugáció mértékének köszönhető, valamint annak, hogy a gyűrűszerkezetben egyszerre vannak jelen elektron-adományozó és elektronvonzó szubsztituensek is [IGNAT et al., 2011; LEOPOLDIDI et al., 2011].

Az antocianinok szerkezete és színváltozásai

Ahogy már említettem, számos gyümölcs, zöldség, virágok és a növények egyéb tárolószöveiteinek színéért az antocianinok és glikozidjaik a felelősek. A színváltozatok

gazdagságát antocianidinek pH-függő reverzibilis szerkezetváltozása, illetve kötésrendszerük megváltozása okozza.



7. ábra. Az antocianinok szerkezet-, és színváltozása [ANTUS és MÁTYUS, 2014 nyomán].

Magyarázatként megemlíthető például a cianidin-klorid vizes oldata (7. ábra), mely 3-as pH viszonyok között piros színű. Ha az oldat pH-ját 8-ra emeljük nátriumacetáttal, az oldat ibolyaszínűvé válik, mivel kinoidális szerkezetű anhidrobázis keletkezik. Ez a szerkezet nem stabil, vízaddíció révén a színes anhidrobázis – a kinoid struktúra megszűnése közben – színtelen pszueudobázissá alakul, és az oldat elveszti a színét. Viszont, ha a rendszert erősen lúgosítjuk (pH = 11) az oldat kék színű lesz, mivel az anhidrobázisból fenolátanion (kromofor) keletkezik. Ezek a szerkezeti változások reverzibilisek, savanyítás hatására (például sósavas, pH=3) a fenolát, az anhidro- és a pszueudobázis is egyaránt visszaalakul piros színű cianidin-kationokká [ANTUS és MÁTYUS, 2014].

Az antocianinok egészségre gyakorolt pozitív hatásai

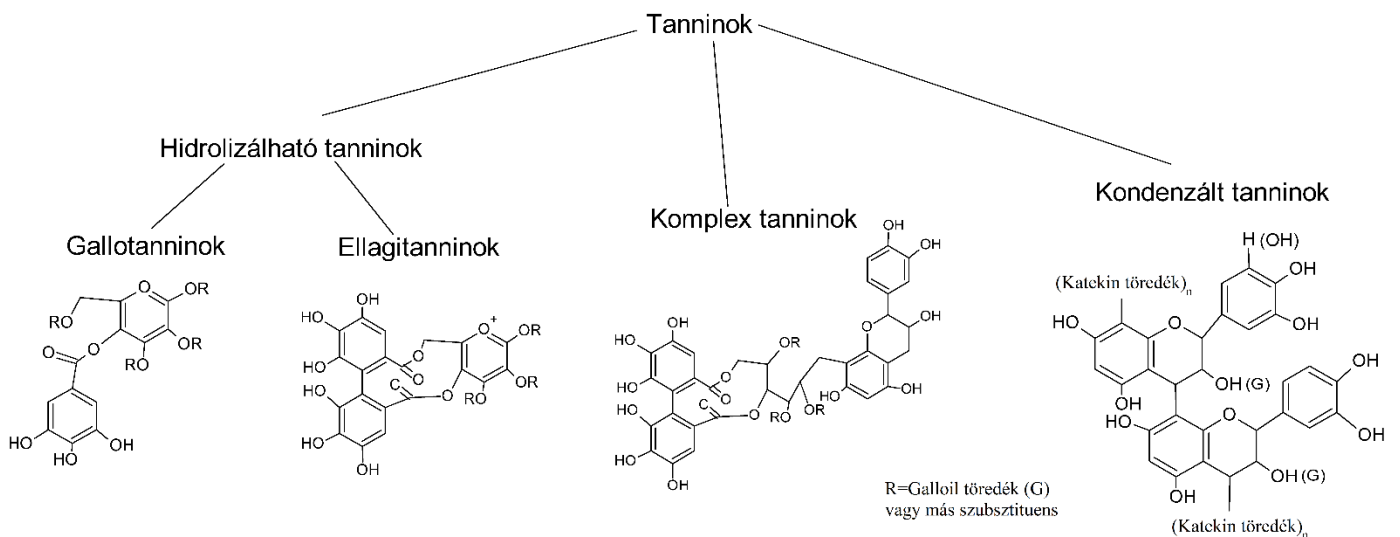
A flavonoidok, köztük az antocianinok egyik legismertebb tulajdonsága az erős antioxidáns aktivitás a metabolikus reakciókban, mivel képesek semlegesíteni az oxigéngyököket és más reaktív fajokat. Emellett bizonyított, hogy az antocianinok gátolják a rákos sejtek növekedését [KAMIE et al., 1993] is, így a kutatók potenciális lehetőséget látnak

a flavonoidok felhasználásában az oxidatív stressz, az öregedési folyamat és a daganatos megbetegedések tanulmányozásának területén [RICE-EVANS, 1999], illetve az esetleges kemoterápiás gyógyszerként való alkalmazásnak [KAMIE et al., 1993; BOMSER et al., 1996]. A meggyből származó antocianinokról kimutatták, hogy erős antioxidáns és gyulladásgátló hatással rendelkeznek [WANG et al., 1999], valamint gátolják az ApcMin egerekben a daganat kialakulását és az emberi vastagbélrák sejtvonalak növekedését [KANG et al., 2003].

Mivel már megállapítást nyert, hogy a meggy (*Prunus cerasus L*) is jelentős mennyiségű antocianint tartalmaz [WANG et al., 1997], az utóbbi években sok figyelem irányult erre a gyümölcsre és a benne lévő bioaktív vegyületek kinyerésére. Az antocianinok kivonása a meggyfélékből a friss gyümölcs magas beszerzési ára, és a gyümölcs szezonális volta miatt ipari szempontból korlátozott lehet, a növényi sejt- és szövettenyészetek jó alternatívát nyújthatnak a növényi metabolitok folyamatos előállítására. Ez a megoldás azért is előnyös lehet, mert a specifikus igényeknek megfelelően méretezhető [SMITH és PÉPIN, 1999], és nagyobb lehetőséget ad az antocianin féleségek minőségi manipulálására [CURTIN et al., 2003; PLATA et al., 2003].

2.2.2.4. A procianidinek jellemzése

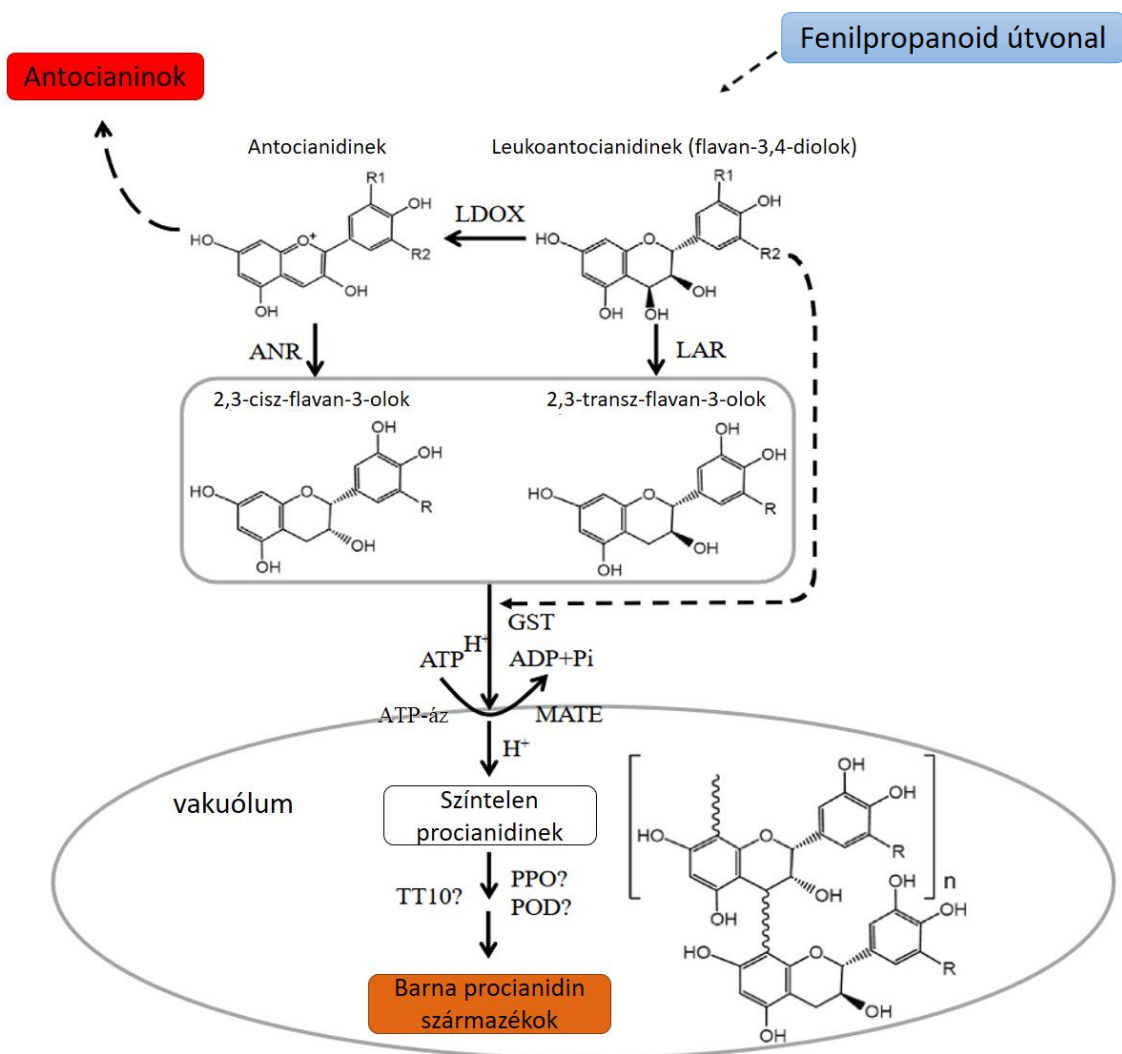
A flavonoidok egyik alosztálya a flavan-3-olok (például: katechin, epikatechin) képesek tanninokká polimerizálódni. A tanninok (8. ábra) másodlagos növényi metabolitok, amelyek lehetnek hidrolizálható, kondenzált (másnéven proantocianidinek), vagy komplex tanninok. A hidrolizálható tanninok fenolkarbonsavak (pl.: galluszsav, digalluszsav) egymással és cukrokkal alkotott észterszerű vegyületei. Ezt a vegyületcsoportot alapvetően két alosztályra szoktuk osztani: a gallotanninokra és az ellagitanninokra. Előbbi a galluszsav, utóbbi az ellagsav hidrolizálásával keletkezik [KY et al., 2016].



8. ábra. A tanninok csoportosítása [KHANBABAEE és VAN REE, 2001 nyomán].

A procianidinek (kondenzált tanninok) összetett polifenolok, melyek flavan-3-ol (katechin és/vagy epikatechin) egységekből épülnek fel. A katechin-monomerek közti kovalens kötések típusai C4-C6 vagy C4-C8: az egyik (felső) monomer 4-es szénatomja és a másik (alsó) monomer 6-os, vagy 8-as szénatomja között alakul ki a kötés [FINE, 2000].

Szintézisük a fenilpropanoid útvonalon (3. ábra) keletkező leukoantocianidekből és antocianidinekből valósul meg (9. ábra). Ezek katalízise leukocantocianidin-reduktázzal (LAR) és antocianidin-reduktázzal (ANR) 2,3-transz-flavan-3-olok (például (+)-katekin) és 2,3-cisz-flavan-3-olok (például (-)-epikatechin) keletkezését eredményezi, amelyek a PA-bioszintézis utolsó lépéseiben részt vevő kulcs alegységek. Bár keveset tudunk a procianidinek polimerizációjáról és oxidációjáról, az valószínűleg a vakuólumban történik meg, és vélhetően növényi polifenol oxidázok (PPO), TT10 (Transparent Testa 10) és növényi peroxidázok (POD) vesznek részt benne [YU et al., 2020].



9. ábra. A procianidinek szintézise [YU et al., 2020].

Rövidítések: LAR, leukoantocianidin reduktáz; ANR, antocianidin reduktáz; LDOX, leukoantocianidin dioxigenáz; GST, glutation S-transferáz; MATE, multidrug és toxin extrudálás; PPO, polifenol oxidáz; POD, polifenol peroxidáz; TT10, Transparent Testa 10.

A procianidinek két típusát különböztetjük meg, az A-, és a B-típusú proantocianidinek. Az A típusú vegyületek monomerjei között további éterkötések is kialakulnak, és így akár 50 monomerből álló oligomereket is alkothatnak.

A procianidinek kémia és biológiai tulajdonságai nagymértékben függenek a szerkezetől (flavon-3-ol egységek szám) illetve a molekulatömegetől, amit összességében a polimerizáció fokával (DP-degree of polymerization) tudunk jellemezni [GU et al. 2002; LI et al., 2010]. A polimerizáció mértéke 2-től több száz alegységig változhat, ami a bélrendszerben való abszorpciójuk szempontjából igen fontos, azonban a procianidinek átlagos hossza négy monomer egység.

Polihidroxil tulajdonságuknak köszönhetően (nagy DP) szimultán módon is képesek kötődni a többszörös kötőhellyel rendelkező más molekulákhoz (fehérjékkel, szénhidrátokkal,

fémionokkal), ezáltal oligomer proantocianidin komplexek (OPC) jönnek létre, melyek oldhatatlan vegyületek is lehetnek [PRIGENT et al., 2009]. Azokat a proantocianidineket, melyek csak katechin-, és epikatechin-monomerekből állnak procianidineknek nevezzük [CROZIER et al., 2009], és savas hidrolízisükkel antocianidineket kapunk [SANTOS-BUELGA és SCALBERT, 2000].

Az élelmiszeriper számára a proantocianidinek keserűséget, savanyúságot és édességet szabályozó adalékok, melyek aromát és színt is kölcsönöznek a termékeknek, de a habzás, a habstabilitás valamint a mikrobiális-, oxidatív-, és hőstabilitás fokozására is használják. A proantocianidinek DP-nak ezekre a tulajdonságokra is hatása van. A különböző polimerizációs fokú proantocianidinek például stabilizálják a habzó hatású fekérvéket, és jobban képesek kötődni a fehérjékhez, mint az alacsonyabb polimerizációs fokkal rendelkező társaik [ARON, 2007].

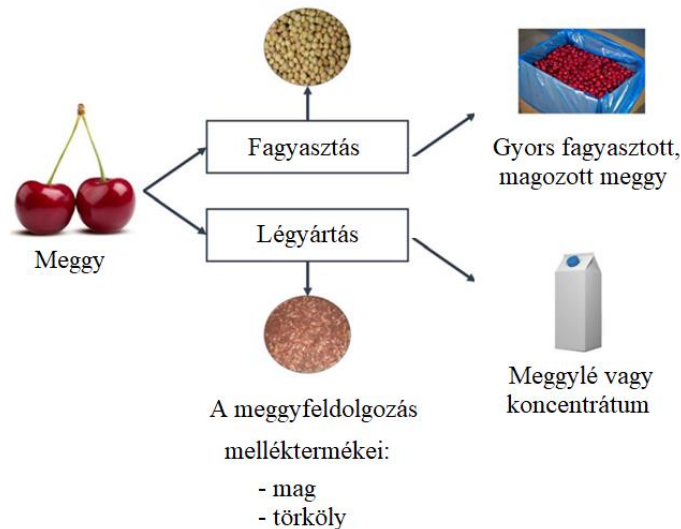
A procianidinek farmakológiai hatása, mint például a rákellenes hatás, az immunstimulálás, az öregedésgátlás, a gyulladás, a vérnyomás, a vérsír szint és a vércukorszint csökkentés szoros kapcsolatban áll az erős antioxidáns aktivitásukkal. Elősegítik a nap okozta károsodás elleni védelmet, javítják a látást, valamint az ízületek, az artériák és a testszövetek (például a szív) rugalmasságát, és segítik a vérkeringést a kapillárisok, az artériák és az erek megerősítésével. Az oligomer proantocianidin komplexekről antioxidáns, antibakteriális, vírusellenes, karcinogén, gyulladáscsökkentő, allergiaellenes és értágító hatásokat mutattak ki [RAUF et al., 2019]. Gátolhatják a lipidperoxidációt, a vérlemezkék aggregációját és a kapilláris hiperpermeabilitását [FINE, 2000], de az apoptózisra, a génexpresszióra és a transzkripciós faktorokra (például az NF-kB-re) gyakorolt hatását is vizsgálták már [COS et al., 2004], és aktívan használják számos betegség megelőzésére és kezelésére [CASANOVA-MARTÍ et al. 2017; RAMOSROMERO et al., 2017.].

Felhasználásukban azonban problémát okozhat a polihidroxi szerkezet, mivel az oldhatatlan fehérje és poliszacharid komplexek csökkentik a procianidinek tápértékét és antioxidáns aktivitástát. Ezek a reakciók az elfogyasztás után is lejátszódhatnak, és korlátozzák egészségre gyakorolt jótékony hatást [SMERIGLIO et al., 2017; CASANOVA-MARTÍ et al., 2018].

2.2.3. A meggy mag jellemzése

Az Európai Unió Bizottsága ajánlja a csonthéjas gyümölcsök magozását párlatok és törkölypárlatok készítésekor az etil-karbamát-szennyeződés megelőzésére és csökkentésére

(2010/133/EU), illetve egyre elterjedtebbek a magozott csonthéjas gyümölcsből előállított termékek (gyorsfagyasztott gyümölcs, befőtt, konzerv), tehát a meggy feldolgozása során jelentős mennyiségű technológiai melléktermék marad vissza, mely főként gyümölcshús-maradvány és mag (10. ábra).



10. ábra. A meggy ipari feldolgozásának sematikus ábrázolása és a képződött melléktermékek [YILMAZ et al., 2018].

Ezen nagy mennyiségben keletkező növényi hulladék feldolgozása még nem megoldott, így ezeket általában csak visszaforgatják a termőföldbe, vagy szárítással magas fűtőértékű tüzelőanyagot állítanak elő belőle (11. ábra).



11. ábra. Csonthéjas magvából szárítással előállított magas fűtőértékű tüzelőanyag [I2]

Ez azért sajnálatos, mert a mag a meggy magas olajhozamú része amely - a megfelelő technológiák alkalmazása mellett - antioxidáns, antimikrobiális és gyulladásgátló tulajdonságai miatt értékes élelmiszer- és gyógyszeripari alapanyag lehetne.

A mag a teljes gyümölcs 7-15 % -át teszi ki, és két fő részből áll: csontos maghéjból (75 – 80 %) és a magbélből (20-25 %). Bár kémiai összetétele alapján egy potenciálisan értékes alapanyag, és felhasználható lenne étrendi fehérje, rost, lipid és polifenol forrásként is, jelenleg a héjat főleg tüzelőanyagként, a magbelet pedig leginkább olajforrásként használják fel [KORLESKY et al., 2016].

A meggy-magolaj ipari kinyerése 1926-ban indult meg [RABAK, 1932], és technológiai szempontból egy igen egyszerű folyamat. A csontos maghéj eltávolítása után a magbelet pörkölik, majd kiextrahálják a benne lévő olajat, melynek mennyisége átlagosan 17-36 %. Yilmaz et al., (2018) megállapítása szerint a 2016-os globális termelési adatok alapján, a világon termelt összes ipari meggy-mag hulladékból több mint 80000 tonna meggy-magolaj lett volna kinyerhető.

Kémiai tulajdonságai miatt, az alkalmazott extrahálási módszerektől és az olajkivonást megelőző pörkölési folyamattól függően, a meggy-magban lévő tápanyagok különböző százalékban juthatnak át az olajba. Kivonására általában hexános kivonást, alkalmanként pedig szuperkritikus szén-dioxid extrakciót (SC-CO₂) alkalmaznak. Az extrakció módja az olaj zsírsavösszetételére nincs hatással, viszont a hexánnal extrahált olaj szignifikánsan magasabb tokoferolt és β -karotint tartalmaz. Pörkölés (30 perc, 160 °C) során a tokoferolok mennyiségében egy közel 10 %-os veszteséget következik be, viszont az összes fenoltartalom 4,5-szeresére nő a kinyert olajokban [YILMAZ és GÖKMEN, 2013].

A meglévő felhasználási területek mellett jelenleg is folynak kutatások a meggy-mag egyéb célú felhasználási lehetőségeinek feltérképezésére. Ezek közül az egyik ígéretesnek tűnő lehetőség Gheju és munkatársaink (2016) munkája, akik kihasználva, hogy a meggy-mag nagy porozitású szénforrás, sikeresen használták a meggy-magot adszorbensként a szennyvizek Cr (VI)-tartalmának csökkentésére.

2.2.3.1. A meggy-magolaj kedvező élettani hatású vegyületei

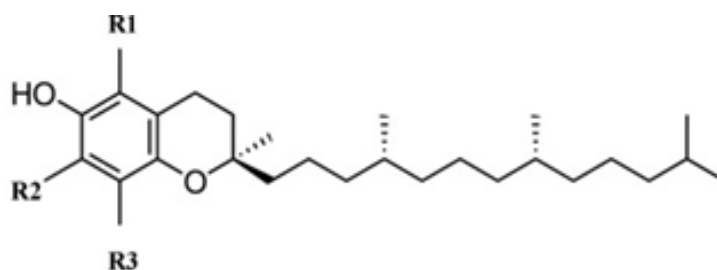
A növényi olajok összetétele (telített-, telítetlen zsírsavak minőségi-, mennyiségi aránya) és egészségre gyakorolt hatása alaposan tanulmányozott. Egy-két kivételtől (például a tökmagolaj) eltekintve azonban kevés vizsgálati eredmény áll a rendelkezésünkre az olajos magvak összetételére (például zsírdékony vitaminok) vonatkozóan.

A meggy-mag olaja főként értékes esszenciális zsírsavakban gazdag, de találhatóak benne kisebb lipofil vegyületek is, mint például karotinoidok [CENKOWSKI et al., 2006; FROMM

et al., 2012], szkvalén [HASSANIEN et al., 2014], fitoszterolok [HASSANIEN et al., 2014] és tokokromanolok (tokoferolok, tokotrienolok) [GÓRNASÁ et al., 2015].

Farmakológiai hatását tekintve Bak et al. (2006) arról számolt be, hogy a meggy mag kivonatával sikeresen csökkentették a patkányok szívében izolált ischaemia-reperfúziós károsodást (IRI). Ezt a védőhatást meggy magok bioaktív vegyületeivel hozták összefüggésbe, és egy későbbi tanulmányukban megállapították, hogy a magok antocianidineket és hidroxicinnamátokat, valamint 32–36 % olajat tartalmaznak, amely gazdag γ -szitoszterinben, β -tokoferolban és telítetlen zsírsavakban (50-53 % olajsav, 35-38 % linolsavval (35–38 %)) [BAK et al., 2010].

2.2.4. A tokoferolok jellemzése

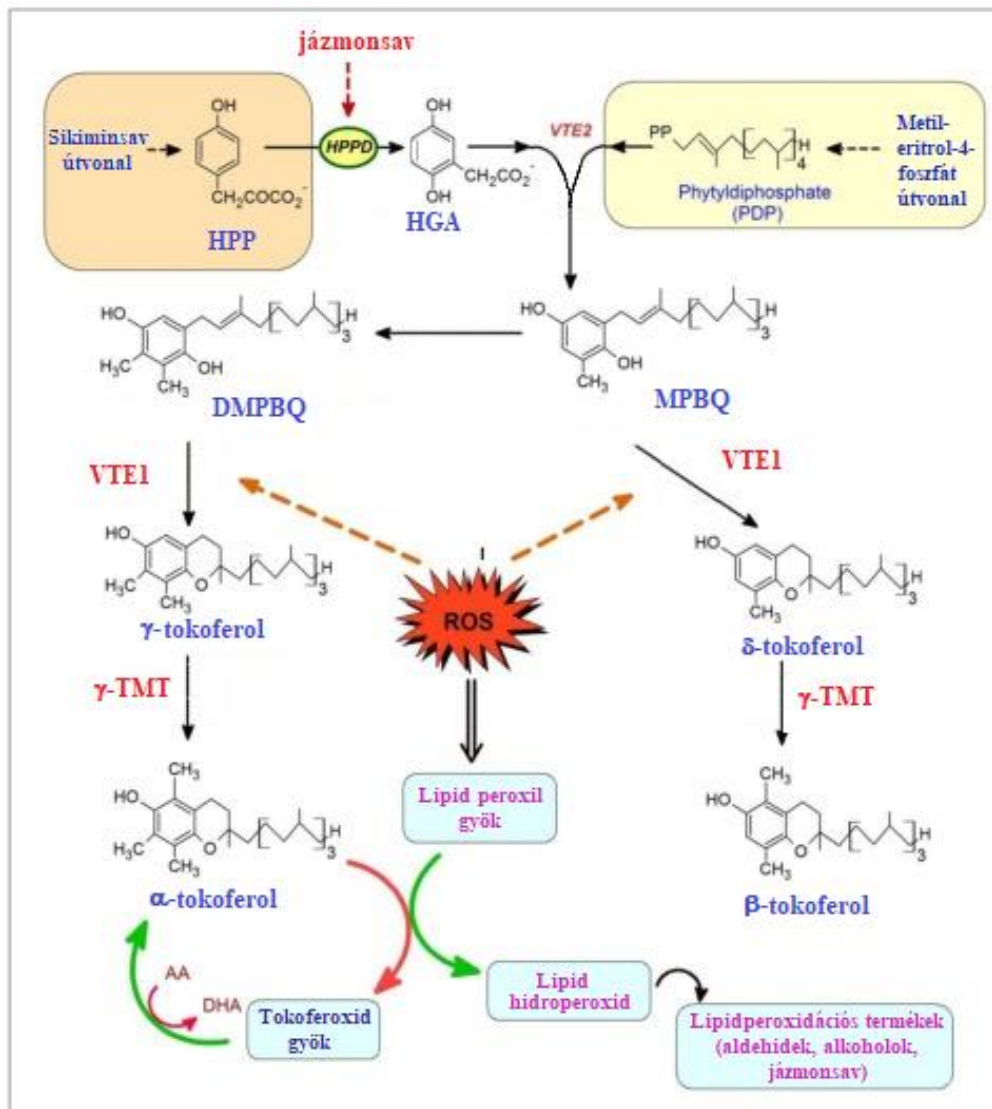


Megnevezés	R1	R2	R3
α -tokoferol	-CH ₃	-CH ₃	-CH ₃
β -tokoferol	-CH ₃	-H	-CH ₃
γ -tokoferol	-H	-CH ₃	-CH ₃
δ -tokoferol	-H	-H	-CH ₃

12. ábra. A tokoferol izomerek kémiai szerkezete.

Bár a tokoferolok (12. ábra) szerepét a növényi anyagcserefolyamatokban még nem sikerült teljes mértékben feltérképezni, azt tudjuk, hogy a magvakban található fehérjék és olajok biztosítják a csírázáshoz szükséges energia-, szén-, és nitrogénforrást a növény számára [ZIENKIEWICZ et al., 2014]. Az energia előállításához a sejtek oxigént használnak fel, melynek következtében a mitokondriumban zajló az ATP (adenozin-trifoszfát) szintézis melléktermékeként szabad gyökök jönnek létre. Ezek a szabad gyökök általában reaktív oxigén formák, de reaktív nitrogén formák is keletkeznek a sejtek redox folyamatainak következtében. [PHAM-HUY et al., 2008]. Feltehetően ezen szabad gyökök eliminálását, degradációját valósítják meg a magban található zsiroidékony, nagy antioxidáns kapacitással rendelkező vegyületek, mint amilyenek a tokoferol származékok is.

Bioszintézisüket tekintve elmondható, hogy a tokoferolok szintézisét (13. ábra) a növényekben a környezeti stressz és az arra érzékeny stresszhormonok szabályozzák [SZARKA et al., 2012].



13. ábra. Tokoferol bioszintézise [SZARKA et al., 2012 nyomán].

A tokoferol szintézis (12. ábra) kiindulási vegyületei az aromás aminosav anyagcseréből és az izoprén szintézisből származó intermedierek. A folyamat elején a p-hidroxi-fenilpiruvát (HPP) egy citoszolikus dioxigenáz katalizálta reakciókban dekarboxileződik és homogentizinsav (HGA) képződik belőle. Ezután a homogentizinsavhoz egy homogentizát fitil-difoszfat (PDP) által katalizált reakcióban fitil oldallánc kapcsolódik, és 2-metil-6-fítill-1,4-benzokinol (MPBQ) jön létre.

Az MPBQ kétféle útvonalon alakulhat tovább. Az egyik esetben egy tokoferol-ciklázsal (VTE1) katalizált folyamatban δ -tokoferollá alakul, amiből egy utolsó metileződéssel, a β -tokoferol metiltranszferáz (γ -TMT) jelenlétében β -tokoferol keletkezhet.

A másik esetben a MPBQ előbb metileződik (2,3-dimetil-6-fetil-1,4-benzokinol, DMPBQ) és csak ezután következik a VTE1 enzim katalizálta reakció, melyben γ -tokoferol képződik, mely tovább metileződhet α -tokoferollá [SZARKA et al., 2012]. A növényekben a tokoferol szintézisét a növényeket érő környezeti stressz és a stresszérzékeny hormonok, például jázmonsav, szalicilsav és abszcizinsav (ABA) mennyisége határozza meg. A szintézis szabályozásának eddig két fő elemét azonosították: 1. A HPPD keletkezését a jázmonsav és az ABA szabályozza, 2. Oxidatív stressz hatására a VTE1 erősen indukálódik. Az ábrán az oxidációt piros nyilak, a redukciót pedig zöld nyilak jelzik [SZARKA et al., 2012].

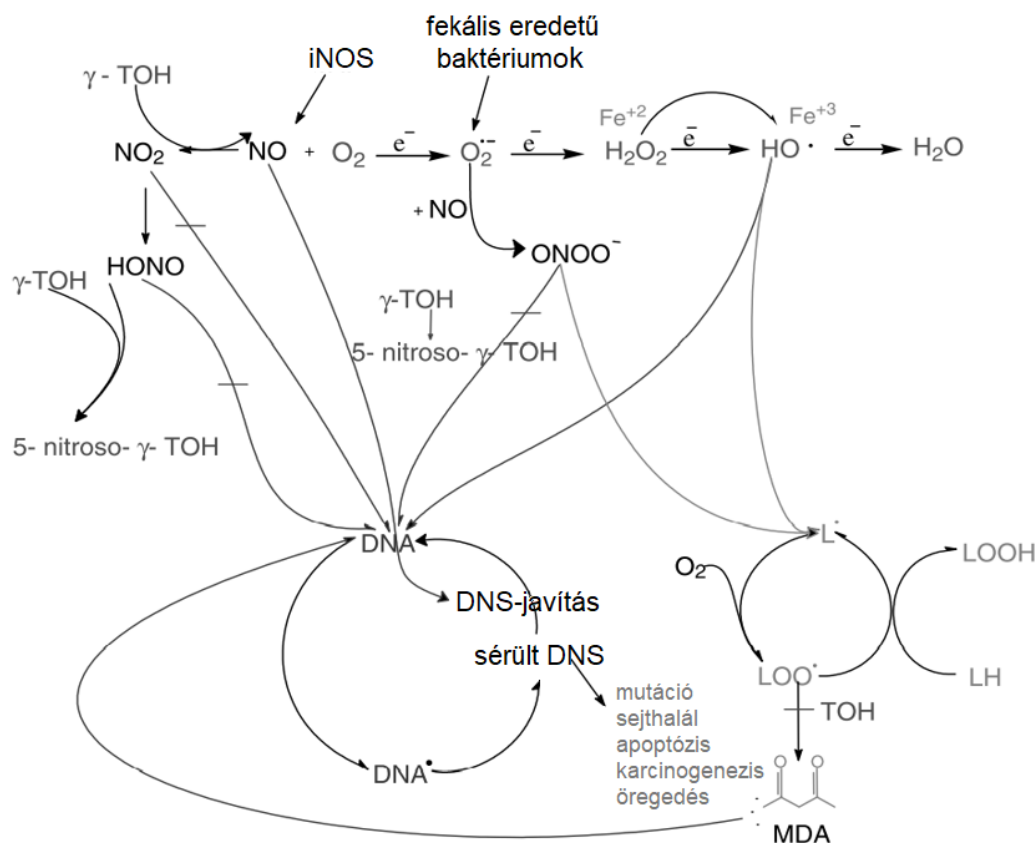
2.2.4.1. Tokoferolok hatása a humán szervezetre

Az E-vitamin formák (tokoferolok és tokotrienolok) számos jótékony biológiai hatással rendelkeznek. Jelenlegi ismereteink szerint csökkentik a véredények permeabilitását és befolyásolják a kollagén képződését, részt vesznek számos gén működésének szabályozásában, továbbá a γ -tokoferol esetében azt is kimutatták már, hogy képes gátolni a humán daganatos sejtek sejtciklusának előrehaladását és a sejtosztódást [BLÁZOVICS, 2009]. De mind közül talán a legismertebb tulajdonságuk, hogy erős antioxidánsok és gyulladáscsökkentők [MANDL, 2004].

2.2.4.2. γ -tokoferol antioxidáns hatása

A γ -tokoferol képes reakcióba lépni a peroxinitrit anionnal - mely a szervezetben a nitrogén-monoxid gyök és a szuperoxid anion reakciójával keletkezik -, és egy stabilisabb formává, 5-nitro- γ -tokoferollá alakítja azt, tehát képes eliminálni a szervezetre káros peroxinitrit anionokat, mely egy igen fontos lépés a reaktív nitrogén-oxidok méregtelenítésében [CAMPBELL et al., 2003].

Mivel a májban csak α -tokoferol transzfer-protein található, ami nem tudja szállítani a γ -tokoferolt, a γ -izomer az eperendszeren keresztül a bélbe jut, ahol hozzájárul a székletben lévő mutagének inaktiválásához, és ezáltal a vastagbélrák kialakulási kockázatának csökkenéséhez [CAMPBELL et al., 2003] (14. ábra).

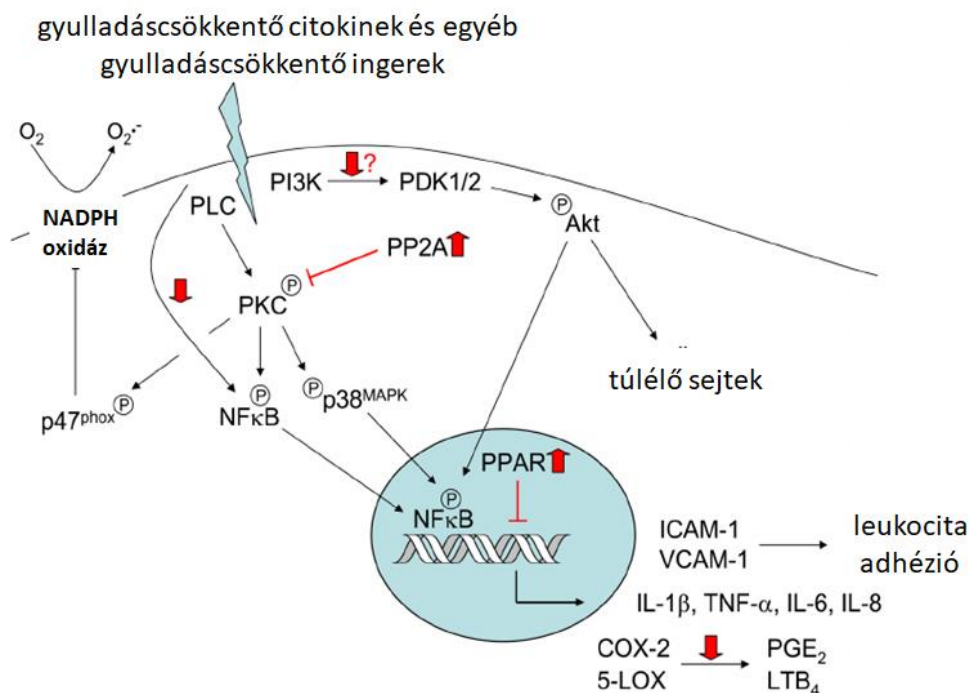


14. ábra. Az RNS (reaktív nitrogén formák) és a reaktív oxigén formák (ROS) kapcsolata a tokoferol aktivitással a vastagbélben [CAMPBELL et al., 2003].

2.2.4.3. A γ -tokoferol gyulladáscsökkentő hatása

Reiter és munkatársainak 2007-ben publikált munkája hívta fel a figyelmet az α és a γ -tokoferol gyulladáscsökkentő hatására, mely kétféle mechanizmuson keresztül valósulhat meg. Ezt a hatást részben a gyulladást kiváltó gének transzkripciójának befolyásolásával, részben pedig az eikozanoid bioszintézisben résztvevő enzimek aktivitásának gátlásával érik el. Míg az előbbiben az α -tokoferolnak, az utóbbiban a γ -tokoferolnak van jelentős szerepe.

Emellett a γ -forma csökkenti a ciklooxygenáz enzim (COX-2) aktivitását is, ezáltal közvetve csökkenti a prosztaglandinok (PGE_2) szintézisét arachidonsavból. Ez azért lényeges, mert a prosztaglandinok felelősek a fájdalom és a gyulladás kialakulásáért, tehát ily módon a γ -tokoferol egy nem szteroid típusú gyulladáscsökkentő hatással is rendelkezik [CAMPBELL et al., 2003; REITER et al., 2007] (15. ábra). Ennek a mechanizmus nem csak a gyulladáscsökkentő hatás tekintetében van jelentősége, ugyanis a γ -tokoferol jótékony hatással van a prosztatatarák kialakulásának megelőzésére és kezelésére is, mivel bizonyított, hogy a COX-2 hozzájárul a prosztatatarák kialakulásához, míg a PGE_2 az áttétképződést segítheti elő [BONN, 2001].



15. ábra. Az α - és a γ -tokoferol által közvetített gyulladáscsökkentő hatások lehetséges molekuláris mechanizmusai [REITER et al., 2007].

2.3. AZ ANTIOXIDÁNSOK MENNYISÉGI ÉS MINŐSÉGI MEGHATÁROZÁSÁNAK JELENTŐSÉGE, NEHÉZSÉGEI ÉS LEHETŐSÉGEI

Az antioxidánsok jótékony hatásáról számos tanulmány született, azonban csak az elmúlt években kezdték vizsgálni, hogy milyen mennyiségben szükséges az antioxidánsok bevétele, illetve, hogy túlzott fogyasztás esetén antioxidatív stressz alakulhat ki. Magas koncentrációban ugyanis sok antioxidáns okozhat kóros elváltozást a szövetekben és a szervekben különböző káros folyamatok megindításával.

Az antioxidánsok a fiziológiai feladatokban fontos szerepet betöltő szabadgyököket is képesek eliminálni, tehát nem csak antioxidáns, hanem prooxidáns tulajdonsággal is rendelkeznek. Például a C-vitamin egy közismert antioxidáns. Azt viszont kevesen tudják, hogy prooxidánsként is viselkedik, ugyanis a túlzott C-vitamin bevitel növeli a vas indukálta lipidperoxidációt (Fenton-reakció) [DÜNDAR, 2000]. A túlzott E-vitamin fogyasztás pedig vérzésekhez vezethet [ANTAL et al., 2012].

Bizonyították azt is, hogy a túl alacsony vagy a túlzott C-vitamin fogyasztás miatt alacsonyabb lesz a szervezet B12-vitamin szintje, mivel a C-vitamin hiánya, illetve feleslege csökkenti a B12-vitamin felszívódását a táplálékból. Bjelakovic és munkatársai (2007) szerint β -karotinnal, A-vitaminnal és E-vitaminnal történő hosszú távú kezelés növelheti a mortalitást.

Fontos lenne tudni tehát, az egyes antioxidánsok valódi antioxidáns kapacitását, mivel így kivédhető lenne, hogy a túlzott mennyiségű bevitel miatt, az antioxidánsok prooxidánsokká váljanak.

Az antioxidáns hatás erősségét általában a következő képpen jellemezhetik: összes antioxidáns aktivitás [RICE-EVANS, 2000; LINDENMEIER et al., 2007], az összes antioxidáns kapacitás [KIRSCHBAUM, 2001; YOUNG, 2001], az összes antioxidáns potenciál [LISSI et al., 1995], a Trolox egyenértékű antioxidáns kapacitás [VAN DEN BERG et al., 1999], a teljes gyökabszorpciós potenciál [Evelson et al., 2001], vas-redukáló / antioxidáns [BENZIE és STRAIN, 1999] és oxigéngyök-abszorpciós kapacitás [CAO és PRIOR 1999] mérik és jellemzik. Hatásmechanizmusukat tekintve ezek a módszerek egy elektronon vagy egy hidrogénatom transzfer reakción alapulnak, ahol az antioxidáns hatású vegyület egy oxidálószerrel vagy egy szabad gyökökkel reagál. A vizsgálat során az antioxidáns vagy az oxidálószer optikai abszorbanciája megváltozik, így ennek mérésével határozható meg az antioxidáns kapacitás.

2.3.1. Mintaelőkészítés - Kioldás hatékonysága: szabad és kötött formák

Az antioxidánsok meghatározása igen összetett analitikai feladat, mivel a minták összetételüket tekintve igen sokfélék és maguk a meghatározni kívánt vegyületek is számos különböző szerkezeti és fizikai tulajdonsággal (például hőre, oxidációra, fényre érzékeny) rendelkeznek. Minden analitikai vizsgálat első és legfontosabb lépése a mintaelőkészítés, mivel, ha ez a lépés nem megfelelően megtervezett és/vagy kivitelezett (homogenitás, kioldás hatékonysága, érzékeny vegyületek bomlása), az ebből fakadó hibákat később már lehetetlen korrigálni és az így kapott eredmények téves következtetésekhez vezethetnek.

Esetünkben az élelmiszerek analitikai vizsgálata során a legtöbb esetben valamilyen kivonattal kell dolgoznunk, melyek elkészítéséhez oldószerkombinációkat (szerves oldószerek (például: metanol, etanol, aceton) és víz elegyét) használunk fel, a vizsgálandó komponensek polaritásának megfelelően. Ez a megoldás azonban általában nem teszi lehetővé az antioxidáns vegyületek teljeskörű kioldását, így az élelmiszervizsgálatok során, csak az extrahálható frakciók elemzése történik meg, ezáltal a nem extrahálható vegyületeket a szilárd extrakciós maradékban figyelmen kívül hagyják. Ennek a problémának elsősorban a polifenolos vegyületek esetében van jelentősége, mivel ezen vegyületek jelentős része kötött formában van jelen a növényi szövetekben. Kutatásuk során már igazolódott, hogy a mátrixhoz kötött vegyületek egészségügyi jelentősége igen nagy [SHAHIDI és YEO, 2016; TANG et al., 2016;

PÉREZ-JIMÉNEZ et al., 2008]. Kedvező élettani hatásukhoz nagyban hozzájárul, hogy a gyomorban és a vékonybélben zajló emésztési folyamatok során nem tudnak felszabadulni, vagyis eljutnak egészen a vastagbélbe, ahol a bélflóra mikroorganizmusainak fermentációja teszi lehetővé a felszívódásukat. Hatásukat igazolták emésztési zavarok, daganatos megbetegedés valamint szív- és érrendszeri betegségek esetében írták le [ANDRESEN et al., 2001; PÉREZ-JIMÉNEZ et al. 2013].

Ennek megfelelően a növényi vegyületeket 2 nagy csoportra oszthatjuk. Azokat, amelyeket az élelmiszerekből vizes-szerves oldószerrel ki tudunk extrahálni, extrahálható polifenoloknak (EPF), míg az extrakció után visszamaradnak nem extrahálható polifenoloknak (NEPF) hívjuk [PÉREZ-JIMÉNEZ és SAURA-CALIXTO, 2015].

A NEPF analitikai elemzését általában nem végzik el, figyelmen kívül hagyják, miközben a ki nem oldható polifenoltartalom időnként sokkal magasabb lehet, mint az EPF frakcióé. A kémiai jellegüket tekintve az NEPF közé elsősorban például a proantocianidinek, egyéb flavonoidok, fenolsavak és hidrolizálható tanninok tartoznak. Ebből kifolyólag a NEPF-at általában további két csoportra osztják: a hidrolizálható tanninok és nem extrahálható proanthocianidinek (NEPA) csoportjára [PÉREZ-JIMÉNEZ et al. 2013; KRISTL et al. 2011].

Az NEPF vegyületek kinyerésére a savas és a lúgos hidrolízis a leggyakrabban alkalmazott eljárás, bár a közelmúltban próbálkozások történtek enzimes módszerek fejlesztésére is [TANG et al., 2016; GÓMEZ-GARCÍA et al., 2012; GUO , 2017; ANOKWURU et al. 2018].

2.3.2. Mérési lehetőségek: mennyiségi és minőségi meghatározások

A növényi minták az előkészítést követően is számos vegyületet tartalmaznak, melyek antioxidáns kapacitását több faktor (a rendszer heterogenitása és heterofázisos jellege, a lipid szubsztrát típusa, ideértve annak fizikai-kémiai állapotát és telítetlenségének fokát, az iniciátorok típusai (átmeneti fémek), a lehetséges kölcsönhatás egyéb komponensekkel) is befolyásolja. Ennek megfelelően az egyes minták jellengének (összetétel, oldhatóság) leginkább megfelelő előkészítési és mérési módszer megtalálása általában hosszadalmas, és rendszerint egyetlen vizsgálati módszer nem is elegendő [FRANKEL és MEYER, 2000].

2.3.2.1. Spektrofotometriás meghatározási eljárások

Az egyik legrégebbi fényelnyelésen alapuló analitikai módszer a kolorimetria, így ennek megfelelően a spektrofotometria az egyik legelterjedtebb mérési technika. Használata a fény

és az anyag kölcsönhatásának vizsgálatán alapul, melynek segítségével azonosítani lehet az atomokkal és molekulákkal kölcsönhatásban lévő fény hullámhosszait, és meghatározható az anyagmennyiség [MORRIS, 2015].

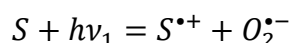
Számos módszer létezik a teljes antioxidáns kapacitás mérésére, melyek a vizsgálati elv és a kísérleti körülmények szempontjából igen eltérőek lehetnek. Annak megfelelően, hogy milyen típusú reakció zajlik le a mérés során a vizsgálatokat két csoportba sorolhatjuk: a hidrogénatom átvitelre (HAT) és az elektron átvitelre (ET) alapuló vizsgálatokra [WANG és CAO, 1997]

A legismertebb és széles körben leginkább alkalmazott eljárások közé tartozik a FRAP (vas-antioxidáns hatást csökkentő vas), az ABTS (2,2'-azino-bisz (3-etil-benzotiazolin-6-szulfonsav)) vagy más néven TEAC (trolox-ekvivalens antioxidáns kapacitás), a DPPH (2,2-difenil-1-pikril-hidrazil) és az ORAC (oxigéngyök abszorpciós képessége) módszer, melyek közül a FRAP, a TEAC és a DPPH az ET módszerekhez tartozik. Ezek közös előnye, hogy kis műszerezettséggel, egyszerűen, olcsón és gyorsan biztosítanak mérési eredményeket, de sajnos vannak hátrányaik és korlátaik. Az említett módszerek legfőbb hátránya például, hogy:

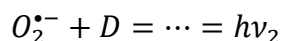
- FRAP módszerrel mért redukálóképesség nem feltétlenül tükrözi az antioxidáns aktivitást, és mivel az eljárás nem tartalmaz oxidálódó szubsztrátot, a vizsgálat nem nyújt információt az antioxidánsok védő tulajdonságairól [PANNALA et al, 2001; FRANKEL és MEYER, 2000].
- A DPPH módszer alkalmazhatósága limitált, egyrészt azért, mert a DPPH gyökök kölcsönhatásba lépnek más gyökökkel (alkil), valamint azért mert a különböző arányú antioxidáns/DPPH reakcióelegyekre kapott válaszgörbék által elért egyensúlyi értékek nem lineárisak egymással [RICE-EVANS és PACKER, 1999; GONZALES-MANZANO et al., 2006; BRAND-WILLIAMS, 1995; SANCHEZ-MORENO et al., 1998].
- A TEAC módszerben használt ABTS^{•+} egy mesterséges gyök, tehát az így mért antioxidáns kapacitás nem feltétlenül tükrözi a valós antioxidáns aktivitást egyrészt azért mert az összetett élelmiszerlipidekben és az élettani szempontból fontos szubsztrátumokban lehetnek másfajta hatásmechanizmus alapján ható antioxidáns hatású vegyületek (pl. fém kelátképzés) is, másrészt pedig azért mert az antioxidánsok megoszlanak a különféle polaritású fázisok között [PANNALA et al, 2001; FRANKEL és MEYER, 2000].

2.3.2.2. Fotokemilumineszcenciás meghatározási eljárások

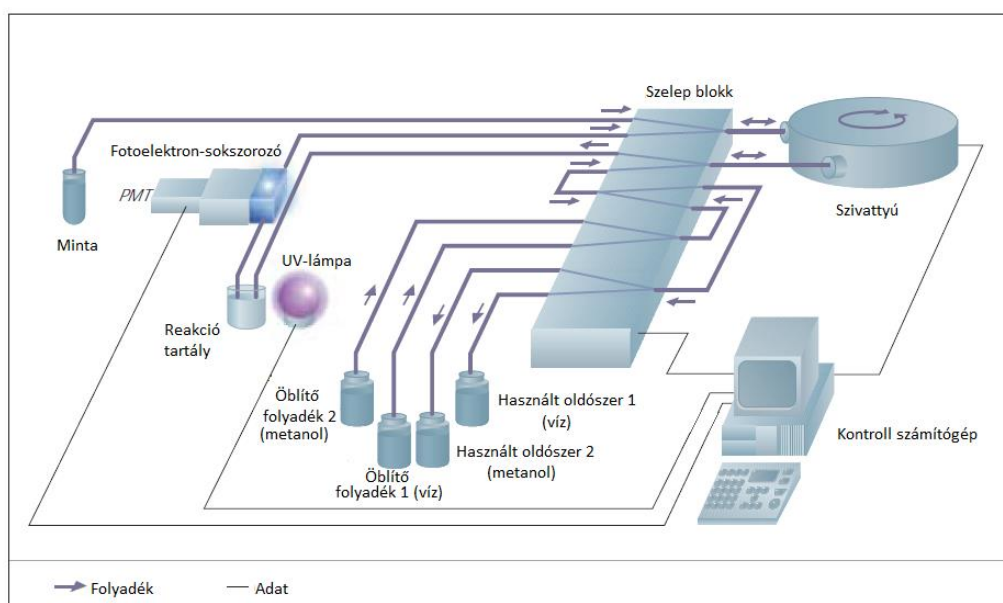
Az antioxidáns kapacitás meghatározásának egy másik, kevésbé ismert lehetősége a fotokemilumineszcencia (PCL, Photo Chemiluminescent method) módszer. A méréshez szükséges a Photochem készüléket (16. ábra) Popov és Lewin (1994, 1996) fejlesztette ki eredetileg a vérplazma antioxidáns kapacitásának mérésére. A módszer fotokemilumineszcencián alapul, melynek alapja az, hogy a mintában lévő fényérzékeny anyag (S) UV-fény hatására ($h\nu_1$) gerjesztődik, és szuperoxid anion gyök képződik ($O_2^{\bullet-}$), melynek egy részét a minta antioxidáns tartalma eliminálja.



Az el nem reagált szuperoxid anionok egy specifikus fotokémiai detektor vegyülettel (D) reagálnak, lumineszcenciát ($h\nu_2$) hozva létre, tehát a lumineszcencia mérésével meghatározható az antioxidánsok kapacitása.



A Photochem a legelső olyan műszer, amely egyaránt képes a vízoldható és a zsírolható antioxidánskapacitás, valamint specifikusan a szuperoxid-dizmutáz enzim antioxidáns kapacitásának meghatározására.



16. ábra. A Photochem készülék feépítése

A vizsgálataink során alkalmazott spektrofotometriás és fotokemilumineszcenciás módszerek előnyeit és hátrányait a 2. táblázat tartalmazza.

2. táblázat. Az antioxidáns kapacitást mérő módszerek összehasonlítása

Módszer	Előnyök	Hátrányok
FRAP	<ul style="list-style-type: none"> • Ez egyszerű, gyors, olcsó és robusztus, nem igényel speciális eszközöket [BENZIE és STRAIN, 1999; BOLIGON et al., 2014]. • Megvalósítható automatizáltan, félautomatizált módon és manuálisan is [BEZIE és STRAIN, 1999]. • Eredetileg a plazmában található antioxidánsok meghatározására alkalmazták, de a módszer már kiterjesztették más biológiai folyadékokra, élelmiszerekre, növényi kivonatokra és gyümölcslevekre is [MAGALHÃES et al., 2008]. • A módszert átdolgozták 96-lyukú microplate-re is, ami kisebb vegyszer mennyiséget igényel, emellett jobb reprodukálhatóságot és gyorsabb mérést tesz lehetővé. 	<ul style="list-style-type: none"> • A mérés során használt TPTZ (2,4,6-trisz(2-piridil)-s-triazin), egy mesterséges vegyület, mely nem fordul elő biológiai rendszerekben. • Nem tudja mérni a módszer azokat az antioxidánsokat, amelyek nem képesek redukálni a Fe(III) ionokat, illetve azokat amelyek a H-atom átvitel útján hatnak., különösen igaz ez a SH-csoportot tartalmazó antioxidánsokra, mint például a tiolok (glutathion, fehérjék) [BOLIGON et al., 2014; PRIOR és CAO, 2000; HUANG et al., 2005]. • A Fe(III) ion hozzáadása további szabad gyökök képződését eredményezheti (Fenton-reakció) [BOLIGON et al., 2014]. • Ez a módszer a sztöchiometria elvén működik, viszont egyes antioxidánsok nem csak egy Fe(III) iont képesek redukálni (az aszkorbinsav, a húgysav és az α-tokoferol például két iont redukál, a bilirubin pedig 4-et, és az albumin egyet sem) [AMORATI és VALGIMIGLI, 2015]. • Egyes vegyületek reakcióideje nagyobb, mint 4 perc, ami befolyásolja mért érték pontosságát [AMORATI és VALGIMIGLI, 2015]. • A reakció nem specifikus, így nem csak az antioxidánsok tudják redukálni a Fe(III) iont, hanem minden megfelelő redoxpotenciállal rendelkező egyéb vegyület is [BENZIE és STRAIN, 1996].
DPPH	<ul style="list-style-type: none"> • A DPPH• egy stabil gyök, mely kereskedelmi forgalomban kapható, így az ABTS^{•+}-kel ellentétben nem kell előállítani a vizsgálat előtt [BOLIGON et al., 2014]. 	<ul style="list-style-type: none"> • DPPH• egy mesterséges gyök, mely nem található meg a biológiai rendszerekben. • A DPPH• és a ROO• közötti lineáris összefüggés csak aprotikus oldószerben áll fenn, míg protikus oldószerben (etanolban,

	<ul style="list-style-type: none"> • Könnyen kivitelezhető és közkedvelt spektrofotometriás módszernek számít, mivel mind a tiszta vegyületek, mind az összetett minták antioxidáns kapacitásának meghatározására alkalmas [BOLIGON et al., 2014]. • Gyors, egyszerű, olcsó és széles körben alkalmazott módszer az élelmiszerek antioxidáns kapacitásának mérésére. Használható továbbá komplex biológiai rendszerekben is, szilárd vagy folyékony mintákhoz egyaránt [PRAKASH,2001; SENDRA et al., 2006]. • Ez egy egyszerű módszer, mely alkalmas a gyümölcs- és zöldséglevék általános antioxidáns képességének, valamint gyökfogó aktivitásának mérésére [PRAKASH,2001; SENDRA et al., 2006]. • A módszert átdolgozták 96-lyukú microplate-re is, ami kisebb vegyszer mennyiséget igényel, emellett jobb reprodukálhatóság és gyorsabb mérést tesz lehetővé. 	<p>metanolban) a DPPH• és a fenolok közötti reakciót erőteljesen befolyásolja a proton-transzfer elektron-transzfer mechanizmus (SPLET) [LITWINIENKO és INGOLD, 2003].</p> <ul style="list-style-type: none"> • A DPPH-gyök szterikus hozzáférhetősége igen meghatározó a lejászódó reakciók tekintetében A kis molekulák, amelyek jobban hozzáférnek a radikális közponjához, viszonylag nagyobb antioxidáns kapacitással rendelkeznek, míg sok nagyméretű antioxidáns vegyület, melyek egyébként gyorsan reagálnak a peroxilcsoportokkal, lassan reagálhatnak vagy akár inerte is lehetnek ebben a vizsgálatban [BOLIGON et al., 2014]. • Egyes vegyületek (például a karotinoidok), melyek abszorbeálják a fényt meghatározás hullámhosszán, vagy zavarosságot okoznak befolyásolhatják a spektrofotometriás mérések pontosságát [APAK et al., 2013]. • A módszer nem alkalmas a plazma antioxidáns kapacitásának mérésére, mivel alkoholos reakcióközegben a fehérjék kicsapódnak [BOLIGON et al., 2014]. • A DPPH• és az antioxidáns hatású vegyületek közötti reakció időigénye lehet 20 perc, de akár 6 óra is [MAGALHÃES et al., 2008].
TEAC	<ul style="list-style-type: none"> • A módszer gyors, és a pH-értékek széles tartományában alkalmazható, ezáltal alkalmas a pH változás hatásainak vizsgálatára is az antioxidáns mechanizmusokban [BOLIGON et al., 2014]. • Az ABTS•+ egy stabil, vízben és szerves oldószerekben is oldódó gyök, ezáltal lehetővé teszi mind a hidrofil, mind a lipofil vegyületek, minták és testfolyadékok antioxidáns kapacitásának meghatározását is [BOLIGON et al., 2014]. 	<ul style="list-style-type: none"> • ABTS•+ egy mesterséges gyök, mely nem található meg a biológiai rendszerekben • A módszer nem tesz különbséget a gyökfogás és a sztöchiometriai meghatározás kinetikája között, és az eredmény függhet az abszorbancia leolvasásához kiválasztott időtől [TIAN és SCHAICH, 2013; PÉREZ-JIMENEZ és SAURA-CALIXTO, 2008].

	<ul style="list-style-type: none"> • Jó reprodukálhatósággal rendelkező és egyszerűen elvégezhető mérés, sok kutatási laboratóriumban használják az antioxidáns kapacitás tanulmányozására, ezáltal már számos vegyület és élelmiszer minta TEAC-értéke ismert [BOLIGON et al., 2014]. • Az ABTS•+ gyorsan reagál az antioxidánsokkal, általában 30 percen belül [BOLIGON et al., 2014]. • A módszert átdolgozták 96-lyukú microplate-re is, ami kisebb vegyszer mennyiséget igényel, emellett jobb reprodukálhatóságot és gyorsabb mérést tesz lehetővé. 	<ul style="list-style-type: none"> • Az egyik fontos limitáló tényező, hogy az ABTS+ egy kation gyök, míg a peroxilcsoport semleges, tehát az antioxidánsok az ABTS•+-sel az elektronátviteli mechanizmus útján reagálnak, míg a peroxilcsoportokkal a H-atom átvitelrel [AMORATI et al., 2012]. • Termodinamikailag bármelyik vegyület csökkentheti az ABTS•+ koncentrációját, mely alacsonyabb redoxpotenciállal rendelkezik, mint az ABTS (0,68 V) [APAK et al., 2013, ANTOLOVICH et al., 2002]. Például sok fenolos vegyület rendelkezik, ilyen alacsony redoxpotenciállal. • Az antocianinok B gyűrűjében a hidroxiláció és a metoxilezés mértéke és elhelyezkedése befolyásolja a stabilitást és a reaktivitást, ezáltal a módszerrel mért antioxidáns kapacitást [MONTORO et al., 2006].
PLC	<ul style="list-style-type: none"> • A szuperoxidcsoport a biológiai rendszerekben megtalálható. • Idő- és költséghatékony módszer, a reagenseket használatra kész kit formájában vásárolhatóak meg [SCHLESIER et al., 2002]. • Egy minta analízise mindössze 3 percet vesz igénybe [SCHLESIER et al., 2002]. • Szabványosított módszer, tehát az eredmények összehasonlíthatók a más vizsgálatokkal mért értékekkel [SCHLESIER et al., 2002]. 	<ul style="list-style-type: none"> • A PCL-mérések nem élettani pH-értéken történnek, így nehéz az élelmiszerekre mért eredményeket átvinni az emberi test fiziológiai környezetébe [PEGG et al., 2007]. • Jelenlegi konfigurációjában egyszerre csak egy minta mérhető vele [SCHLESIER et al., 2002].

2.3.2.3. Kromatográfias meghatározási eljárások

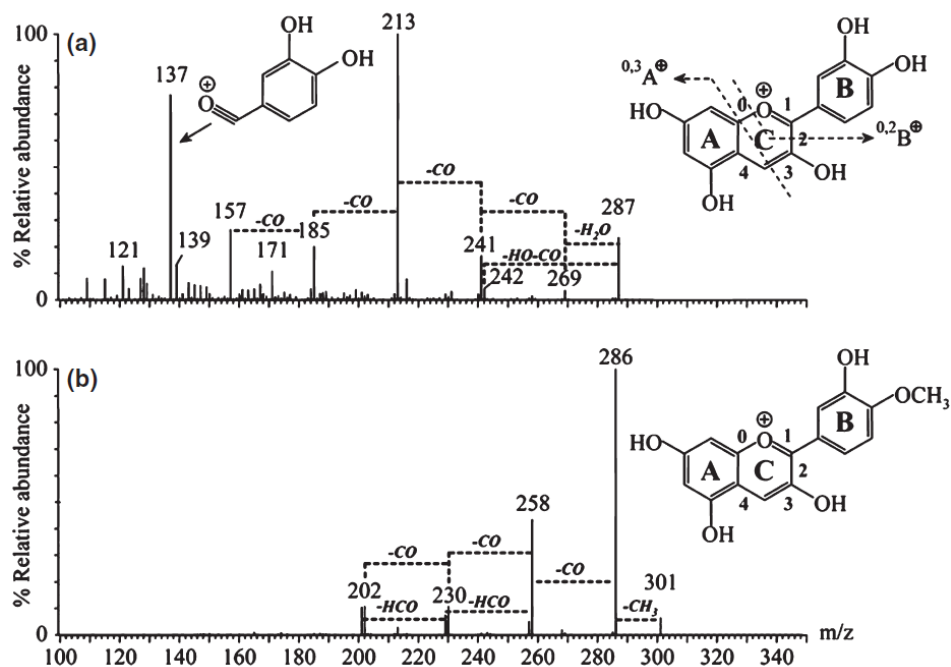
Az egyes növényekben megtalálható vegyületszoptok köre erősen korrelál a növények rendszertani besorolásával, de egy adott fajon belül is megfigyelhetünk mennyiségi és minőségi különbségeket. A fajokon belüli eltérések vizsgálatakor viszont a hasonló szerkezeti felépítés miatt, egy alosztályon belül az UV és a látható fénytartományban felvett spektrum, illetve a tömegspektrum igen hasonló lehet. Emiatt ahhoz, hogy a célkomponensek kis csoportjait is el tudjuk választani egymástól olyan szelektív mérési módszerekre van szükségünk, mint például a HPLC (nagyhatékonyságú folyadékkromatográfia, high-performance liquid chromatography), ahol a megfelelő kromatográfias oszlopok, eluensek, illetve gradiensek kiválasztásával jól elkülöníthetőek még az izomer vegyületek is.

Az lenne az ideális, ha az elválasztás és a mennyiségi és minőségi meghatározás minél szélesebb körben lenne alkalmazható, például a meggy esetében az összes flavonoid alosztályra és a fenolos komponensekre általában. Ennek ellenére a megjelent módszerek általában csak egyes növényfajokra (például szamóca, eper, ribizli) vagy családokra (piros bogyósok) fókuszálnak és ebből kifolyólag csak egy pár alcsoportra. A korábbi példát folytatva, ez annak köszönhető, hogy bár az egyes vegyületszoptokba számos komponens beletartozik, egy bizonyos növény mintában általában csak két vagy három alcsoport jelenik meg, így a módszereket csak erre a két vagy három alosztály elválasztására dolgozzák ki.

2.3.2.4. Kapcsolt rendszerek jellemzése

A meggy esetében a legnagyobb jelentőséggel bíró vegyületszopt a polifenolok. Ezek vizsgálatakor az elektropray ionizáció a legelterjedtebb [DE RIJKE et al., 2006], és a leginkább ismert polifenolok analízisére már az egyszeres tömegspektrométereket (singlestage mass spectrometers, MS) is használhatunk, melyek nagy előnye, hogy viszonylag olcsók, viszont szelektivitásuk jócskán elmarad a tandem tömegspektrométerekétől. A tandem készülékek (MS-MS vagy MSⁿ) közül a polifenolok profilozó vizsgálatához inkább az ionsapdás analizátort tartalmazó készülékeket alkalmazzák, mivel az egymást követő konszekutív fragmentációs képesség alkalmassá teszi ezeket a műszereket az összetettebb polifenol glikokonjugátumok szerkezetének felderítésére is, mivel a glikokonjugátumok fragmentációja jellegzetes, így specifikus információkat nyújt a konjugátumokban megtalálható glikán egységekről is [LIN és HARNLY, 2007; DE RIJKE et al., 2006]. Emellett a hármas kvadrupól készülékek is megfelelőek a polifenolok vizsgálatára, mivel több eltérő célú pásztázási mód használatát teszik lehetővé, valamint kvalitatív meghatározásokban nagyobb linearitási

tartomány és a jobb kimutatási képesség jellemzi őket [PRASAIN et al., 2004]. A 17. ábrán látható az antocianin aglikonok tömegspektruma, ahol megfigyelhető a fregmentálódás következtében kialakuló molekularészletek [PITIJA et al., 2013].



17. ábra. Antocianin aglikonok tömegspektruma [PITIJA et al., 2013].

2.3.3. Az antioxidánsok hatásainak igazolása

Miután az 1990-es évektől kezdve az antioxidánsok kutatása jelentősen bővült, felismerték a betegségek megelőzésében és az egészség megőrzésében rejlő potenciális szerepüket. Ennek megfelelően egyes tiszta vegyületek, ételek és táplálékkiegészítők antioxidáns hatását széles körben tanulmányozták biológiai rendszerekben, például sejtkultúrákban, állatmodellekben és klinikai vizsgálatokban [LIU és FINLEY, 2005; MANACH et al., 2005; WILLIAMSON és MANACH, 2005; LOTITO és FREI, 2006].

Annak ellenére, hogy az *in vitro* kísérletekben kedvezőek az anyagi tulajdonságaik, kevesebb a kísérletben a változók száma, és az egyszerűbb adatfeldolgozás miatt igen közkedveltek, esetükben előfordulhat, hogy a sejtes modellben jól működő molekuláris mechanizmusok nem ültethetők át teljes mértékben az *in vivo* modellrendszerekbe. Ennek megfelelően igen fontos egy *in vitro* kísérletsorozat esetében, hogy eredményeinket *in vivo* kísérletsorozattal is alátámasszuk [LIU és FINLEY, 2005].

2.4. AZ ELHÍZÁS (ÉS TÁRSBETEGSÉGEINEK) LEHETSÉGES EGÉSZSÉGÜGYI KÖVETKEZMÉNYEI

2.4.1. Az elhízás jellemzése

Az elhízás (obesitas) az egyik legelterjedtebb anyagcsere-betegség, és az egészségügy egyik legnagyobb kihívása. Az elhízás gyakorisága háromszorosára nőtt az elmúlt évtizedekben, nemcsak a felnőtt társadalomban és a fejlett országokban, hanem már a gyermekek körében és a fejlődő országokban is [MISRA és KHURANA,2008].

Az Egészségügyi Világszervezet az elhízást gyorsan terjedő globális járványnak tekinti, és hangsúlyozza az elhízással összefüggő kardiovaszkuláris vagy metabolikus társbetegségek prevalenciájának vagy kezelésének fontosságát. Az elhízás nemcsak esztétikai, hanem egészségügyi probléma is. Leggyakoribb szövődményei az *atherosclerosis* (érelmeszesedés), a csökkent glükóztolerancia, az inzulinrezisztencia (IR, Insulin Resistance). A kialakuló 2-es típusú diabetes (Type 2 Diabetes Mellitus, T2DM) megnöveli az olyan krónikus betegségek kockázatát, mint például, a légzőrendszeri (alvási apnoe szindróma), az endokrin rendszeri (menstruáció) megbetegedések, vagy a steatohepatitis (nem alkoholos eredetű zsírmáj) kialakulása [PEDICINO et al., 2012; OLSHANSKY et al., 2005].

Bár alapvetően igaz, hogy ha az energiabevitel meghaladja az energiafelhasználást, az súlygyarapodáshoz és elhízáshoz vezet [SCHWARTZ et al., 2017], az elhízás patogenezisében számos egyéb tényező is szerepet játszik (genetika, epigenetika, életmód). A genetikai adottságok befolyásolják, hogy a szervezet milyen mennyiségű zsírszövet tárolására törekszik és az hogyan oszlik el a testen, de a helytelen életmód, étrend és mozgáskultúra szintén hozzájárulnak a probléma kialakulásához. Ritkább estében az elhízás valamilyen betegségre közvetlenül is visszavezethető (pajzsmirigy alulműködés, mellékvesekéreg túlműködés), de egyes betegségek, mint például az ízületi problémák közvetve is szerepet játszhatnak, mivel korlátozzák a fizikai aktivitást [HOPKINS és BLUNDELL, 2016; MACLEAN et al., 2017; SCHWARTZ et al., 2017].

A legtöbb esetben tehát elmondható, hogy az obesitasért nem kizárólag egyetlen tényező a felelős, hanem e faktorok kölcsönhatásáról van szó. Az egyes tényzők befolyásának mértéke az egyének között, és egy adott személy esetében is folyamatosan változhat [SCHWARTZ et al., 2017; HOPKINS és BLUNDELL, 2016; MACLEAN et al., 2017].

Az obesitas tehát a szervezetben raktározott zsírszövet felszaporodásával jellemezhető krónikus betegség. Az elhízásnak több típusát is ismerjük, ezek a centrális (főként a törzs és has érintett), distalis (főként a comb, csípő érintett) és a lokalizált (például lovaglónadrág-típus)

obesitas. Az elhízás tényének és mértékének megállapításához az alábbi módszerek állnak a rendelkezésünkre: BMI (body mass index, testtömeg index), haskörfogát, derék:csípő arány, testzsírszázalék mérés. Ezek közül a legismertebb és a gyakorlatban leginkább használt a testtömeg index, mely a testtömeg és a méterben mért magasság négyzetének hányadosa (kg/m^2). Alkalmazásakor a felnőttek esetében alkalmazott határértékeket és a hozzájuk tartozó kategóriákat a 3. táblázat tartalmazza [SIMONYI et al., 2012].

3. táblázat. A BMI módszer kategóriái és határértékei [SIMONYI et al., 2012]

Kategóriák	BMI (kg/m^2)
Alultápláltság	<18,5
Súlyos alultápláltság	<16,0
Mérsékelt alultápláltság	16,0-16,99
Enyhe alultápláltság	17-17,49
Normál testsúly	18,5-24,9
Túlsúly (preobesitas)	25,0-29,9)
Elhízás	≥ 30
I. fokú elhízás (enyhe)	30,0-34,9
II. fokú elhízás (mérsékelt)	35,0-39,9
III. fokú elhízás (súlyos, extrém)	≥ 40

Az elhízottság megállapítására ez a technika nem mindig ideális választás, ugyanis vannak olyan „obes” BMI-vel rendelkező egyének, akiknél csak a nagy izomtömeg miatt nagyobb BMI, miközben normál a testzsír tartalmuk, de fordított eset is lehetséges, amikor egy normál BMI-vel rendelkező beteg esetében szaporodik fel az abdominális (hasi zsigerék közötti) zsírszövet. Egészségügyi szempontból legnagyobb jelentősége a centrális, vagy másnéven abdroid obesitasnak van. Az ilyen típusú elhízás mértékének meghatározására a haskörfogát mérése a leginkább alkalmas, mivel a haskörfogát szignifikáns, pozitív korrelációt mutat a hasi zsírszövet mennyiségével [SIMONYI et al., 2012].

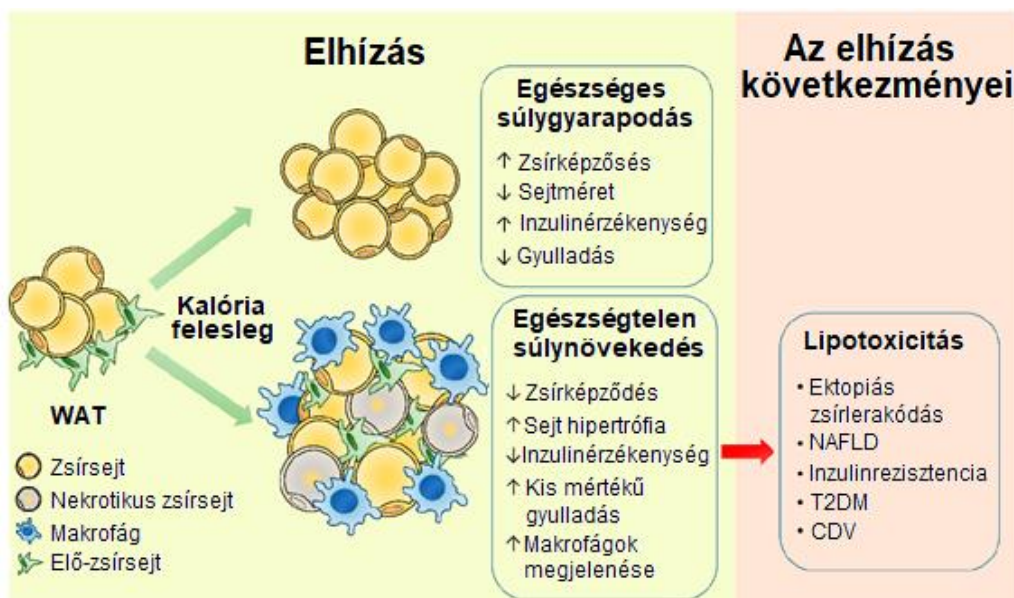
2.4.2. Az elhízás következtében fellépő WAT diszfunkciók és a kapcsolódó anyagcsere-rendellenességek

A fehér zsírszövet (White Adipose Tissue, WAT) egy komplex szerv, amelynek elsődleges szerepe van az energia homeosztázis szabályozásában. Az adipociták nemcsak az energiatárolás és felhasználás szempontjából fontosak, mivel érzékelik az energiaigényeket is,

és paracrin faktorokat választanak el, amelyek szabályozzák az egyéb anyagcserefolyamatokat. Nagyobb mértékű elhízás esetén például a leptin kiválasztódik az adipocitákból, hogy központilag csökkentsék az ételmiszer-bevitelt és növeljék az energiafelhasználást, tehát a zsírszövet fontos szerepet játszik a test glükóz homeosztázisának szabályozásában. [SCHERER, 2006; SUN et al., 2011].

A centrális elhízás esetében elmondható, hogy a WAT működése súlyos károkat szenved, ezáltal nem megfelelően tárolja el a szervezet az energiafelesleget és elkezdődik a zsírlarakódás más szövetekben (lipotoxicitás) [RUTKOWSKI et al., 2015; REILLY és SALTIEL, 2017]. A zsigeri, ectopiás zsírszövet jelentős megnövekedése közvetlenül kapcsolódik az inzulinrezisztencia [SIRONI et al., 2004], a gyulladás, a fibrózis, a hipoxia, a megváltozott adipokin szekréció és a mitokondriális diszfunkció kialakulásához, amelyek mindegyike új terápiás célpontot jelenthet az elhízás kezelésében [KUSMINSKI et al., 2016].

Elhúzódó pozitív energia egyensúlyi körülmények között az adipociták megnövelik a sejtek méretét és számát, hogy ellensúlyozzák a fokozott lipid-tárolási szükségletet (18. ábra). Azonban ezek a sejtek egy idő után eléri azt a határértéket, amikor a sejtek és a szövetek expansiójának korlátai miatt a további anabolikus nyomást már nem képesek tolerálni. Ennek elérése stresszt okoz az adipocitákban és a stresszre válaszul gyulladásos folyamatokat indít be [HUTH et al., 2016; REILLY és SALTIEL, 2017].



18. ábra. Fehér zsírszövetek expansiója [LONGO et al., 2019].

Rövidítések: WAT, fehér zsírszövet; T2DM, 2-es típusú diabetes; NAFLD, alkoholmentes zsíros májbetegség; CVD, szív- és érrendszeri betegségek. WAT-fehér zsírszövet; T2D-2. típusú diabetes; NAFLD, alkoholmentes zsíros májbetegség; CVD- szív- és érrendszeri betegségek

A fehér zsírszövet egészséges vagy egészségtelen tágulással reagál a kalóriafeleslegre. Az adipocita hiperplázia révén történő egészséges terjeszkedés véd az elhízás metabolikus szövődményei ellen. Az egészségtelen terjedés az adipocita hipertrófia révén elősegíti az elhízással kapcsolatos metabolikus szövődményeket.

Az adipocita diszfunkció következtében a zsírszövet proinflammatorikus biomarkereket - prosztaglandinokat, C-reaktív proteineket (CRP) és citokineket (interleukineket, például az interleukin-6), tumor nekrozis faktor alfát (TNF- α) és leptint - választ ki [ELLULU, et al., 2016; DAS, 2001], ami helyi gyulladásokhoz, a reaktív oxigénformák (ROS) túltermeléséhez, az antioxidáns kapacitás csökkenéséhez [Albano, 2006], IR-hoz és a β -sejtek diszfunkciójához vezet. [GABORIT et al., 2015; SINGH et al., 2017].

Az elhízás növekedésével az adiponektin, valamint az anti-ateroszklerotikus adipokin szintje csökken, és a zsírszövet által termelt gyulladásos mediátorok hozzájárulnak a T2DM, a hiperlipidémia és a kardiovaszkuláris betegségek kialakulásához [MARSLAND et al., 2010; GUARNER és RUBIO-RUIZ, 2015], mindemellett az adiponektin szekréció csökkenése az inzulin-receptorfehérjéket is gátolja. Valószínűleg az is hozzájárul az anyagcsere-rendellenességek kialakulásához, hogy ha az izomban magas a zsír aránya, megnő a szabad zsírsavak mennyisége a keringésben, ami nagyobb inzulinszekréciót igényel a glükóz-anyagcsere szabályozására. Az ebből eredő hiperinzulinémia (magas inzulinszint) érzéketlenné teszi az inzulinérzékeny szöveteket, így hajlamosítja a szervezetet a 2-es típusú diabetes re [EATON és EATON, 2017].

Az antocianin indukálja az adiponektin génexpresszióját, javítja az adipocita funkciót *in vitro* és *in vivo* modellen, ezáltal fontos szerepe lehet a metabolikus szindróma megelőzésében [TSUDA, 2008].

Az étkezési szokásokkal összefüggő elhízás esetén, további probléma a szénhidrátban gazdag ételek rendszeres fogyasztása, mivel az étkezés utáni hiperglikémiát eredményez, amely ismétlődő akut gyulladást okozhat, és hozzájárulhat a krónikus gyulladásos állapot kialakulásához [ESPOSITO et al., 2002]. A gyulladásos jel felgyorsítja a triglicerid-anyagcserét és növeli a szabad zsírsavszintet a plazmában. A tartósan magas szabad zsírsavszint következtében aktiválódnak a stressz-kinázok, amelyek gátolják az inzulin jelátviteli útvonalakat, vagyis a szervezet krónikus szisztémás gyulladása növeli az oxidatív stresszt és csökkenti az anyagcsere rugalmasságát, ezáltal állandósítva metabolikus szindróma, inzulinrezisztencia és β -sejtkárosodás alakul ki [DANTZER et al., 2008; NUNN et al., 2010; SEARS és PERRY, 2015].

2.4.3. A 2-es típusú diabetes jellemzése

Az elhízás kritikus kockázati tényező a 2-es típusú diabetes kialakulásában. 2025-re várhatóan több mint 300 millió ember szenved T2DM-vel az elhízás komplikációjaként [COLLABORATION, 2016], mivel a T2DM elsődleges oka az elhízás következtében kialakuló inzulinrezisztencia (IR) a fehér zsírszövetben, a májban és a csontvázizomban, amit a hasnyálmirigy β -sejtek megnövelt inzulinszekrúcióval kompenzálnak [KUSMINSKI et al., 2016]. Az elhízás okozta IR összefüggésben van az elhízással együttjáró más metabolikus rendellenességek széles csoportjával, mint például a diszlipidémia, a nem alkoholos eredetű zsírmáj (NAFLD), a magas vérnyomás [HALL et al., 2015], a koszorúér-betegség és a stroke (akut agyi érkatasztrófa) [VAN GAAL et al., 2006].

Az inzulin csökkenti a vércukorszintet azáltal, hogy indukálja a glükózfelvételt az inzulin-érzékeny szövetekben (vázizom, zsírszövet és máj), és gátolja a máj glükóztermelését. IR akkor fordul elő, amikor az inzulin-érzékeny szövetek elveszítik az inzulinválaszt, vagyis az inzulin által közvetített glükózfelvétel csökken a szövetekben, tehát gátolt az inzulin jelátviteli útja [YE, 2013]. Ennek hatására nő a vér glükózsztintje, ami serkenti a β -sejtek inzulin szekrúcióját [CZECH, 2017]. Számos hipotézis magyarázza az elhízott betegek IR-ért felelős mechanizmusokat (lipotoxicitás, gyulladás, mitokondriális diszfunkció, hyperinsulinaemia, endoplazmatikus retikulum (ER) stressz), és bár nincs egységes mechanizmus elmélet az megállapítható, hogy általában a legtöbb tényezőhöz hozzá társul az elhízás.

A gyulladás is szerepet játszik a 2-es típusú diabetes kialakulásában. A proinflammatorikus markerek (pl.: CRP), vagy a gyulladáscsökkentő markerek (pl.: adiponektin) megnövekedett szintje, előrevetíti a T2DM kialakulását. Ez azt jelenti, hogy a gyulladás az áthidaló kapcsolat az érlemeszesedés és a metabolikus szindróma között [ZIEGLER, 2005].

A plazmában a megemelkedett lipid, glükóz, inzulin szint, valamint a nem alkoholos eredetű zsírmáj és a metabolikus szindróma jellemzően szintén megelőzi az T2DM-et. A peroxiszóma proliferátorral aktivált receptorok (peroxysoma proliferator activated receptor, PPAR) egy transzkripció faktor, amely szabályozza azokat a géneket, amelyek módosítják a vér lipoprotein metabolizmusát és a szöveti lipolízist [VAN RAALTE et al., 2004; CAMPBELL, 2005; NEHLIN et al., 2006]. Az antocianin bevitel csökkenti a hiperlipidémiát az elhízást és az érlemeszesedést. A közelmúltban kimutatták, hogy az izolált antocianinok és az antocianinokban gazdag kivonatok módosítják a PPAR működését [XIA et al., 2005;

MUNOZ-ESPADA és WATKINS, 2006], de az antocianinok hatékonyságát az alábbi esetekben is bizonyították:

a, Meggyel kiegészített étrendet fogyasztó patkányok esetében a teljes koleszterin-, összes triglicerid-, glükóz-, inzulinszintje szignifikánsan csökkent, és a plazma teljes antioxidáns kapacitása szignifikánsan növekedett, a kontrol csoporthoz képest, továbbá a kezelt csoportnál szignifikánsan növekedett a májsejtekben a PPAR- α expressziója. Azt tapasztalták, hogy a meggy jótékony hatással van az inzulinrezisztencia patomechanizmusára és a T2DM-re is [SEYMOUR et al., 2008].

b, A cianidin-3-glükózid hatását vizsgálták 3T3-L1 adipocita sejt kultúrán, amelyen H₂O₂-dal és TNF- α -val indukáltak inzulinrezisztenciát. Azt tapasztalták, hogy a cianidin-3-glükózid védi a 3T3-L1 adipocitákat mert az antocianin gátolja a c-Jun NH₂-terminál kináz aktivitását (GUO et al., 2008).

c, Cassidy és munkatársai (2015) megállapították, hogy a rendszeres antocianinokban dús táplálkozás kulcsfontosságú tényező lehet a krónikus betegségek kockázatának csökkentésében. Ezt a kijelentést egy 18 éven át tartó kutatás eredményeire alapozták, melyben fiatal és középkorú nők esetében a magas antocianintartalmú étel fogyasztása (hetente 3x) csökkentette a miokardiális infarktus kockázatát. Véleményük szerint az életmód változtatás, illetve a gyulladáscsökkentő tulajdonságokkal rendelkező biológiailag aktív molekulákat tartalmazó étrend fogyasztása, jelentősen csökkentheti a T2DM és a koszorúér-betegség (Coronary artery disease-CAD) kialakulásának kockázatát, mivel csökkentheti a T2DM-mel járó nagy kardiovaszkuláris terheket [CASSIDY et al., 2013].

d, A cianidin-glükózidok, humán neutrofil granulocitákból izolált, lipoxigenáz enzimre gyakorolt inhibíciós aktivitásának *in vitro* vizsgáltában Knaup és munkatársai (2009) megállapították, hogy az antocianin vegyületek jó inhibítorai a lipoxigenáz enzimnek. A humán lipoxigenázok közül az 5-lipoxigenáz enzim felelős a leukotriének bioszintéziséért, amelyek hatásos mediátorok a gyulladásos és allergiás folyamatokban, tehát e kórképek megelőzésében az 5-lipoxigenáz-gátlásnak jelentős szerepe lehet [KNAUP et al., 2009].

e, Mindezek mellett Mulabagal és munkatársai 2007-ben *in vitro* kísérletekkel igazolták a cianidin-glikozidok COX I és COX II enzimekre gyakorolt inhibíciós aktivitását 5 μ M koncentrációban.

2.4.4. Az elhízás és a T2DM megelőzése és kezelése

A T2DM-ben szenvedők száma világszerte növekszik. Ezt a betegséget az inzulinrezisztencia és a hasnyálmirigy Langerhans szigeteiben elhelyezkedő β -sejtek diszfunkciója jellemzi, amely mikro- és makrovaszkuláris szövődményekhez vezet. Bár léteznek bizonyos farmakológiai stratégiák és műtéti beavatkozások az obesitas kezelésére, az elhízás megbízható és biztonságos kezelése még mindig nincs hatékony megoldás.

Az elhízás okai nyomán az étkezési és életmódbeli beavatkozások megfelelőnek tűnhetnek az elhízás kezelésére és a metabolikus változások megelőzésére. A mérsékelt és progresszív fogyás javítja a különféle szövetek anyagcseréjét és befolyásolja a zsírszövetek fő biológiai útvonalaiiban a dózisfüggő folyamatokat, fenntartásuk hosszú távon sokszor nehézségeket okoz vagy nem kivitelezhető [MAGKOS et al., 2016].

Az antocianin fokozza az inzulin szekréciót [JAYAPRAKASAM et al., 2005; ROY et al., 2008; NIZAMUTDINOVA et al., 2009], hatására nő a GLUT-4 (Glucose transporter type 4, glukóztranszporter 4) expressziója, valamint növeli a GLUT-4 transzlokációját, ezáltal fokozza a glükóz felvételt a sejtekben [NIZAMUTDINOVA et al., 2009]. Számos polifenolt tartalmazó extraktumokról igazolták, hogy hatékony α -glükozidáz inhibitor, csak úgy, mint a szintetikus inhibitorok pl.: az akarbóz, amelyet jelenleg terápiásan alkalmaznak a T2DM-ban szenvedőknél [TOELLER, 1994]. Összefoglalva az antocianinról elmondható, hogy azáltal csökkentik a vércukorszintet, hogy javítja az inzulinrezisztenciát, védi a β -sejteket, növeli az inzulin szekréciót és csökkentik a cukrok emésztését a vékonybélben.

Friedman és munkatársai (2004) a leptin felfedezésével reményeket keltettek az elhízás kezelésére, de hamar kiderült, hogy nem képes hatékonyan előidézni a telítettség érzését és érdemben csökkenteni a táplálékbevitel [FREDERICH et al., 1995; CONSIDINE et al., 1996]. Az exogén módon beadott leptin csökkenti a táplálékbevitelt és a testtömeget sovány egerekben, azonban hatástalan maradt olyan egerek esetében, melyeknél az elhízást magas zsírtartalmú étrenddel váltották ki (diet-induced obese mice, DIO egerek) [HALAAS et al., 1997], ennek oka a leptinrezisztencia kialakulása.

Az eddigi kudarcok ellenére, az már bizonyos, hogy egyes élelmiszerek, illetve bizonyos biológiailag aktív komponensek segíthetnek a kórképek megelőzésében és kezelésében. Például a bioaktív vegyületekben gazdag étrend aktívan javíthatja a WAT működését, ezért jótékony hatással lehet az elhízás klinikai tüneteire [ROSA et al, 2012; SIRIEARDHANA et al., 2013]. Ez az oka annak, hogy az elmúlt évtizedben fokozódott a tudományos érdeklődés az ilyen komponensek, például az antocianinok lehetséges terápiás hatásainak kutatása iránt.

3. ANYAG ÉS MÓDSZER

3.1. FELHASZNÁLT ANYAGOK

3.1.1. Meggy

A kísérleti munkákhoz használt, különböző évjáratú és termesztési technológiájú meggyfajtákat az Újfehértói Gyümölcsstermesztési Kutató és Szaktanácsadó Nonprofit Közhasznú Kft., valamint a Pallagi Kertészeti Kísérleti Telep segítségével szereztük be, valamint a Mirelite Mirsa ZRt.-től vásároltuk. A gyümölcsök a biológiai érettség állapotában kerültek leszedésre, és hűtött körülmények között tárolták, majd szállították a Debreceni Egyetem, Mezőgazdaság-, Élelmiszertudományi és Környezetgazdálkodási Kar (MÉK) Élelmiszertechnológiai Intézetébe, ahol fagyaszóban (-20 °C-on) tároltuk a feldolgozásig, és ahol a méréseket elvégeztük.

3.1.2. Egerek

Kisállatkísérletünkhöz 35 hím C57BL/6J egeret szereztünk be az Innovo Kft-től, ami a The Jackson Laboratory magyarországi forgalmazója. A kísérlethez felhasznált egértápokat (standard (S8106-S011 SM R/M-Z+H) és magas zsírtartalmú (RM AFE 45% FAT SY (P)) egértápot a Special Diets Services-től (Egyesült Királyság) vásároltuk.

3.1.2.1. Etikai engedély

Az egerekkel végzett összes kísérletet az Európai Közösség és a Debreceni Egyetem Állatkutatói Bizottságának kísérleti állatok gondozására és felhasználására vonatkozó irányadó elveinek megfelelően végeztük el (etikai kódszám: 15/2013 / DE MÁB, az etikai benyújtás jóváhagyásának időpontja: 2013. április 15.).

3.1.3. Felhasznált vegyszerek és oldószerek

Kísérleteinkhez az analitikai tisztaságú vegyszereket és standardokat, valamint a HPLC és az UHPLC analízisekhez a HPLC gradiens tisztaságú oldószereket, illetve a minták tisztításához szükséges eszközöket a következő gyártóktól szereztük be:

- Sigma (Sigma-Aldrich, Németország): kristályvizes vasklorid ($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$), TPTZ (2,4,6 tripiridil-S-triazin), ABTS (2,2'-azino-di-(3-etilbenzotiazolin)-6-szulfonsav), Folin-Ciocalteu reagens, kálium-perszulfát ($\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$), kristályvizes alumíniumklorid ($\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$), Na-karbonát (Na_2CO_3), aszkorbinsav, Na-acetát ($\text{C}_2\text{H}_3\text{NaO}_2$), Trolox (6-

- hidroxi-2,5,7,8-tetrametilkromán-2-karboxilsav), procianidin A2 és a polifenol sztenderdek (daidzein, galluszsav, kvercetin, rutin, klorogénsav, neoklorogénsav, cianidin-3-*O*-glikozidot, genisztein, genisztin), SOD enzim, α -amiláz, proteáz, SupelcleanTM ENVITM-18, 3 mL Tubes No. 57063,
- VWR International (USA): Keracyanin chloride (Cyanidin-3-ruthinoside chlorid), HPLC tisztaságú metanol, etanol, hangyasav és acetonitril,
 - AppliChem (Németország): Kuromanin chloride (Cyanidin-3-glucoside chloride), Oenin chloride (Malvidin-3-glucoside) chloride, Malvidin chloride (Malvidin-3,5-diglucoside chloride),
 - Alfa Aesar Chemicals (Németország): tokoferol standardok,
 - Novozymes (Dánia): Pectinex xxl
 - BPS Business Power System Kft. (Analytic Jena, Németország): a PLC méréshez szükséges ACW, ACL kettek,
 - R&D Systems (USA) Mouse adiponectin and resistin enzyme linked immunosorbent assay kits (MRP300 és MRSN00),
 - EMD Millipore Corp. (USA) MILLIPLEX MAP Mouse Metabolic Hormone Magnetic Bead Panel (MMHMAG-44K).

3.2. MINTÁK ELŐKÉSZÍTÉSE

3.2.1. Szárítás

Mivel egyes vizsgálatok során a mintában lévő víz kedvezőtlenül befolyásolhatja a mérési eredmény pontosságát, esetenként szükségünk volt a minta kíméletes szárítására, amit liofilizálással biztosítottunk.

A friss mintákat kimagoztuk, daraboltuk, előfagyasztottuk (-80 °C-on, 2 óra), majd liofilizálásig -18 °C-on tároltuk. CHRIST ALPHA 1-4 LSC típusú berendezéssel végeztük a szárítást -20 °C-on (a kezdeti polc hőmérséklet +20 °C, a nyomás 0,1030 kPa) 12 órán át. A liofilizálási fázist a teljes száradás érdekében háromszor végeztük el és az ismétlések között mintákat porítottuk. A folyamat előtti és utáni tömegek ismeretében a későbbiekben vissza tudtuk számolni a mérési eredményeket nyers tömegre.

3.2.2. A meggy magok olajtartalmának kinyerése

A gyümölcs hús eltávolítása után a magokat szobahőmérsékleten szárítottuk, fajtánként lemértük a magok tömegét (Sartorius B1210S analitikai mérleg), és feltörtük a magokat, hogy

a csonthéjat elválasszuk az endospermiumtól, melyet dörzsmozsárban homogenizáltunk. A mintákat BIOSAN MSH300 mágneses keverőn 45 ml n-hexánnal kevertettük (1 óra). A kivonást követően a mintákat szűrőpapíron szűrtük, és a keletkezett permeátumot BÜCHI R-210 vákuumbepárlóval pároltuk be. A módszer utolsó lépéseként a visszamaradt apoláris frakciót centrifugáltuk („2-16 Sartorius” (Sigma), 5 perc, $10000 \frac{1}{perc}$). Az olajokat a műszeres mérésekig hűtve (-20 °C-on) tároltuk.

3.2.3. A liofilizált minták előkészítése antioxidáns kapacitás meghatározására

Az antioxidáns aktivitás vizsgálatához a liofilizált mintákból 25 mg/cm³ koncentrációjú oldatokat készítettünk Eppendorf csövekben. Az oldatok elkészítéséhez az adott vizsgálati módszerekhez előírt oldószereket használtuk fel (4.5. fejezet: FRAP – desztillált víz, DPPH - metanol, TEAC – metanol, ACW – desztillált víz, ACL - metanol). A szilárd és folyadék fázis elválását centrifugával (5 perc, $10000 \frac{1}{perc}$) segítettük elő, és a vizsgálatokhoz az így kapott felülúszókat használtuk fel.

3.2.4. Az antocianinok kivonása

A friss meggymintákat kimagoztuk, majd Braun Multiquick mixer segítségével homogenizáltuk. Az extrahálást 96 % (m/m)-os etanol, víz és ecetsav (25:24:1) elegyével végeztük el. A kioldás során (1 óra) folyamatos keverést biztosítottunk. Durva szűrést követően a szilárd és folyadék fázis elválását centrifugával (5 perc, $10000 \frac{1}{perc}$) segítettük elő. A meggyből kioldott vegyületekből az antocianinok kivonását Supelclean ENVI-18 SPE oszlopokon végeztük [KIM et al., 2005]. Az oszlopok kondicionálását 5 mL EtOH-lal végeztük, melyet 5 mL desztillált vízzel mostunk le a töltetről. Oszloponként 1 mL meggykivonatot adagoltunk, majd az antocianinok eluálása 80 % (m/m)-os vizes etanollal történt. Az eluálószer vákuumbepárlóval távolítottuk el (40 °C, Heidolph Hei-VAP Value rotary evaporator (Németország)) [HOMOKI et al, 2016].

3.3. MEGGYKIVONATOK KÉSZÍTÉSE

3.3.1. Kioldható antioxidánsok kivonása

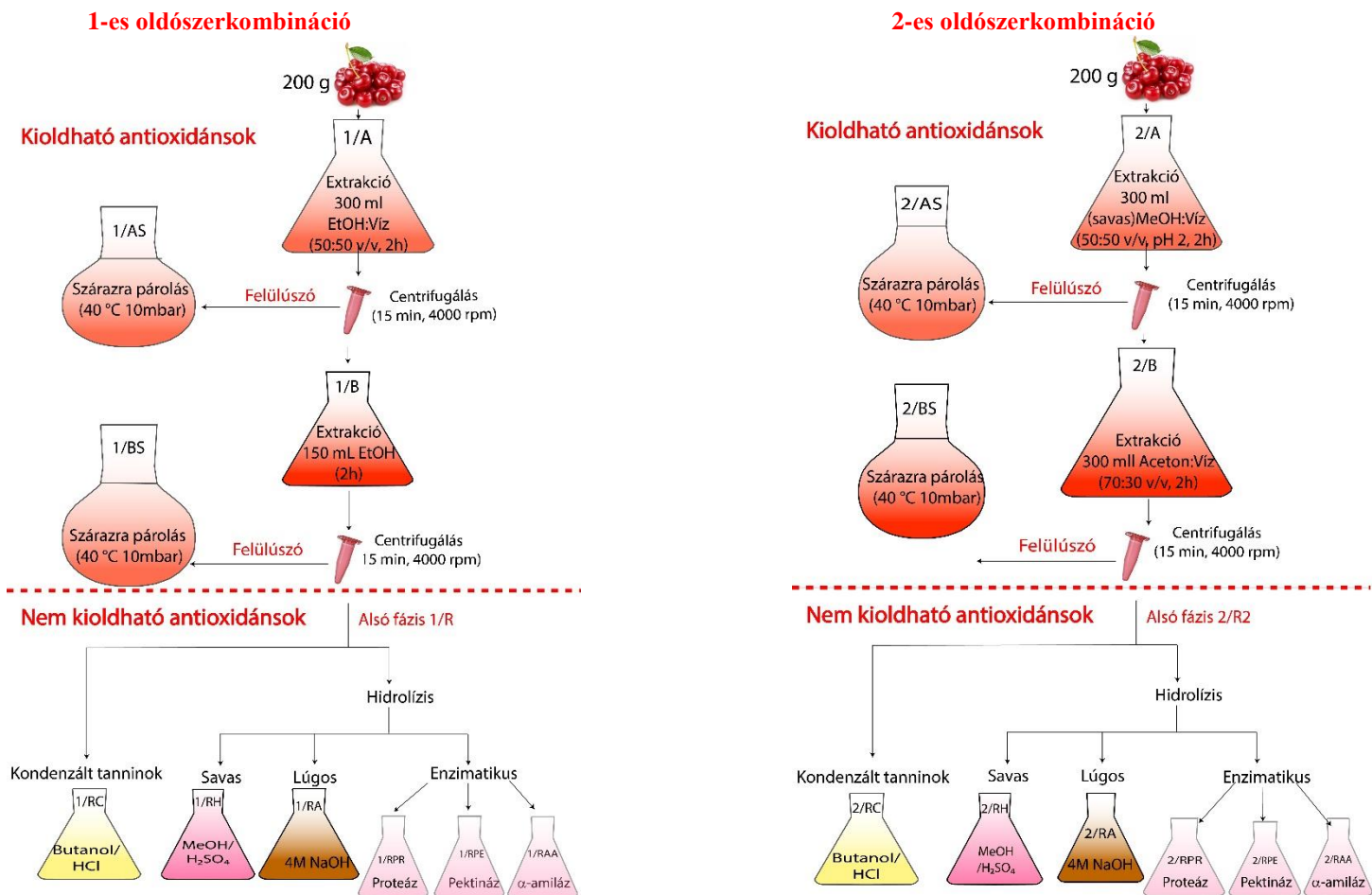
Az extrakcióhoz magozott, fagyasztott meggyet használtunk fel, melyet kiolvasztást követően Braun Multiquick mixer segítségével homogenizáltuk. Az antioxidáns hatású vegyületek kioldásához két oldószer elegyet használtunk fel (19. ábra).

3.3.1.1. A kioldható antioxidánsok extrakciója etanol és víz elegyével (1-es oldószerkombináció)

200 g mintát 150 mL etanol (96 %) és 150 mL desztillált víz elegyével extraháltunk folyamatos keverés mellett 2 órán át (1/A). A kivonási idő letelte után a szilárd és folyadék fázis elválását „Eppendorf Cetrifuge 5810R” (Eppendorf) típusú laboratóriumi centrifugával (15 perc, $4000 \frac{1}{perc}$) segítettük elő, majd eltávolítottuk a felülúszót. A visszamaradt rosthhoz 150 mL etanolt (96 %) adtunk, majd újabb 2 órán át kevertettük (1/B). Centrifugálás után (15 perc, $4000 \frac{1}{perc}$) eltávolítottuk a felülúszót. A felülúszók bepárlását különböző kombinációkban is elvégeztük. Az 1/A és az 1/B kivonatok felülúszóit bepároltuk külön-külön (1/AS és 1/BS), valamint egybe öntve is (1/AS + 1/BS). Az oldószert vákuumbepárlóval távolítottuk el (40 °C, Heidolph Hei-VAP Value rotary evaporator (Németország)). A szétválasztást követően visszamaradt rostot (1/R) liofilizáltuk, homogenizáltuk (Gorenje SMK 150 B kávédaráló), és a további felhasználásig fagyasztóban (−20 °C) tároltuk.

3.3.1.2. A kioldható antioxidánsok extrakciója metanol és aceton felhasználásával (2-es oldószerkombináció)

200 g mintát extraháltunk 300 mL savas metanol (HCL) és víz elegyével (50:50; pH 2) folyamatos keverés mellett 2 órán át (2/A). A kivonási idő letelte után a szilárd és folyadék fázis elválását laboratóriumi centrifugával (15 perc, $4000 \frac{1}{perc}$) segítettük elő, majd eltávolítottuk a felülúszót. A visszamaradt rosthhoz 300 mL aceton/víz (70:30 %(v/v)) adtunk, majd újabb 2 órán át kevertettük (2/B). Centrifugálás után (15 perc, $4000 \frac{1}{perc}$) eltávolítottuk a felülúszót. A felülúszók bepárlását különböző kombinációkban is elvégeztük. Az 2/A és az 2/B kivonatok felülúszóit bepároltuk külön-külön (2/AS és 2/BS), valamint egybe öntve is (2/AS + 2/BS). Az oldószert vákuumbepárlóval távolítottuk el (40 °C, Heidolph Hei-VAP Value rotary evaporator (Németország)). A szétválasztást követően visszamaradt rostot (2/R) liofilizáltuk (ScanVac CoolSafe 55-4 Pro lyophilizer), homogenizáltuk (Gorenje SMK 150 B kávédaráló), és a további felhasználásig fagyasztóban (−20 °C) tároltuk [SAURA-CALIXTO és GOÑI, 2006].



19. ábra. Az antioxidánsok kivonásának ábrája meggyből.

Rövidítések: 1/AS: bepárolt etanol:víz kivonat; 1/BS: az etanolos, vizes kivonást követő etanol kivonat bepárolva; 1/AS + 1/BS: az 1/AS és az 1/BS kivonat együtt bepárolva; 2/AS: bepárolt savas metanol:víz kivonat; 2/BS: a savas metanolos, vizes kivonást követő acetonsavas kivonat bepárolva; 2/AS + 2/BS: a 2/AS és a 2/BS kivonat együtt bepárolva; 1/R: az 1-es oldószerkombinációs kivonás után visszamaradt száraz rost; 1/RC: az 1/R rost hidrolizálható tanninos kivonásából származó felülűsző; 1/RH: az 1/R rost kondenzát tanninos kivonásából származó felülűsző; 1/RA: az 1/R rost lúgos hidrolíziséből származó felülűsző; 1/RPR: az 1/R rost proteáz enzim hidrolíziséből származó felülűsző; 1/RPE: az 1/R rost pektináz enzim hidrolíziséből származó felülűsző; 1/RAA: az 1/R rost α-amiláz enzim hidrolíziséből származó felülűsző; 2/R: a 2-es oldószerkombinációs kivonás után visszamaradt száraz rost; 2/RC: az 2/R rost hidrolizálható tanninos kivonásából származó felülűsző; 2/RH: az 2/R rost hidrolizálható tanninos kivonásából származó felülűsző; 2/RA: az 2/R rost lúgos hidrolíziséből származó felülűsző; 2/RPR az 2/R rost proteáz enzim hidrolíziséből származó felülűsző; 2/RPE: az 2/R rost pektináz enzim hidrolíziséből származó felülűsző; 2/RAA: az 2/R rost α-amiláz enzim hidrolíziséből származó felülűsző.

3.3.1.3. A kivonatok előkészítése az UHPLC-s vizsgálatokhoz

A meggykivonatokban (1/A + 1/B és 2/A + 2/B) lévő antocianinok kinyerésére Supelclean ENVI-18 SPE oszlopokat használtunk. Az oszlopok kondicionálását 5 mL EtOH-lal végeztük, melyet 5 mL desztillált vízzel mostunk le a töltetről. Oszloponként 1 mL meggykivonatot adagoltunk, majd az antocianinok eluálása metanol:víz; 80:20 eleggyel történt. Ez eluálószer vákuumbepárlóval távolítottuk el (40 °C, Heidolph Hei-VAP Value rotary evaporator (Németország)) [KIM et al., 2005].

3.3.2. Nem kioldható antioxidánsok kivonása hidrolízissel

A többlépcsős extrakció után visszamaradt rost kötött formában továbbra is tartalmaz antioxidánsokat. A nem kioldható antioxidánsok kinyerésére különböző elven működő hidrolizáló eljárásokat alkalmaztunk (19. ábra).

3.3.2.1. Hidrolizálható tanninok kivonása

A két oldószerkombinációval történt kivonásból visszamaradt szárított rostokból kimértünk 10–10 mg-ot, majd hidrolizáltuk 2 mL metanol és 200 µL kénsav (98 % (m/m)) elegyében (20 óra, 85°C). A hidrolizátumot „Eppendorf Cetrifuge 5810R” (Eppendorf) típusú laboratóriumi centrifugával centrifugáltuk ($4574 \frac{1}{perc}$, 10 perc), majd a felülúszót eltávolítottuk. A visszamaradt rostot 2-2 mL desztillált vízzel kétszer mostuk és centrifugálás után a felülúszókat egybe gyűjtöttük. [HARTZFELD et al., 2002]. Az 1/R rostból származó felülúszót 1/RH-nak, a 2/R rostból származót 2/RH-nak neveztük el.

3.3.2.2. Kondenzált tanninok kivonása

A két oldószerkombinációval történt kivonásból visszamaradt szárított rostokból kimértünk 10–10 mg-ot, majd 3 mL HCl (37 % (m/m)/butanol (5:95) és 100 µL 2 % (m/m)-os FeCl₃-oldat elegyével hidrolizáltuk 100 °C-on 3 órán át. A hidrolizátumot „Eppendorf Cetrifuge 5810R” (Eppendorf) típusú laboratóriumi centrifugával centrifugáltuk ($4574 \frac{1}{perc}$, 10 perc), majd a felülúszót eltávolítottuk. A visszamaradt rostot 2-2 mL HCl (37 % (m/m)/butanol (5:95) elegyével kétszer mostuk és centrifugálás után a felülúszókat egybe gyűjtöttük. [REED et al., 1982; PORTER et al., 1985]. Az 1/R rostból származó felülúszót 1/RC-nek, a 2/R rostból származót 2/RC-nek neveztük el.

3.3.2.3. Nem kioldható antioxidánsok kivonása lúgos hidrolízissel

Bár a hidrolizáló eljárások közül a legismertebbek a savas hidrolizáló eljárások, a lúgos hidrolizálásnak is nagy jelentősége van. A gyakorlatban sokkal könnyebben kivitelezhető a savas hidrolízissel szemben, ugyanis nem igényel hosszas vízfürdős kezelést (85-100 °C, 3-20 óra). Ugyanakkor az irodalom szerint a kinyerhető mennyiségre nem sokkal marad el a savas hidrolízissel nyerhető mennyiségtől. Ezért a mintáinkat NaOH-os kezeléssel is előkészítettük a további vizsgálatok elvégzéséhez (17. ábra).

A két oldószerkombinációval történt kivonásból visszamaradt szárított rostokból kimértünk 0,1 g-ot, majd 5 mL NaOH-dal (4 mM) hidrolizáljuk 25 °C 1 órán át. A hidrolizátumot „Eppendorf Cetrifuge 5810R” (Eppendorf) típusú laboratóriumi centrifugával centrifugáltuk ($4000 \frac{1}{perc}$, 10 perc), majd a felülúszót eltávolítottuk. A visszamaradt rostot 2-2 mL desztillált vízzel kétszer mostuk és centrifugálás után a felülúszókat egybe gyűjtöttük. [ANOKWURU et al., 2018]. Az 1/R rostból származó felülúszót 1/RA-nak, a 2/R rostból származót 2/RA-nak neveztük el.

3.3.2.4. Nem kioldható antioxidánsok kivonása enzimes hidrolízissel

Az erőteljesebben ható hidrolizáló eljárások (savas, lúgos) mellett nagy jelentősége van az enzimes eljárásoknak is. Ebben az esetben az ez eljárás előnye, hogy az enzimes eljárásokkal azokat a mártixalkotókat (fehérjéket, rostokat és cukrokat) bontjuk le, melyekhez az antioxidáns hatású vegyületek kötődnek. Ezzel a módszerrel az értékes vegyületek várhatóan kisebb károsodást szenvednek el. Az irodalomban azonban nem találtuk adatot arra, hogy ez a gyengéd eljárás milyen hatással van a kinyerhető mennyiségre. Ezért a mintáinkat három különböző enzimmal is kezeltük a további vizsgálatok elvégzéséhez (19. ábra).

Enzimes hidrolízis proteázzal

A két oldószerkombinációval történt kivonásból visszamaradt szárított rostokból kimértünk 0,1 g-ot, majd 5 mL DPBS-t és 10 µL Tirozint (50 mg/mL; 3550 Tirozin units/mL) adtunk hozzájuk. A mintákat 1 órán át inkubáltuk 60 °C-on. Az enzimes hidrolízis leállításához a mintákat 10 percig 100 °C-on forraltuk. A hidrolizátumot „Eppendorf Cetrifuge 5810R” (Eppendorf) típusú laboratóriumi centrifugával centrifugáltuk ($4000 \frac{1}{perc}$, 5 perc), majd a felülúszót eltávolítottuk. A visszamaradt rostot 2-2 mL desztillált vízzel kétszer mostuk és

centrifugálás után a felülúszókat egybe gyűjtöttük. [ANOKWURU et al., 2018]. Az 1/R rostból származó felülúszót 1/RPR-nek, a 2/R rostból származót 2/RPR-nek neveztük el.

Enzimes hidrolízis pektinázzal

A két oldószerkombinációval történt kivonásból visszamaradt szárított rostokból kimértünk 0,1 g-ot, majd 5 mL DPBS-t és 10 µL Pektinázt (Pectinex XXL) adtunk hozzájuk. A mintákat 1 órán t inkubáltuk 25 °C-on. Az enzimes hidrolízis leállításához a mintákat 5 percig 100 °C-on forraltuk. A hidrolizátumot „Eppendorf Cetrifuge 5810R” (Eppendorf) típusú laboratóriumi centrifugával centrifugáltuk ($4000 \frac{1}{perc}$, 5 perc), majd a felülúszót eltávolítottuk. A visszamaradt rostot 2-2 mL desztillált vízzel kétszer mostuk és centrifugálás után a felülúszókat egybe gyűjtöttük. [GUO, 2017]. Az 1/R rostból származó felülúszót 1/RPE-nek, a 2/R rostból származót 2/RPE-nek neveztük el.

Enzimes hidrolízis α-amilázzal

A két oldószerkombinációval történt kivonásból visszamaradt szárított rostokból kimértünk 0,1 g-ot, majd 5 mL DPBS-t és 10 µL α-amilázt (3000 Units/mL) adtunk hozzájuk. A mintákat 10 percig inkubáltuk 37 °C-on. Az enzimes hidrolízis leállításához a mintákat 20 percig 100 °C-on forraltuk. A hidrolizátumot „Eppendorf Cetrifuge 5810R” (Eppendorf) típusú laboratóriumi centrifugával centrifugáltuk ($4000 \frac{1}{perc}$, 5 perc), majd a felülúszót eltávolítottuk. A visszamaradt rostot 2-2 mL desztillált vízzel kétszer mostuk és centrifugálás után a felülúszókat egybe gyűjtöttük. [ANOKWURU et al., 2018]. Az 1/R rostból származó felülúszót 1/RAA-nak, a 2/R rostból származót 2/RAA-nak neveztük el.

3.4. A KISÁLLATKÍSÉRLET KÖRÜLMÉNYEI

3.4.1. A kísérleti állatok tartási körülményei és kezelése

Megérkezésük után az állatoknak egy hét alkalmazkodási időt biztosítottunk. Ez idő alatt az egerek standard műanyag ketrecekben tartottuk 22-24 °C-on, 12-12 órás sötét-világos ciklusban, ad libitum ellátva normál egér táppal (S8106- S011 SM R/M-Z+H; ssniff Spezialdiäten GmbH, Németország) és csapvízzel.

Az első hét letelte után az állatokat véletlenszerűen osztottuk három csoportba. A kontroll csoportot (n=11) továbbra is normál egér táppal és csapvízzel láttuk el ad libitum. A második csoportba (n=12) került egyedeket magas zsírtartalmú tápon (RM AFE 45% FAT SY (P),

Special Diets Services, Egyesült Királyság) és 5 % (m/m)-os cukortartalmú csapvizet, tehát magas energiatartalmú étrenden (MEÉ) tartottuk. Míg a harmadik csoportba tartozó egerek (n=12) a második csoport magas energiatartalmú étrendet kapott antocianinnal kiegészítve (MEÉA), vagyis a második csoportnál is alkalmazott magas zsírtartalmú tápot, valamint 5 % (m/m) cukrot és antocianinokban gazdag meggykivonatot tartalmazó vizet.

A kísérleti fázis hat hétig tartott. Ez alatt az egerek súlyát hetente kétszer, a vízfogyasztást napi rendszerességgel mértük. Erre azért volt szükség, mert az antocianin tartalmú ivóvizet a mért adatok figyelembevételével készítettük el a napi adagolási protokoll (D=60 mg/kg) fenntartása érdekében.

Az antocianin-oldatot az egerek napi vízfelvételének (WI_d) és testtömegének (BW) függvényében, az alábbi képlet alapján számoltuk ki:

$$c \text{ (mg/mL)} = \frac{D \text{ (mg/kg)} * BW \text{ (kg)}}{WI_d \text{ (mL)}}$$

3.4.2. A vérminták előkészítése

Állatonként 500 μ l teljes, friss vért centrifugáltunk 10 percen keresztül 3000 $\frac{1}{perc}$ „Eppendorf Cetrifuge 5810R” (Eppendorf) típusú laboratóriumi centrifugával. Az üledéket, vagyis a vörösvértesteket háromszor mostuk 1,5 mL fiziológiás NaCl-oldatban, majd újra centrifugáltuk (5 perc, 3000 $\frac{1}{perc}$) minden alkalommal, a felülúszokat eltávolítottuk és az üledékkel dolgoztunk tovább.

A megtisztított vörösvértestek szétesését 1 mL hideg víz hozzáadásával, és egy 15 perces inkubációval (4 °C) értük el. Ezután a mintákat cetrifugáltuk (5 perc, 4 °C, 3000 $\frac{1}{perc}$), majd a felülúszót háromszorosára hígítottuk.

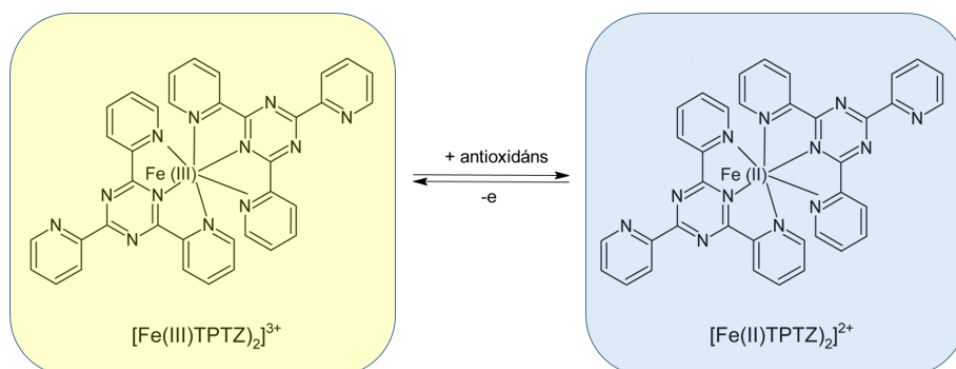
3.5. MÉRÉSI MÓDSZEREK

3.5.1. Mérési módszerek spektrofotométerrel

A teljes kísérleti munka több, mint 10 évet ölel fel, ami a technológiák gyors fejlődésének szempontjából hosszú időnek tekinthető. Ennek megfelelően egyes, a mérések korai szakaszában alkalmazott műszerek és módszerek lecserélődtek, módosultak. Emiatt egyes analitikai vizsgálatok leírását a fejezet többféleképpen is tartalmazza. A mintákban lévő komponensek kioldását és mérését minden esetben háromszori ismétlésben végeztük el.

3.5.1.1. Vasredukálóképességen alapuló antioxidáns kapacitást meghatározó módszer - FRAP

A FRAP értékek meghatározása Benzie és Strain módszere (1999) alapján történik, mely azon alapszik, hogy a 2,4,6-tris-(2-piridil)-s-triazin Fe(III) komplexe antioxidáns jelenlétében Fe(II) vegyületté redukálódik. A reakció következtében a kezdetben aranysárga színű komplex színe kékre változik (20. ábra).



20. ábra. A FRAP (Vasredukálóképességen alapuló antioxidáns kapacitást meghatározó) módszer során lejátszódó reakció.

A méréshez szükséges munkaoldat acetát puffer, FeCl_3 -oldat és 2,4,6-tri (2-Piridil)-1,2,5-triazin (TPTZ) -oldat 25:2,5:2,5 arányú elegyből áll. Az acetát puffer elkészítéséhez egy literes mérőlombikban kevés desztillált vízben (DV) feloldottunk 3,1 g nátrium-acetátot* $3\text{H}_2\text{O}$ -ot, majd hozzá adtunk 16ml ecetsavat és a folyadékelegy térfogatát DV-zel egészítettük ki, majd az oldat pH értékét 3,6-ra állítottuk be. A FeCl_3 -oldathoz 54 mg FeCl_3 sót oldottunk 10ml DV-ben, míg a TPTZ-oldathoz 31,23 mg TPTZ-t oldottunk 10 ml DV-ben, majd hozzá adtunk 33,5 μl cc. sósavat (37 % (m/m)).

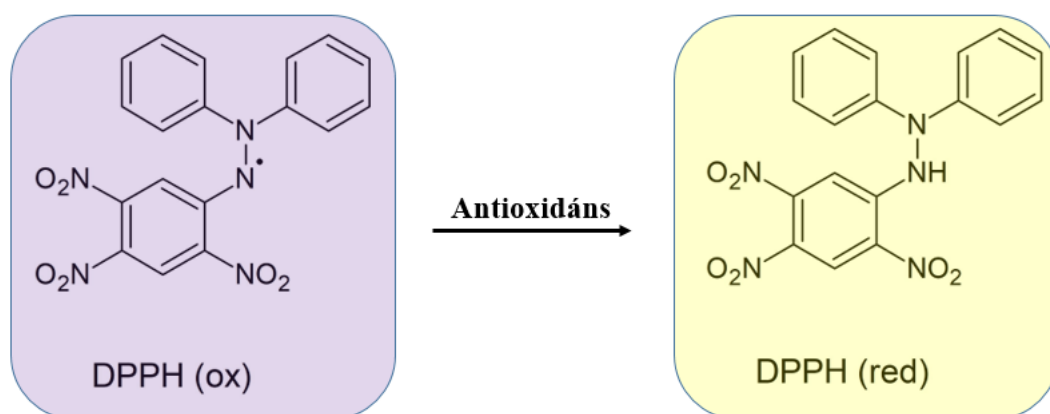
A mérőelegy összetétele vak esetében 75 μl DV és 2250 μl munkaoldat, standard esetében 10 μl aszkorbinsav-oldat (1-0,1 mg/ml), 65 μl DV és 2250 μl munkaoldat volt, míg a minta esetében 10 μl megfelelően hígított mintaoldatból, 65 μl DV-ből és 2250 μl munkaoldatból állt.

A mérést egyfényutas spektrofotométerrel (Amersham Biosciences, Ultrospec 2100 pro, Anglia) történt kvarc küvettákban, 593 nm.

3.5.1.2. DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) gyök megkötésén alapuló antioxidáns kapacitást meghatározó módszer

A DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil), ami egy lila színű stabil gyök, mely jellemző aktivitást mutat 517 nm-en. Az analízis során lezajló reakcióban a vizsgálandó minta

antioxidáns hatású vegyületei H-atomokat szolgáltatnak DPPH gyöknek, mely ezekkel reagálva elveszti színét, tehát a folyamat eredményeként az abszorbancia a minta antioxidáns kapacitásával arányosan csökken (21. ábra). Az oxidatív hatás erősségét általában azzal az antioxidáns koncentrációval jellemzik, amely felezi a szabadgyökök koncentrációját. Mi azonban az összehasonlíthatóság kedvéért, a minták tényleges koncentrációját határoztuk meg trolox egyenértékben [BRAND-WILLIAMS et al., 1995].



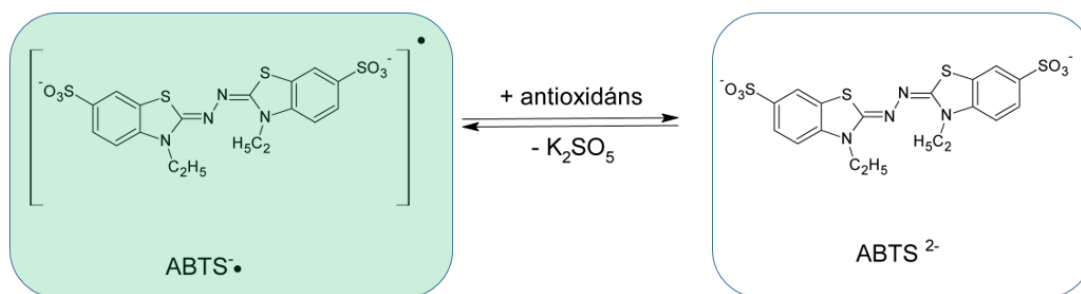
21. ábra. A DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) gyök megkötésén alapuló módszer során lejátszódó reakció.

A vizsgálathoz használt munkaoldat 9%-os metanolos DPPH oldat volt. A mérőelegy összetétele vak esetében 1500 µl metanol és 1500 µl munkaoldat, standard esetében 10 µl trolox-oldat (0,03-0,2 mg/ml), 1400 µl metanol és 1500 µl munkaoldat volt, míg a minta esetében 100 µl megfelelően hígított mintaoldatból, 1400 µl metanolból és 1500 µl munkaoldatból állt.

A mérést 30 perc inkubálás után (25 °C, sötét helyen) egyfényutas spektrofotométerrel (Amersham Biosciences, Ultrospec 2100 pro, Anglia) történt kvarc küvettákban, 517 nm.

3.5.1.3. Troloxra vonatkoztatott antioxidáns kapacitást meghatározó módszer - TEAC

A Troloxra vonatkoztatott antioxidáns kapacitás módszer elvét Miller és munkatársai (1993) dolgozták ki. A módszerben használt ABTS⁺-kation egy mesterségesen előállított gyök, mely reagál a mintában megtalálható antioxidánsokkal. A reakció során az eredetileg sötétzöld gyök elszíntelenedik, így a színintenzitás csökken (22. ábra). A színváltozás mértéke arányos a minta antioxidáns kapacitásával.



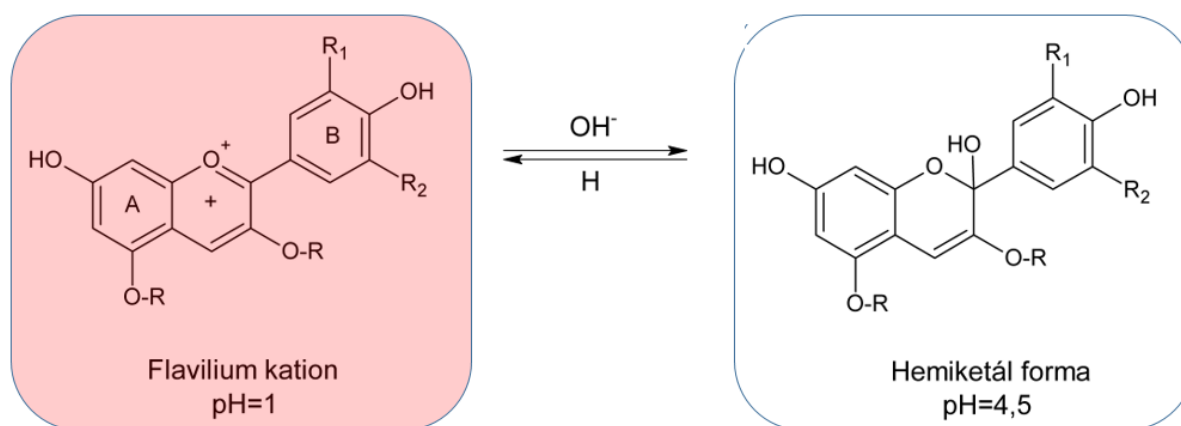
22. ábra. TEAC (Troloxra vonatkoztatott Antioxidáns Kapacitást) meghatározó módszer során lejátszódó reakció.

A munkaoldat elkészítéséhez az ABTS (2,2'-azinodi-3-etilbenzotiazolin-6-szulfoninsav)-oldatot (7mmol/L) 1:1 térfogatarányban oxidáljuk kálium-perszulfát (4,95 mmol/L) jelenlétében ABTS⁺-kation gyökké. A reakció teljes lejátszódásához 12 órára szükséges, így ez idő alatt a reakcióelegyet sötét helyen, szobahőmérsékleten inkubáltuk. Az elkészült oldatot 10-szeresére hígítva használtuk fel a méréshez. A mérést spektrofotométeren (Amersham Biosciences, Ultrospec 2100 pro, Anglia), az összeméréstől számítva 20 perc elteltével kell elvégezni (addig a kémcsöveket sötétben tároljuk).

A mérést 20 perc inkubálás után (25 °C, sötét helyen) egyfényutas spektrofotométerrel (Amersham Biosciences, Ultrospec 2100 pro, Anglia) történt kvarc küvettákban, 734 nm.

3.5.1.4. Antocianinok meghatározása pH differenciális módszerrel

Az antocianinok egyik különleges tulajdonsága, hogy a környezetük pH értékétől függően változik a színük, így a mérési módszer ezt a jelenséget használja fel (23. ábra). A mintákat két pH értéken (pH 1 és 4,5) vizsgáljuk, és a mérést is két hullámhosszon végezzük el [LEE et al., 2005].



23. ábra. A pH differenciális módszer során lejátszódó reakció

A vizsgálathoz tehát elő kell készítettünk egy pH 1,0-es puffert (67 ml HCl-oldathoz (1,7 ml c.c. HCl és 100 ml DV elegye) 25 ml KCl-oldatot (1,49 g KCl 100 ml DV-ben oldva mértünk hozzá) és egy pH 4,5-ös puffert (1,64 g Na-acetát 100 ml DV-ben oldva, pH c.c. HCl-val beállítva). A két különböző pH-jú oldattal előkészített minták (3,6 ml pufferhez 0,4 ml minta) 530 és 700 nm-en (Amersham Biosciences, Ultrospec 2100 pro, Anglia) is lemértük, majd az alábbi képletekkel értékeltük ki:

$$\Delta A = (A_{530\text{nm},\text{pH}1,0} - A_{700\text{nm},\text{pH}1,0}) - (A_{530,\text{pH}4,5} - A_{700\text{nm},\text{pH}4,5})$$

$$\% \left(\frac{m}{m} \right) = \frac{\Delta A}{\varepsilon * L} * \frac{D * M}{m}$$

A~Abszorbancia

L~küvetthossz (1 cm)

$\varepsilon \sim 26900 \text{ L/mol*cm}$

M~Moláris tömeg (449,2 g/mol)

D~ Hígítás (10)

m~ minta bemért tömege (g).

3.5.1.5. C-vitamin-meghatározás

Ebben a mérési módszerben a C-vitamin redukáló tulajdonságát használjuk fel, mely során a Fe(III) ionokból ekvivalens mennyiségű Fe(II)ionok keletkeznek. Utóbbiak α,α' -dipiridil reagens jelenlétében színes komplexet képeznek, ezáltal a C-vitamin mennyisége spektrofotometriásan mérhetővé válik.

A mintákból kimértünk 5-5 g-ot dörzsmozsárba és a C-vitamin konzerválására hozzáadtunk 1ml ecetsavat. Homogenizáltuk, majd átmostuk egy 100 ml-es mérőlombikba és desztillált vízzel jelre töltöttük. A vizes kivonatból 50 ml-t kettős redősszűrőn átszűrtünk, majd centrifugáltuk („2-16 Sartorius” (Sigma), 15 perc, $10000 \frac{1}{perc}$).

Ezután 100 mL-es mérőlombikokba összemérjük a reakcióelegyeket: 10 ml ecetsavas kivonatot, 10 mL desztillált vizet, 3 mL 10%(m/m)-os foszforsavat (1,7-es pH), 2,5 mL α,α' -dipiridil reagenst (1 g α,α' -dipiridil oldva 100 mL etanolban) és 1 mL FeCl₃ oldatot. A mérések korrigálásához el kell készíteni minden minta saját vakját. A minták ecetsavas kivonatából 10 ml-t egy másik mérőlombikba is átpipettázuk, majd 10 mL desztillált vizet, 3 mL 10%-os foszforsavat (1,7-es pH), és 1 mL FeCl₃ oldatot adunk hozzá. A lombikok tartalmát összeráztuk és 30 percig sötét helye inkubáltuk, majd a lombikokat desztillált vízzel jelre töltöttük. A mérést

496 nm-en, Amersham Biosciences Ultraspec 2100 pro típusú spektrofotométeren végeztük (Kandra, 2006).

3.5.2. Mérési módszerek microplate readerrel

A spektrofotometriás mérési módszerek nagy hátránya hogy sok minta szimultán mérése sok időt vesz igénybe (összemérés kémcsövekben, mérések közötti és utáni mosogatás) és a küveták méretéből adódóan (még a szűkített változatok is) viszonylag nagy minta és oldószerigénnyel rendelkeznek.

Az úgynevezett microplate-reader egy olyan készülék, mely számos minta abszorbanciájának mérésére képes igen rövid idő alatt, mivel a mintatartó ez esetben egy műanyag tálca, melyen mérőcellákat, „lyukakat” alakítottak ki. Az általunk használt lemezekon például 96 „lyuk” található (8 sor és 12 oszlop), melyek egyenként 340 μL térfogatúak, de ettől eltérő kialakítású plate-ek is beszerezhetők a különböző mérési módszerek paramétereinek megfelelően. A mérési módszerek elve ezekben az esetekben megegyezik a spektrofotometriás módszereknél ismertetettel, csak a kivitelezés módja tér el.

3.5.2.1. Összantioxidáns kapacitás meghatározása FRAP módszerrel

A mérési módszer elve a 3.5.1.1. fejezetben olvasható, az ott leírt módszer csak a kivitelezés módjában tér el.

A microplate mérési celláiba az alábbi arányban mértük be az oldaokat: 30 μL desztillált víz, 10 μL megfelelően hígított minta/standard és 200 μL FRAP munkaoldat. A reakcióelegyeket homogenizáltuk, 37 °C-on inkubáltuk 8 percig, majd 593 nm mértük az elegyek abszorbanciáját.

3.5.2.2. Összantioxidáns kapacitás meghatározása DPPH módszerrel

A mérési módszer elve a 3.5.1.2. fejezetben olvasható, az ott leírt módszer csak a kivitelezés módjában tér el.

A méréseket microplate-en Brand-Williams módosításai alapján végeztük: 50 μL desztillált víz, 10 μL megfelelően hígított minta vagy trolox standard és 190 μL DPPH-oldat. A reakcióelegyeket homogenizáltuk, 25 °C-on inkubáltuk 30 percig, majd 517 nm mértük az elegyek abszorbanciáját.

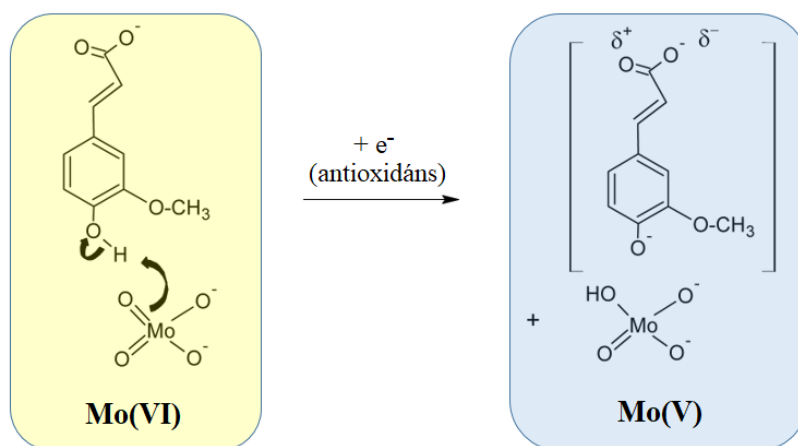
3.5.2.3. Összantioxidáns kapacitás meghatározása TEAC módszerrel

A mérési módszer elve a 3.5.1.3. fejezetben olvasható, az ott leírt módszer csak a kivitelezés módjában tér el.

A reakcióelegyek összetétele 70 μL 80%-os etanol, 10 μL megfelelően hígított minta/standard (trolox) és 190 μL ABTS-oldat. A reakcióelegyeket homogenizáltuk, szobahőmérsékleten inkubáltuk 30 percig, majd 734 nm mértük az elegyek abszorbanciáját.

3.5.2.4. Összes fenoltartalom (TPC) meghatározása

Ezt a redukálóképességen alapuló módszert eredetileg Singleton és munkatársai (1999) fejlesztette ki. A mérés során az eredetileg sárga színű reagens az antioxidáns vegyületek redukáló hatására kék színűvé válik, mely spektrofotometriásan nyomon követhető 765 nm-en (24. ábra).



24. ábra. A TPC (Összes fenoltartalom) meghatározása során lejátszódó reakció

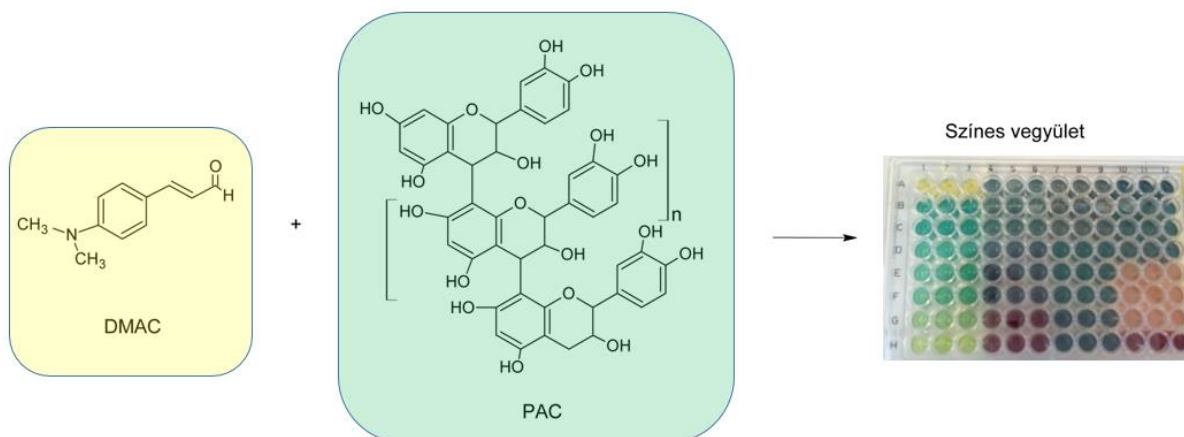
A méréshez 96 lyukú plate-en összemértünk 10 μL megfelelően hígított kivonatot/standardet (galluszsav, 50-1600 $\mu\text{g/mL}$) vagy desztillált víz (vak), 190 μL desztillált vizet és 25 μL Folin-Ciocalteu reagenst, majd 6 perc inkubálás után hozzáadtunk 75 μL 7%-os Na_2CO_3 -ot. Ezt az elegyet mérés előtt 50 $^\circ\text{C}$ -on inkubáltuk 10 percig, majd microplate readerrel (SPECTROstar® Nano, BMG Labtech, Ortenberg, Germany). 765 nm-en mértük az abszorbanciát.

3.5.2.5. Procianidintartalom meghatározása

Prior és munkatársai (2010A) fejlesztette ki ezt a kolorimetriás módszert, mely a 4-dimetil-amino-fahéj-aldehid (DMAC) és a flavan-3-olok reakciójára épül (25. ábra). A

reakciótermékek abszorbanciáját 640 nm hullámhosszon tudjuk mérni, és összehasonlítani a standarddal, ami az A2-procianidin.

A meggyből és a szárított rostból 500 mg-ot mértünk ki 50 mL-es centrifuga csövekbe, majd 20 mL extrakciós oldatot (aceton/dH₂O/ecetsav 75:24,5:0,5) adtunk hozzájuk. A mintákat 30 másodpercig vortexeltük, majd ultrahangos fürdőbe helyeztük 1 óra hosszára szobahőmérsékleten. Centrifugálás (10 perc, 4000 $\frac{1}{perc}$), után a felülúszókat használtuk fel a méréshez. A mérési elegyet 96 lyukú plate-re mértük, melyet az alábbi módon készítettünk el: 70 μ L 96%-os etanolhoz (vak)/standardhoz (100 μ g/ml etanolos procianidin A2-oldat)/mintához 210 μ L DMAC-oldatot (0,1 %-os etanololdat) adtunk. Mérés előtt a plate-et a 25 °C-ra előmelegített microplate readerbe helyeztük és ott inkubáltuk 25 percig. A plate-en lévő kamrákat 640 nm-en mértük fél órán át percenként és a mért maximális értékeket használtuk fel a számolás során.



25. ábra. Procianidintartalom meghatározása során lejátszódó változás

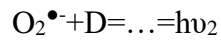
3.5.3. Antioxidáns kapacitás meghatározása kemiluminometriás módszerrel (PLC)

Az antioxidáns kapacitás mérését Photochem® (Analytik Jena AG, Németország) készüléken, a megfelelő készen vásárolható mérő kitek alkalmazásával végeztük el. ACW esetében, az eredményeket aszkorbinsav [POPOV és LEWIN, 1994], ACL esetében pedig trolox ekvivalenciában fejeztük ki [POPOV és LEWIN, 1996].

A módszer fotokemilumineszcencián alapul, melynek lényege, hogy a mintában lévő fényérzékeny anyag (S) UV gerjesztésével ($h\nu_1$) ismert mennyiségű szuperoxid aniont ($O_2^{\bullet-}$) állítunk elő, melynek egy része eliminálódik a minta antioxidánstartalma miatt.



Az el nem reagált szuperoxid anionok reagálnak egy specifikus fotokémiai detektor vegyülettel (D), és ezáltal lumineszcenciát ($h\nu_2$) hoznak létre, tehát a lumineszcencia mérésével határozható meg a minta antioxidánsok kapacitása.



A Photochem a legelső olyan műszer, amely egyaránt képes a vízdoldható és a zsírdoldható antioxidáns kapacitás, valamint specifikusan a szuperoxid-dizmutáz enzim antioxidáns kapacitás meghatározására.

A PLC technika egyaránt képes a vízdoldható (ACW) és a zsírdoldható (ACL) antioxidánskapacitás, valamint specifikusan a szuperoxid-dizmutáz enzim (SOD) antioxidánskapacitás meghatározására.

3.5.3.1. Vízdoldható antioxidáns kapacitás (ACW) meghatározása

Az ACW értéket, vagyis a minta vízdoldható antioxidáns kapacitását ACW kit segítségével tudjuk meghatározni. A méréshez a különböző reagenseket (R) kell összemérnünk: 1,5 mL R1 (10,5-ös pH-jú pufferoldat), 1 mL R2 (reakciópuffer), 25 μL R3 (fényérzékeny detektorvegyület), 0-30 μL R4 (kalibrációs standard: aszkorbinsav) vagy 10 μL minta (megfelelő mértékben hígítva az R1-gyel).

A detektor méri a lumineszcencia intenzitását és a mérőprogram az idő függvényében (0-250 másodperc) egy mérési görbe képében regisztrálja is azt. A görbe tartalmaz egy lag fázist, ahol a lumineszcencia még nem mérhető, mivel ebben az időszakban a mintában lévő antioxidánsok még az összes keletkező szabadgyököt képesek semlegesíteni. Ahogy az antioxidánsok kimerülnek/elfogynak a mintában lévő gyökök mennyisége és ezzel együtt a mért lumineszcencia növekedni kezd, majd elér egy maximum értéket. A lag fázis hossza a mintában levő antioxidánsok mennyiségének függvényében változik, és a kapott görbe első deriváltja által meg határozott inflexiós ponthoz húzott érintő x tengelymetszete adja meg a mintában található antioxidáns kapacitást.

3.5.3.2. Zsírdoldható antioxidáns kapacitás (ACL) meghatározása

Az ACL értéket, vagyis a minta zsírdoldható antioxidáns kapacitását ACL kit segítségével tudjuk meghatározni. A méréshez a különböző reagenseket (R) kell összemérnünk: 2,3 mL R1 (metanol), 200 μL R2 (pufferoldat), 25 μL R3 (fényérzékeny detektorvegyület), 0-30 μL R4 (kalibrációs standard: trolox) vagy 10 μL minta (megfelelő mértékben hígítva az R1-gyel).

A detektor méri a lumineszcencia intenzitását és a mérőprogram az idő függvényében (0-180 másodperc) egy mérési görbe képében regisztrálja is azt. ACL esetében a program mind a vak, mind a minta mérési görbe alatti területét kiszámolja, integrálja, és a kettő különbségéből meghatározza az adott minta antioxidáns kapacitását.

3.5.3.3. Szuperoxid-dizmutáz (SOD) koncentrációjának meghatározása

Az SOD enzim antioxidáns képességét az ACW készlettel mértük (Analytik Jena, Jena, Németország). A mérésekhez 10 µl elkészített vörösvértestet, 1,5 ml R1-et, 1 ml R2-t és 25 µl R3-at vértünk össze, és standardként SOD enzimet (Superoxide Dismutase, Sigma Aldrich, Németország) használtuk [POPOV és LEWIN, 1999].

3.5.4. Kromatográfias módszerek

3.5.4.1. A megkivonat UHPLC analízise

A méréseket CromasterUltraRs UHPLC-vel végeztük, mely diódasoros detektorral és automatikus mintavevővel volt felszerelve. A műszert az Agilent OpenLAB szoftver vezérelte. Az elválasztáshoz Phenomenex Kinetex oszlopot használtunk (2,6 µm, XB.C18, 100A, 100 - 4,6 mm) lineáris gradiens elúcióval, melyben az oldószerek mennyisége az alábbi beállítások szerint változott. A oldószer: MeOH; B oldószer: 3%(m/m)-os HCOOH (hangyasav) tartalmazó víz volt.

0 perc A oldószer 15%,

0–25 perc A oldószer 30%,

25–30 perc A oldószer 40%,

30–40 perc A oldószer 50%.

Az áramlási sebesség 0,7 ml/perc volt, és az oszloptermostát hőmérsékletét 25 °C-on tartottuk. Az antocianin tartalom mennyiségi és minőségi elemzéséhez hiteles standard vegyületeket használtunk. Az UV-VIS detektálást antocianinok esetében 535, flavonoidok és fenolok esetében pedig 340 nm-en végeztük. Az injektált térfogat mintánként 10 µl volt.

3.5.4.2. A meggykivonat UHPLC-MS analízise

Az alkalmazott UHPLC rendszerhez (Dionex Ultimate 3000RS) Thermo Q Exactive Orbitrap tömegspektrométer (Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, USA) volt csatlakoztatva, Elektrospray (ESI) ionforrással felszerelve. A HPLC elválasztást Thermo Accucore C18 oszlopon (100 mm x 2,1 mm x 2,6 µm) végeztük. A mintatér és az

oszloptermosztát hőmérsékletét 25 °C-on tartottuk és 200 µL/perces áramlási sebességet alkalmaztunk.

Az A eluens 0,1% hangyasavat tartalmazó víz, a B eluens 0,1% hangyasavat tartalmazó metanol volt, és a következő gradiens elúciós programot alkalmaztuk:

- 0 perc, A oldószer 95%,
- 0–3 perc, A oldószer 95%,
- 3–43 perc, A oldószer → 0%,
- 43–61 perc, A oldószer 0%,
- 61–62 perc, A oldószer →95%,
- 62–70 perc, A oldószer 95%.

Futtatásonként 2 µL mintát injektáltunk. A Q Exactive hibrid kvadrupol-orbitrap tömegspektrométert a következő paraméterek mellett alkalmaztuk: kapilláris hőmérséklet 320 °C, spray feszültség pozitív ionizációs módban 4,0 kV , negatívban 3,8 kV. A felbontást 35000-re, a vizsgált tömegtartomány 150–1500 m/z-re állítottuk.

A maximális befecskendezési idő 100 ms, az MS2 felbontása 17500, az ütközési energia 35 NCE, a hüvelygáz és az auxgáz áramlási sebessége 32 és 7 arb volt. A minták méréséhez és elemzéséhez az Xcalibur 4.0 (Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, USA) szoftvert használtuk.

3.5.4.3. A tokoferolok mennyiségi meghatározása HPLC-vel

A mintákat egy Merck-Hitachi LaChrom HPLC-vel analizáltuk, mely az alábbi rendszerekből épült fel: diódasoros detektor L-7455, automata mintavevő L-7250, interface L-7000, pumpa L-7100. A kromatográfias rendszer működtetéséhez és az eredmények kiértékeléséhez „Manager „szoftvert használtunk.

Állófázisként phenomenex luna NH2 5 µm, 250 mm×4.6 mm (283104-16) kolonnát használtunk. A szétválasztás izokratikus elúció mellett történt (n-hexán:dioxán=80:20) 1 mL/perc áramlási sebességgel, és a detektálást 295 nm-en végeztük.

3.5.5. A vérminták elemzéséhez használt mérési módszerek

3.5.5.1. Orális glükóz tolerancia teszt (OGTT)

A glükóz tolerancia meghatározásához a 6 hetes kísérleti időszak alatt végzett orális glükóz tolerancia tesztre kapott értékek átlagával határoztuk meg.

Egy egy éjszakás éheztes után glükométerrel (Accu-Chek, Roche Diagnostics, Budaörs, Magyarország) megmértük az egerek vérenek glükózsintjét (0. perc), majd orálisan 2 g / kg glükózt adtunk nekik. A vércukorszintet 15, 30, 60, 90 és 120 perccel később is ellenőriztük az egerek oldalsó farokvénájából.

3.5.5.2. A plazma adiponektin és rezisztin koncentrációjának meghatározása

Egerek adiponektin és rezisztin koncentrációjának mérésére fejlesztett enzimhez kötött immunszorbens vizsgálati készletet (MRP300 és MRSN00, R&D Systems, Minneapolis, USA) használtunk a két fehérje koncentrációjának mérésére a plazmában. A vizsgálat során a cellákba 50 µl hígító oldatot valamint 50 µl standard, kontrol vagy megfelelően hígított mintát pipettáztunk és 2 órát inkubáljuk szobahőmérsékleten. Ezután eltávolítottuk a cellákból a folyadékot és 400 µl mosópufferrel átöblítettük. A mosófolyadék eltávolítása után minden cellába 100 µl egér rezisztin/adiponektin konjugátumot tettünk, majd ismét inkubáltuk 2 órán át, majd mostuk. Ezt a lépést egy 30 perces inkubálás követte sötét helyen, 100 µl szubsztrát oldattal, majd 100 µl stop oldatot adtunk a rendszerhez. Az összes mintát és a standardokat két ismétlésben mértük. A plazmamintákat adiponektin esetében 5000-szeresen, rezisztin esetében 100-szorosan hígítottuk. Az abszorbancia-adatokat SPECTROstar Nano (BMG Labtech, Ortenberg, Németország) microplate readerrel nyertük 450 nm-en, majd ezeket a nyers értékeket az 540 nm-en mért abszorbancia értékek kivonásával korrigáltuk. A minták koncentrációját egy négy paraméteres logisztikai görbe által létrehozott standard görbéből interpoláltuk a MARS adatelemző szoftver 3.10 (BMG Labtech) alkalmazásával.

3.5.5.3. A citokinek mennyiségi meghatározása

A citokinek/kemokinek vérplazmában való szintjeit MILLIPLEX MAP Mouse Metabolic Hormone Magnetic Bead Panel (MMHMAG-44K, EMD Millipore Corp., Billerica, MA, USA) segítségével egy Luminex 200 készülék (Luminex Corp., Austin, Texas, USA) alkalmazásával határoztuk meg a gyártó instrukciói alapján. A vérmintákat összegyűjtöttük, centrifugáltuk, a felülúszót a mérésekig fagyasztva tároltuk. A mérést 96-lyukú lemezen hajtottuk végre. 25-25 µl mintát, standardot és két gyári, pozitív kontrollt pipettáztunk a cellákba duplikátumban, majd hozzáadtuk a vizsgálandó citokinre specifikus antitestekkel bevont mágneses gyöngyök keverékét. 4 órás inkubálást követően mostuk a mintákat, hozzáadtuk a biotinilált detektáló antitesteket, és újabb mosás után a sztreptavidin-fikoeritrin oldatot. A készülék a fluoreszcens

intenzitás értékeket mérte, amely a citokinek koncentrációjával arányos, az eredményeket xPonent szoftver segítségével értékeltük. Az eredményeket pg/ml-ben fejeztük ki.

3.6. STATISZTIKA

Az adatokat az IBM SPSS Statistics 23 (SPSS Inc., Armonk, NY, USA), segítségével, egyutas ANOVA-t követő Tukey (homogén variancia esetén) valamint Games-Howell (nem egyenlő variancia esetén) post hoc tesztekkel (többszörös összehasonlítás) vizsgáltuk, és a $p < 0,05$ értékeket tekintettük szignifikáns különbségnek. Ez utóbbi esetben az adatokat átlag \pm SD formájában adtuk meg.

Az adat eloszlását a D'Agostino-Pearson normalitási teszttel elemeztük. A Gauss-féle eloszlást mutató adatokat szintén egyszempontos varianciaanalízist (ANOVA) követő Tukey post hoc tesztekkel, míg a Gauss-eloszlást nem mutató adatokat a nem paraméteres Kruskal – Wallis teszttel elemeztük. Ez utóbbi esetben az adatokat átlag \pm SEM formájában adtuk meg.

4. EREDMÉNYEK

4.1. MEGGYMAGOLAJ

4.1.1. A magyarországi meggyfajták magjának olajhozama és tokoferol tartalma

Az ebben a fejezetben ismertetett munka célja az volt, hogy megvizsgáljuk a magyarországi meggyfaják olajhozamát, és felmérjük azok tokoferoltartalmát, hogy ezáltal alternatívát teremthessünk a meggy mag felhasználására. Ennek megfelelően elsőként a különböző magyarországi fajták magbelének (endospermiumának) a csonthéjhoz viszonyított tömegarányait, majd az endospermiumok olaj hozamait határoztuk meg (4. táblázat), ezt követően pedig a magolajban lévő tokoferol izomerek mennyiségét elemeztük (5. táblázat).

4. táblázat. Magyarországi meggyfajtákban található magbél mennyisége és a mag olajhozama

Jelölések: * szignifikánsan különbözik az 'M', 'A', 'E', 'Kántorjánosi' és 'Petri' fajtáktól ($p < 0.05$); # szignifikánsan különbözik az 'M', 'Éva', 'Kántorjánosi' és 'Petri' fajtáktól.

Meggyfajták	A meggy magban található magbél mennyisége (% (m/m))	A magbél olajhozama (%(m/m))
M	17,96±2,83	12,28±2,73
A	19,87±2,82	14,68±2,85#
E	18,21±1,89	15,27±1,19#
Éva	24,88±4,40*	10,91±2,32
Kántorjánosi	21,06±2,20	8,38±1,22
Petri	20,30±2,58	13,44±1,46

Az 4. táblázatban látható a magbél és a csonthéj %(m/m)-os összetétele. Ennek meghatározása egyrészt azért lényeges, mert a különböző meggyfajták mérete eltérő, így értelemszerűen a bennük lévő mag nagysága és alkotóelemeinek aránya is különböző, másrészt pedig azért, mert olajat csak a magbélből tudunk kivonni a külső csonthéjból nem.

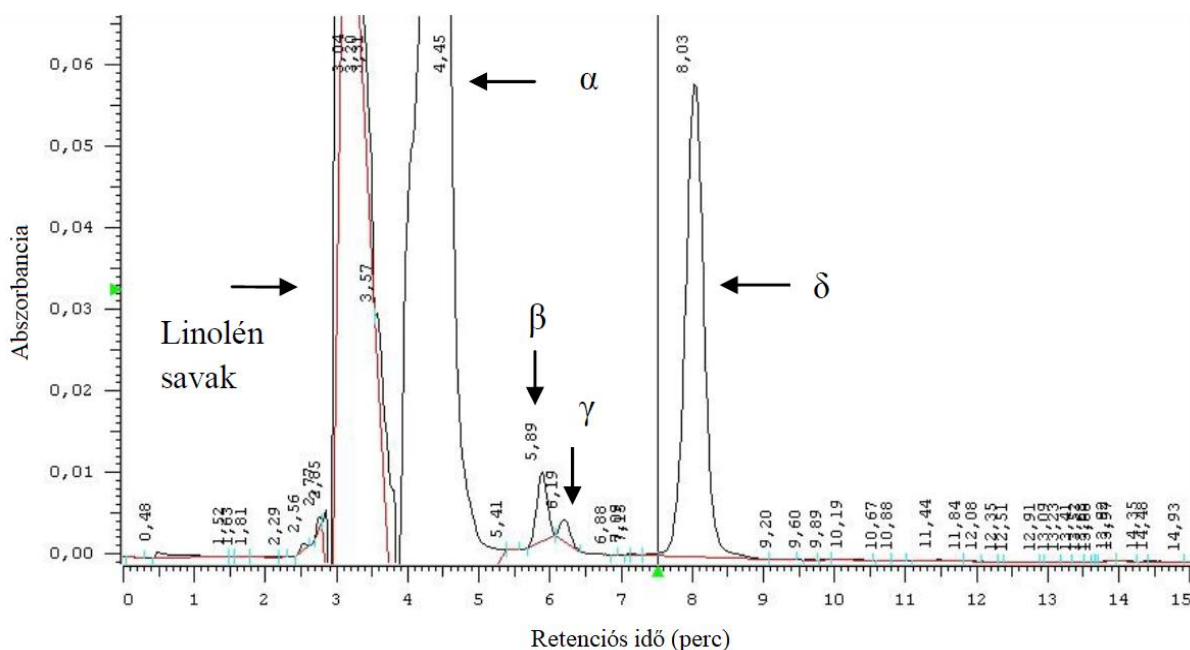
Eredményeink alapján elmondható, hogy a magbél az egész mag mindössze 20%-át teszi ki, és az 'Éva' elnevezésű meggy magja a többi fajtához képest szignifikánsan nagyobb (25 %) endospermiumot tartalmaz. A legkisebb értéket az 'M' fajtánál mértük, ami 17,96% volt.

A magbél olajhozama 8 és 15% között mozgott a vizsgált mintákban, leggyengébbnek a 'Kántorjánosi' fajta olajtartama (8,38%) bizonyult, mely jóval az átlagos olajhozam alatt van.

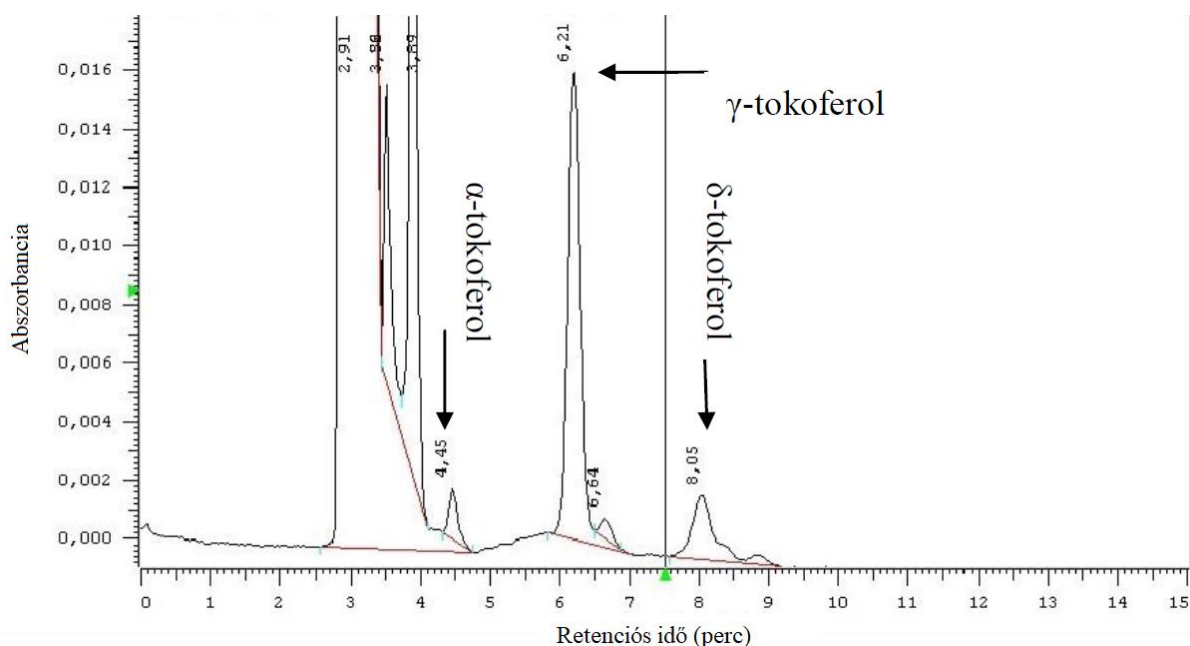
A vizsgált fajták közül a legmagasabb értéket az 'E' fajta esetében kaptuk (15,27%), tehát az olaj kinyerése ebben az esetben volt a leggazdaságosabb, de az 'A' fajta (14,68%) nem sokkal maradt le mögötte.

Mivel ipari szempontból nem csak az olaj mennyisége, hanem az olaj hatóanyagtartalma is nagyon fontos tényező, következő lépésként a kinyert magolajak tokoferol tartalmát határoztuk meg.

Bár a tokoferol származékok szétválasztása, szerkezetük nagyfokú hasonlósága miatt nem mondható könnyű feladatnak, HPLC technika segítségével sikerült kromatográfias rendszert fejlesztenünk a tokoferol izomerek kvalitatív és kvantitatív meghatározására, mellyel sikeresen és nagy biztonsággal el tudtuk különíteni az egyes tokoferol izomereket (26. ábra). A 27. ábrán látható kromatogramon látható a vizsgált meggy mag fajtákra jellemző tokoferol profil.



26. ábra. A tokoferol izomerek HPLC kromatogram meggy magmintában (standard addíció).



27. ábra. Az 'M' fajta HPLC-s kromatogramja.

Az 5. táblázatban látható a vizsgált meggyfajtákban mért tokoferol izomerek mennyiségi összehasonlítása. A négy izomer közül csak három (az α , a γ és a δ) volt jelen mérhető mennyiségben a mintákban, β izomert nem detektáltunk.

Eredményeink alapján elmondható, hogy a vizsgált magyarországi meggyfajtákból nyert magolajak γ -tokoferolban gazdagok - ugyanis e vegyület átlagos koncentrációja 1,19 mg/g endospermium-, míg α és δ izomert csak kis koncentrációban tartalmaznak (átlagos koncentrációjuk 0,03, illetve 0,06 mg/g endospermium).

5. táblázat. A vizsgált meggyfajtákban a magban mért tokoferol összetétele.

Jelölések: * szignifikánsan különbözik az 'E', 'Éva', 'Kántorjánosi' és 'Petri' fajtáktól ($p < 0.05$).

Meggyfajták	Az α -tokoferol koncentrációja az endospermiumban (mg/g)	Az γ -tokoferol koncentrációja az endospermiumban (mg/g)	Az δ -tokoferol koncentrációja az endospermiumban (mg/g)
M	0,047±0,017	1,559±0,140*	0,098±0,006
A	0,019±0,006	1,473±0,117*	0,080±0,020
E	0,033±0,003	1,087±0,081	0,048±0,008
Éva	0,023±0,005	1,011±0,018	0,044±0,005
Kántorjánosi	0,029±0,004	0,991±0,117	0,043±0,005
Petri	0,019±0,004	1,020±0,110	0,044±0,005

Korábban Górnaś és munkatársai (2016), valamint Korlesky és munkatársai (2016) is, hozzánk hasonlóan azt állapították meg, hogy a meggy mag olaja nem tartalmaz β -tokoferolt, és benne a γ izomer van jelen a legnagyobb mennyiségben.

Ennek megfelelően azt mondhatjuk, hogy a minőség meghatározására a γ -tokoferol mennyisége a legmegfelelőbb paraméter. Méréseink során 1 és 1,5 mg/g endospermium közötti értékeket tudtunk meghatározni, és két kiemelkedő fajtát tudtunk elkülöníteni, ugyanis az 'M' és az 'A' fajta a többihez képest szignifikánsan nagyobb mennyiségben tartalmazta a γ izomert. Minőségi szempontból tehát a legértékesebb magolaj ebből a két fajtából nyerhető ki.

Összegezve az eredményeket, ha a γ -tokoferol mennyiségét nem az endospermium, hanem a teljes mag függvényében adjuk meg (6. táblázat) láthatjuk, hogy a gazdaságosság és a hatóanyagtartalom szempontjait összevetve három fajta a kiemelkedő.

6. táblázat. A γ -tokoferol mennyisége a teljes magban.

Jelölések: * szignifikánsan különbözik az 'E', 'Kántorjánosi' és 'Petri' fajtáktól ($p < 0.05$).

Meggyfajták	Az γ -tokoferol koncentrációja a magban (mg/100 g)
M	28,0 \pm 2,7*
A	29,3 \pm 2,9*
E	19,8 \pm 1,2
Éva	25,1 \pm 2,3*
Kántorjánosi	20,9 \pm 1,2
Petri	20,7 \pm 1,5

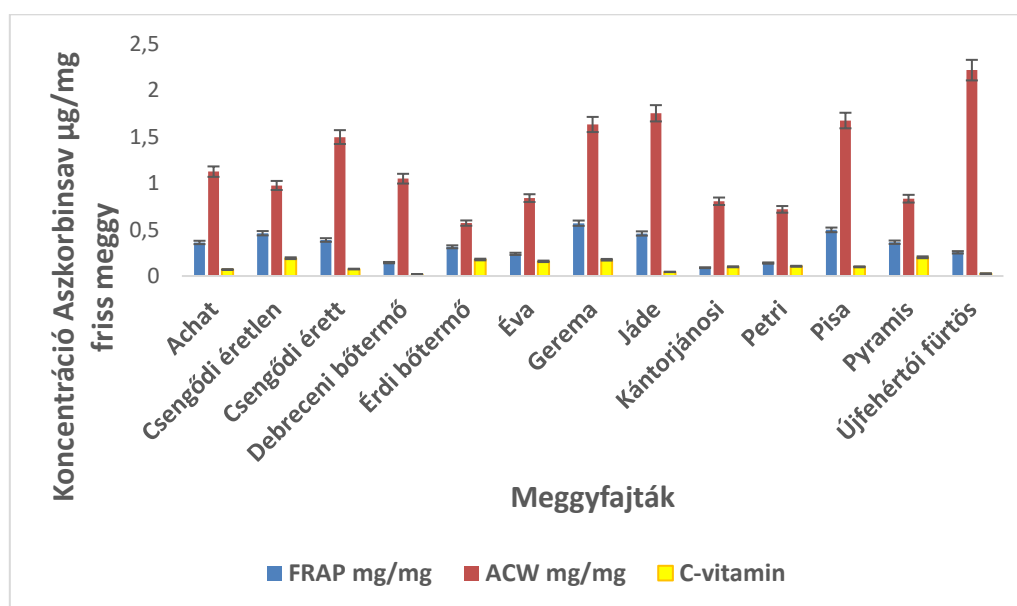
Ezek közül kettő, nem meglepő módon, az 'M' és az 'A' fajta a magas γ -tokoferol tartalom révén, a harmadik pedig az 'Éva', mely bár nem tartalmaz kimagasló mennyiségben tokoferolt, az endospermium maghoz viszonyított átlagon felüli aránya miatt ebben az összehasonlításban mégis kimagasló fajta, vagyis megállapítottuk, hogy ez a három fajta a legalkalmasabb a meggy magolaj, illetve azon belül a γ -tokoferol kinyerésére.

4.2. A MEGGYFAJTÁK ANTIOXIDÁNS TARTALMÁNAK ÖSSZEHASONLÍTÁSA KÜLÖNBÖZŐ MÉRÉSI MÓDSZEREKKEL

Összegyűjtöttük a leggyakoribb, általunk is hozzáférhető fajtát (12 meggyfajta) és megmértük ezek összes antioxidáns kapacitását öt módszerrel (FRAP, DPPH, TEAC, ACL, ACW). A C-vitamintartalom és az antocianin vegyületek mennyiségi meghatározására azért volt szükség, hogy a meggyfajták esetében referenciaértékkel rendelkezünk, melyekhez viszonyítva meghatározhatjuk a kapott antioxidáns kapacitás értékek helyességét, és ellenőzini tudjuk a módszerek hatékonyságát. Azért választottuk ezeket a paramétereket, mert a meggyfajták magas koncentrációban tartalmaznak antocianin származékokat és C-vitamint, ennek következtében ezek a vegyületek jelentős szerepet játszanak a meggyfajták antioxidáns státuszának kialakításában.

A könnyebb összehasonlíthatóság érdekében módosítottuk a mérések eredeti mintaelőkészítési protokollját és ahogy az Anyag és módszer c. fejezetben látható egységesítettük azokat, és az eredmények kiértékeléséhez a méréseket két csoportra osztottuk annak megfelelően, hogy az előkészítési lépések alapján jellemzően vízdékony (FRAP, ACW) vagy zsírodékony (DPPH, TEAC, ACL) vegyületeket oldottunk ki.

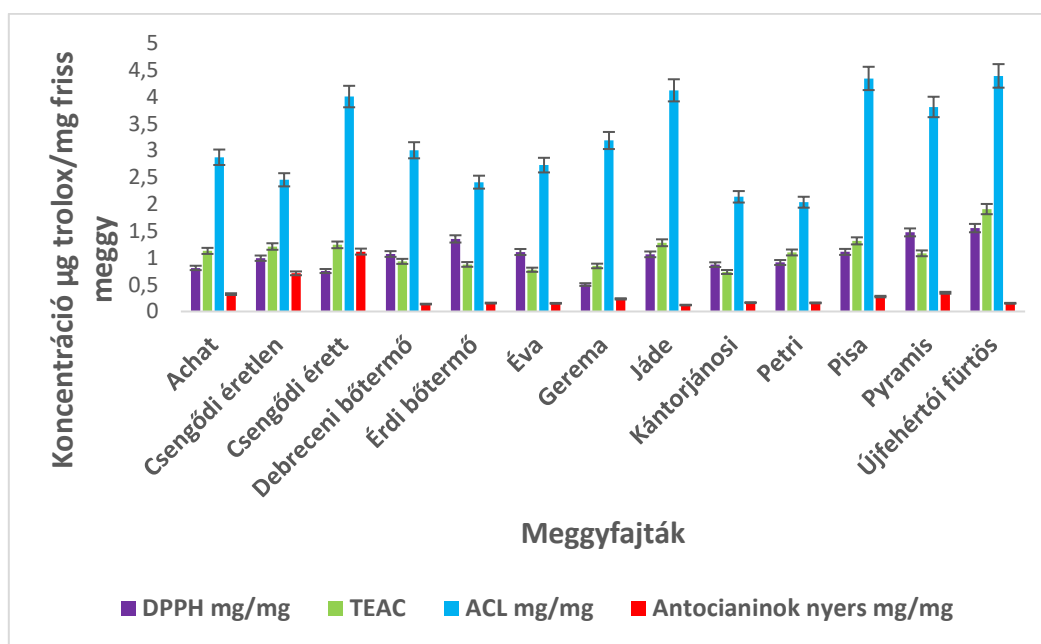
A vízdékony (28. ábra) és a zsírodékony (29. ábra) antioxidánsok esetében is megfigyelhető, hogy nemcsak a fajták, hanem a mérési módszerekkel kapott eredmények között is jelentősek a különbségek.



28. ábra. A meggyfajták FRAP és ACW módszerrel mért vízdékony antioxidáns kapacitásának és C-vitamin tartalmának összehasonlítása. (Statisztikai elemzés: 1. melléklet)

A vízdékony antioxidánsok meghatározására használható mérési lehetőségek közül a legmagasabb eredményeket az ACW módszerrel kaptuk, és ezek az értékek rendszerint a FRAP módszerrel mért többszöröse volt. A módszerek között a legnagyobb eltérést az 'Újfehértói fürtös' esetében tapasztaltuk, ahol majdnem 10-szeres volt a különbség. Látható, hogy mindkét eljárással vissza tudtuk mérni a referenciaként szolgáló C-vitamin-tartalmat, mivel az egyes meggyfajtákra mért kapacitásértékek minden esetben meghaladták az aszkorbinsav koncentrációját.

Azonban az is látható, hogy a FRAP módszerrel mért értékek az aszkorbinsav koncentrációkhoz képest nem minden esetben szignifikánsak, vagy csak kis mértékben haladták meg azokat. Mivel az ACW módszer az antioxidáns kapacitással rendelkező vegyületek jóval nagyobb hányadát képes volt meghatározni, az is egyértelmű, hogy a FRAP eljárással a meggy mintában lévő antioxidánsoknak csak töredékét tudtuk kimérni.



29. ábra. A meggyfajták DPPH, TEAC és ACL módszerrel mért zsiroldékony antioxidáns kapacitásának és antocianin-tartalmának összehasonlítása. (Statisztikai elemzés: 2. melléklet)

A zsiroldékony antioxidáns hatású vegyületeket mérő módszerek között jelentősek a különbségek mind a fajták, mind a mérési módszerek tekintetében. Emellett megállapítható, hogy bár az eredmények közötti különbségek nem voltak olyan nagymértékűek, ebben az összehasonlításban is a fotokemilumineszcencián alapuló módszer, vagyis az ACL értékek bizonyultak a legjobbnak, illetve minden antioxidáns kapacitás érték szignifikánsan magasabb volt, mint a referenciaként szolgáló antocianin koncentráció.

Mindezek mellett az is megállapítható, hogy az egyes fajták közötti különbségek a víz-, és zsírdékony antioxidáns hatású vegyületek arányának tekintetében is jelentkeztek. A 'Gerema' fajta, amely a vízdékony antioxidáns kapacitás értékek tekintetében a kiemelkedő fajták között volt, zsírdékony antioxidáns hatású vegyületekben már nem olyan gazdag, ellenben az 'Újfehértói fürtössel', mindkét összehasonlításban élen járó fajta.

4.3. A MEGGY ANTIOXIDÁNS HATÁSÚ VEGYÜLETEINEK KIVONÁSA ÉS AZONOSÍTÁSA

Mivel már bizonyított, hogy a meggyben lévő bioaktív vegyületek egészségügyi és élelmiszeripari szempontból is igen hasznosak, fontos volt annak pontos megállapítása, hogy az alkalmazott kivonási módszerrel milyen vegyületeket és milyen hatékonysággal vagyunk képesek kiextrahálni, illetve, hogy a visszamaradó komponensek milyen eljárásokkal oldhatóak ki, illetve kivonásuk gazdaságos-e ipari szempontból. A kivonatok elkészítéséhez az 'Újfehértói fürtös' fajtát választottuk ki, mivel az előzetes fajtaösszehasonlító kísérletek alapján, antioxidánsokban ez a fajta bizonyult a leggazdagabbnak.

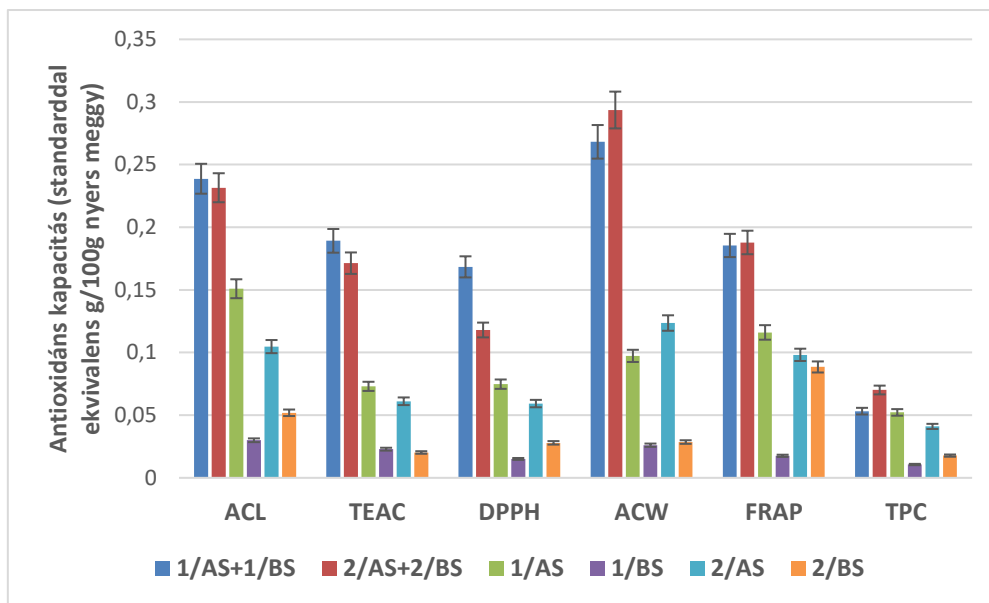
4.3.1. A meggy kioldható antioxidáns vegyületei

A meggyben lévő, összes kioldható antioxidáns hatású vegyület kinyeréséhez két különböző, többlépcsős oldószerkombinációt használtunk fel, hogy biztosítani tudjuk a gyümölcs felépítésének és összetételének (komplex összetétel, mátrix, hidrofil és lipofil vegyületek) leginkább megfelelő kioldást. Az első, az ipar számára is használható etanol alapú kioldás (1-es oldószerkombináció), míg a második egy, az antioxidáns vegyületek kioldására széleskörben alkalmazott, metanolt és acetont is tartalmazó (2-es oldószerkombináció) kétlépcsős kivonási eljárás. Az egyes oldószerkombinációkból 3-3 minta elegyet készítettünk, mivel nem csak a két teljes kioldási módszert vizsgáltuk, hanem azok részfolyamatait is. A mérési módszerek közül először az antioxidáns kapacitás és az összes polifenoltartalom meghatározását végeztük el.

4.3.1.1. A kioldható vegyületeket tartalmazó meggykivonatok antioxidáns kapacitása

Az 1-es és a 2-es oldószerkombináció esetében összehasonlítottuk az antioxidáns kapacitást a FRAP, a DPPH, a TEAC, az ACL és az ACW módszerrel, illetve megmértük az összespolifenoltartalmat. (30. ábra).

A két extrakciós eljárással kapott kivonatok antioxidáns kapacitása nem különbözött szignifikánsan, és az is megállapítható volt, hogy az 1/A vagy 1/B és a 2/A vagy 2/B oldószerkelet önmagában csak részben alkalmas a bioaktív vegyületek kivonására, mivel a velük nyert kivonatok (1/AS, 1/BS, 2/AS, 2/BS) antioxidáns kapacitása jelentősen elmarad az oldószerkombinációkra (1/AS+1/BS, 2/AS+2/BS) kapott értékektől. Emellett az is megfigyelhető, hogy az egyes mérési módszerek hatékonysága között is jelentős különbségek



30. ábra. A meggykivonatok antioxidáns kapacitásának és összpolicifenol-tartalmának összehasonlítása. (Statistikai elemzés: 3. melléklet)

A különböző mérési módszerek esetében alkalmazott standard: ACL: trolox; TEAC: trolox; DPPH: trolox; ACW: aszkorbinsav; FRAP: aszkorbinsav; TPC: galluszsav. Rövidítések: 1/AS: vizes etanolos kivonat; 1/BS: a vizes etanolos kioldás utáni etanolos kivonat; 1/AS+1/BS: az 1/AS és az 1/BS kivonat együttesen; 2/AS: savas metanol és víz elegyével készült kivonat; 2/BS: savas metanol és víz elegyével készült kivonat utáni vizes acetonos kivonat; 2/AS+2/BS: a 2/AS és a 2/BS kivonat együttesen

vannak. Elmondható, hogy a kemiluminometriás mérési technikák szignifikánsan magasabb antioxidáns kapacitás értékeket mértek, tehát a meggykivonatok esetében előnyösebb ezek használata a kolorimetriás mérésekkel szemben. A vasredukáláson (FRAP) és a gyökfogó képességen (DPPH, TEAC) alapuló mérések között összességében nem volt szignifikáns a különbség. Meglepő módon pedig az összes fenolos vegyület meghatározására széleskörűen alkalmazott TPC módszerrel kaptuk a legalacsonyabb értékeket, holott a meggy antioxidáns hatású vegyületeinek legnagyobb hányadát a fenolos vegyületek teszik ki.

4.3.1.2. A kioldható vegyületeket tartalmazó meggykivonatok UHPLC-MS analízise

A kioldható antioxidánsok összmenyisége mellett, természetesen a minőségi összetétel sem elhanyagolható, így UHPLC-MS segítségével analizáltuk a két kivonási eljárással kapott kivonatok (1/A+1/B és 2/A+2/B), és belőlük összesen 46 különböző vegyületet tudtunk elkülöníteni és beazonosítani a m/z értékek alapján (7. táblázat). 18 olyan vegyületet találtunk, amely csak az 1-es oldószerkombináció alkalmazása során tudtunk kinyerni, és 28 vegyületet találtunk meg mindkét kivonatban. A kioldott vegyületek között antocianinokat (cianidin-3-O-szoforozid, cianidin-3-O-glükozid, cianidin-3-O-(2G-glükozil)-rutinozid, cianidin-3-O-rutinozid, cianidin-3-O-(2G-xilozil)-rutinozid, pelargonidin-3-O-(2G-glükozil)-rutinozid,

pelargonidin-3-O-rutinozid, peonidin-3-O-rutinozid, cianidin-O-pentozid), procianidineket (B és C izomerek), flavonoidokat (katekin, epicatekin, cinkonin I izomerek, kvercetin származékok, prunin, izokvercitrin, rutin, dihidroxi(izo)flavon-C-glükózid, asztrágalin, nikotiflorin, narcisszin, naringenin) és egyéb polifenolokat (neo-klorogénsav, kumaroil-kínsav izomerek, klorogénsav, feruloil-kínsav izomerek, kriptoklorogénsav, naringenin kalkon-O-hexozid, di-O-kaffeoilkínsav) azonosítottunk.

Az elemzés eredményeként megállapítottuk, hogy bár a két oldószerkombinációval kioldott vegyületcsoportok között nem volt különbség, az 1-es kombináció több vegyületfajtát oldott ki. Ezek a vegyületek vízben kevésbé oldódnak, de az etanol jó oldószerük. Fontos megjegyezni, hogy az 1/A keverék (EtOH:víz; 50:50) polaritása miatt alkalmas a kis molekulatömegű szerves savak extrahálására is, mely a kivonatban 3-as pH-értéket biztosít, ezáltal a glikolizált antocianinok megtartják kémiai szerkezetüket (további sav hozzáadása nem szükséges).

7. táblázat. A meggykivonatokban LC-MS-sel azonosított polifenolos vegyületek.

Sorszám és előfordulás	RT [min]	Vegyület neve	Összegképlet	Pontos tömeg (m/z)			Δ ppm	Fragment ionok (relative abundance, %)	Referencia ¹
				Mért [M+H] ⁺	Mért [M-H] ⁻	Számolt			
1 ⁴	10.37	neo-klorogénsav	C16H18O9	355.10251		355.10291	-1.13	163.0391 (100); 145.0286 (11); 135.0443 (13)	LEVAJ et al., 2010
2 ⁴	12.83	kumaroil-kínsav izomerek 1	C16H18O8		337.09293	337.09235	1.72	191.0553 (52); 163.0388 (100); 119.0487 (48)	HAN et al., 2014
3 ⁴	12.84	procianidin B izomer 1	C30H26O12		577.13531	577.13460	1.23	407.0771 (58); 289.0721 (60); 125.0229 (100)	LEVAJ et al., 2010; BONERZ et al., 2007
4 ⁴	13.45	kumaroil-kínsav izomerek 2	C16H18O8		337.09317	337.09235	2.43	191.0555 (10); 163.0388 (100); 119.0487 (44)	HAN et al., 2014
5 ³	13.92	procianidin C izomer 1	C45H38O18		865.19922	865.19799	1.42	407.0771 (23); 289.0729 (30); 125.0229 (100)	WOJDYLO et al., 2014
6 ⁴	14.12	katekin ²	C15H14O6		289.07196	289.07121	2.60	245.0819 (34); 151.0025 (63); 109.0280 (100)	LEVAJ et al., 2010; BONERZ et al., 2007
7 ³	14.77	procianidin C izomer 2	C45H38O18		865.19910	865.19799	1.28	407.0774 (25); 289.0722 (26); 125.0230 (100)	WOJDYLO et al., 2014
8 ⁴	14.94	klorogénsav ²	C16H18O9	355.10211		355.10291	-2.25	163.0390 (100); 145.0286 (11); 135.0443 (12)	LEVAJ et al., 2010; BONERZ et al., 2007
9 ⁴	15.21	feruloil-kínsav izomerek1	C17H20O9		367.10304	367.10291	0.35	193.0498 (100); 173.0445 (7); 134.0360 (65)	
10 ⁴	15.77	procianidin B izomer 2	C30H26O12		577.13519	577.13460	1.02	407.0768 (62); 289.0719 (64); 125.0230 (100)	LEVAJ et al., 2010; BONERZ et al., 2007
11 ³	16.24	kriptoklorogénsav	C16H18O9	355.10223		355.10291	-1.92	163.0390 (100); 145.0285 (12); 135.0443 (12)	
12 ⁴	16.32	kumaroil-kínsav izomerek 3	C16H18O8		337.09201	337.09235	-1.01	191.0554 (16); 173.0444 (100); 163.0388 (19)	HAN et al., 2014
13 ⁴	16.42	feruloil-kínsav izomerek2	C17H20O9		367.10301	367.10291	0.27	193.0497 (100); 173.0444 (85); 134.0362 (62)	
14 ³	17.23	cianidin-3-O-szoforozid	C27H30O16	611.16071		611.16122	-0.83	287.0552 (100); 213.0545 (4); 137.0226 (3)	JAKOBEK et al., 2009
15 ³	17.41	procianidin C izomer 3	C45H38O18		865.19835	865.19799	0.42	407.0762 (23); 289.0714 (27); 125.0230 (100)	WOJDYLO et al., 2014
16 ⁴	17.60	cianidin-3-O-glükozid ²	C21H20O11	449.10773		449.10839	-1.47	287.0552 (100); 213.0548 (3); 137.0229 (5)	JAKOBEK et al., 2009

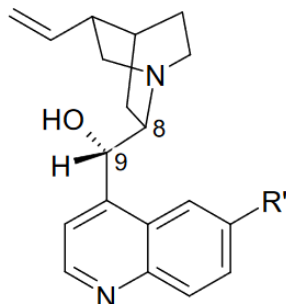
17 ³	17.68	epikatekin ²	C15H14O6		289.07175	289.07121	1.87	245.0818 (78); 151.0382 (31); 109.0281 (100)	LEVAJ et al., 2010; BONERZ et al., 2007
18 ⁴	17.81	cianidin-3-O-(2 ^G -glükózil)-rutinosid	C33H40O20	757.21814		757.21912	-1.29	611.1639 (4); 287.0552 (100); 213.0547 (2)	JAKOBEK et al., 2009
19 ⁴	18.20	kumaroil-kínasav izomerek 4	C16H18O8		337.09311	337.09235	2.26	173.0444 (100); 163.0388 (23); 119.0487 (17)	LEVAJ et al., 2010; BONERZ et al., 2007
20 ³	18.47	cianidin-3-O-rutinosid	C27H30O15	595.16626		595.16630	-0.07	449.1094 (4); 287.0552 (100); 213.0551 (2)	JAKOBEK et al., 2009
21 ⁴	18.54	cianidin-3-O-(2 ^G -xilózil)-rutinosid	C32H38O19	727.20795		727.20855	-0.83	581.1515 (3); 287.0553 (100); 213.0545 (2)	JAKOBEK et al., 2009
22 ⁴	18.80	pelargonidin-3-O-(2 ^G -glükózil)-rutinosid	C33H40O19	741.22491		741.22420	0.96	271.0602 (100)	JAKOBEK et al., 2009
23 ³	19.41	cinkonin I izomer 1	C24H20O9		451.10318	451.10291	0.60	341.0666 (100); 217.0137 (33)	
24 ³	19.45	pelargonidin-3-O-rutinosid	C27H30O14	579.17096		579.17138	-0.73	433.1135 (4); 271.0603 (100);	JAKOBEK et al., 2009
25 ⁴	20.05	peonidin-3-O-rutinosid	C28H32O15	609.18152		609.18195	-0.71	463.1237 (4); 301.0708 (100); 286.0474 (14)	JAKOBEK et al., 2009
26 ⁴	20.35	cianidin-O-pentozid	C20H18O10	419.09750		419.09783	-0.79	287.0554 (100)	
27 ³	20.36	kvercetin-O-(hexozil)-rutinosid	C33H40O21		771.19940	771.19839	1.31	300.0276 (100); 271.0248 (40); 255.0298 (19)	
28 ⁴	20.76	kvercetin-O-(hexozil)-hexozid izomer 1	C27H30O17		625.14056	625.14048	0.13	300.0276 (100); 271.0251 (37); 255.0305 (20)	
29 ³	20.96	kvercetin-di-O-hexozid	C27H30O17		625.14111	625.14048	1.01	463.0888 (48); 301.0356 (70); 300.0277 (100)	
30 ⁴	21.01	procianidin B izomer 3	C30H26O12		577.13605	577.13460	2.51	407.0768 (31); 289.0724 (53); 125.0229 (100)	LEVAJ et al., 2010; BONERZ et al., 2007
31 ³	21.09	kvercetin-O-rutinozid-O-glükózid	C33H40O21		771,19904	771.19839	0.84	609.1465 (89); 301.0355 (90); 300.0277 (100)	WOJDYLO et al., 2014
32 ⁴	21.44	naringenin kalkone-O-hexozid	C21H22O10		433.11380	433.11348	0.74	271.0613 (100); 151.0024 (59); 119.0488 (22)	
33 ³	21.81	cinkonin I izomer 2	C24H20O9		451.10123	451.10291	-3.72	341.0667 (100); 217.0135 (36)	
34 ⁴	22.27	kvercetin-O-(hexosyl)hexoside izomer 2	C27H30O17		625.14001	625.14048	-0.75	300.0277 (100); 271.0244 (33); 255.0288 (18)	
35 ³	22.81	cinkonin I izomer 3	C24H20O9		451.10248	451.10291	-0.95	341.0667 (100); 217.0138 (39)	

36 ⁴	22.88	di-O- kaffeoilkínasav	C25H24O12		515.11914	515.11896	0.35	353.0879 (60); 191.0553 (100); 179.0339 (62)	
37 ⁴	22.99	prunin	C21H22O10		433.11389	433.11348	0.95	271.0612 (100); 151.0024 (41); 119.0487 (26)	TOYDEMIR et al., 2013
38 ⁴	23.55	izokvercitrin ²	C21H20O12		463.08810	463.08765	0.97	301.0354 (43); 300.0276 (100); 271.0249 (37)	LEVAJ et al., 2010; BONERZ et al., 2007
39 ⁴	23.63	rutin ²	C27H30O16	611.16071		611.16122	-0.83	465.1029 (3); 303.0500 (100); 85.0289 (16)	LEVAJ et al., 2010; BONERZ et al., 2007
40 ³	23.74	dihidroxi(izo)flavon-C-glükózid	C21H20O9	417.11816		417.11856	-0.96	399.1080 (33); 381.0978 (25); 297.0760 (100)	
41 ³	25.34	asztralin	C21H20O11		447.09348	447.09274	1.66	285.0406 (66); 284.0328 (100); 255.0297 (86)	
42 ⁴	25.47	nikotiflorin	C27H30O15		593.15094	593.15065	0.49	285.0406 (100); 284.0328 (73); 255.0298 (42)	
43 ³	25.51	cinkonin I izomer 4	C24H20O9		451.10400	451.10291	1.35	341.06747 (100); 217.01355 (48)	
44 ⁴	25.83	narcisszin	C28H32O16		623.16132	623.16122	0.16	315.0512 (100); 314.0435 (44); 299.0197 (40)	LEVAJ et al., 2010; BONERZ et al., 2007
45 ³	27.30	kvercetin-3-O-(4- kumaroil)-glükózid	C30H26O14		609.12531	609.12444	1.43	463.0896 (41); 300.0279 (100); 271.0247 (25)	LEVAJ et al., 2010; BONERZ et al., 2007
46 ⁴	27.89	naringenin ²	C15H12O5		271.06122	271.06065	2.10	177.0182 (17); 151.0024 (100); 119.0488 (80)	LEVAJ et al., 2010; BONERZ et al., 2007

¹ Az irodalomban már korábban is azonosított vegyület a meggyben ² Standard segítségével beazonosított vegyület ³ Csak az etanol alapú (1/A+1/B) kivonatban azonosított vegyület ⁴ Mindkét kivonatban megtalálható vegyület (1/A+1/B és 2/a+2/B)

4.3.1.3. A cinkonin beazonosítása

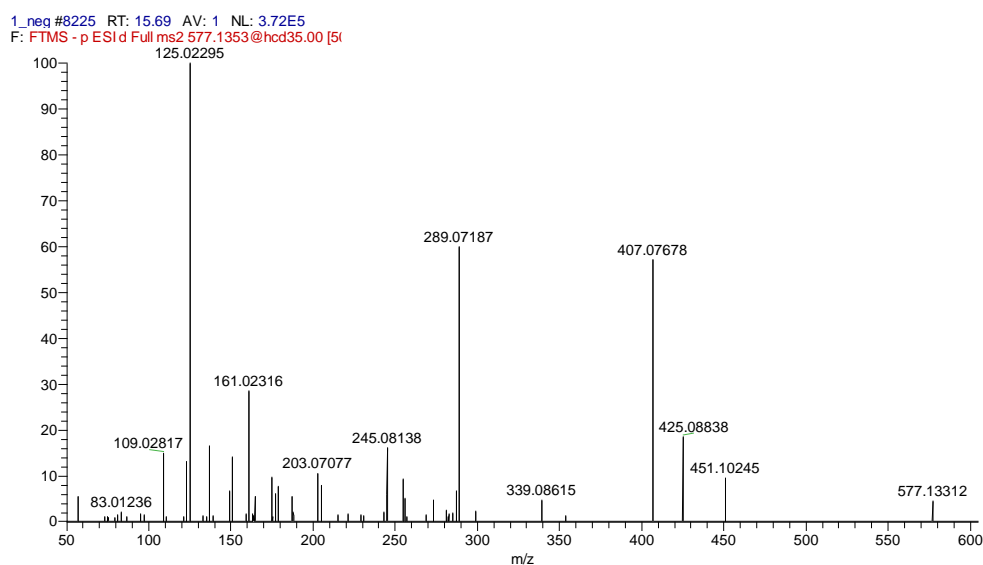
Az UHPLC-MS-sel végzett analízis során egy olyan komponenst is találtunk, melyet korábban még nem azonosítottak a meggyben. Ez a vegyület (31. ábra) a cinkonin ($C_{19}H_{22}N_2O$), mely egy természetes alkaloida, ami a többi kina-alkaloidához (kinin, kinidin, cinkonidin) hasonlóan a kínafa kérgében fordul elő. Az egészségügyben már korábban is alkalmazták a malária kezelésére [SINGH et al, 2013], de a legfrissebb kutatások szerint a méh- [LEE et al., 2011], és a májrák [JIN et al., 2018] ellen is hatásosnak bizonyult.



31. ábra. A cinkonin szerkezeti képlete

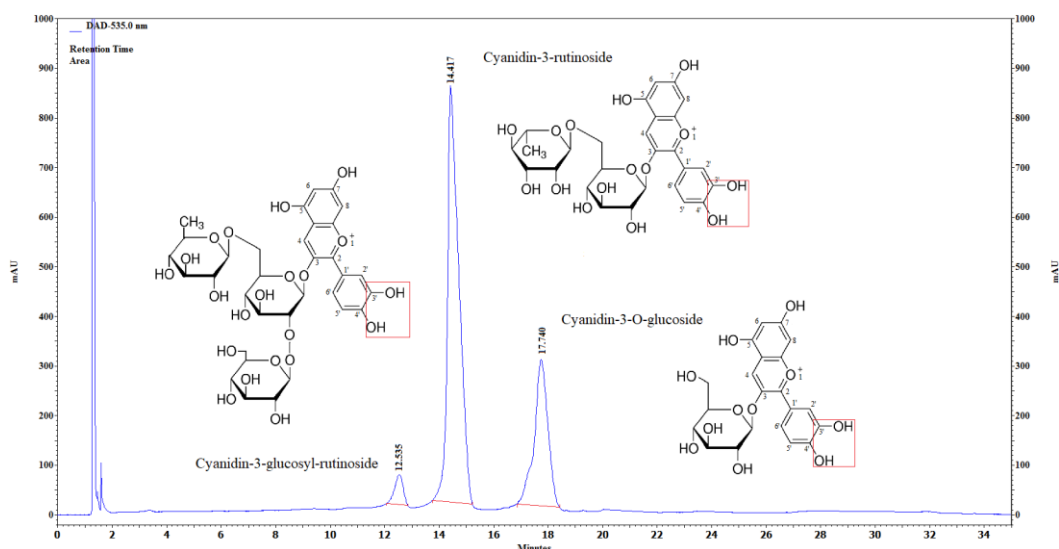
Amint az 7. táblázatban látható, a cinkonin I izomerek csúcsai 19,41, 21,81, 22,81 és 25,51 perces retenciós időnél jelentek meg, és az $[M-H]^-$ ionok m/z értékük 451,1029, ami a pontos molekulatömegük, az izotópos mintázatuk és a fragmentációjuk alapján a cinkonin I diasztereomerjei. A jellegzetes fragment ionok 451.10400, 341.06747 és 217.0155 (32. ábra).

A cinkonin négy izomerjét is sikerült azonosítanunk, de csak az 1-es oldószerkombinációval nyert kivonatból.



32. ábra. A cinkonin I diasztereoisomer (retenciós idő 25,5 perc) ESI-MS2 spektruma.

4.3.1.4. A meggyben található főbb antioxidáns vegyületek meghatározása UHPLC-vel

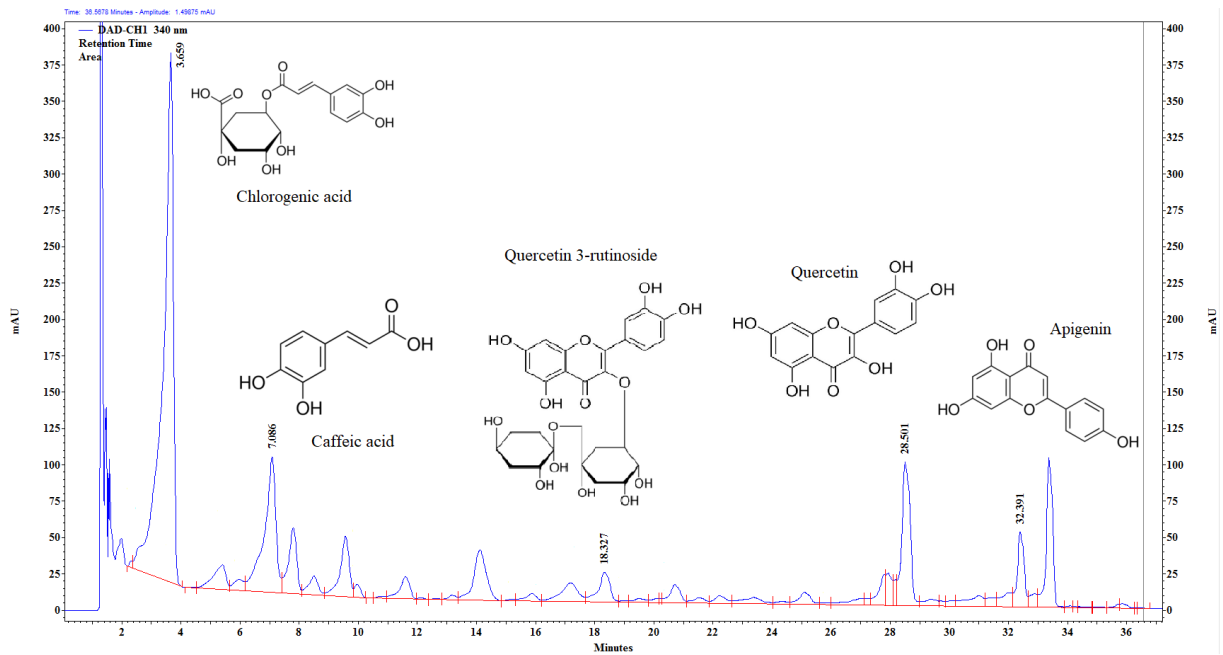


33. ábra. A meggykivonat UHPLC kromatogramja 535 nm-en. Standard segítségével beazonosított vegyületek

A kioldott vegyületek beazonosítása után, a főbb vegyületek pontos mennyiségi meghatározását is elvégeztük UHPLC segítségével az etanolos kivonatból. A kidolgozott mérési eljárást a későbbi *in vivo* kísérlet során is alkalmaztuk, mivel ezt a módszert alkalmaztuk a vizsgálat alapjául szolgáló magas antocianin tartalmú kivonat minőségellenőrzésére.

Az 33. ábrán látható az 'Újfehértói fürtös' fajta UHPLC kromatogramja, melyen jelöltük a meggyben beazonosított főbb antocianin vegyületeket: cianidin-3-O-glükozil-rutinozid, (2 mg/100 g meggy), cianidin-3-O-rutinozid, (183 mg/100 g meggy), cianidin-3-O-monoglükozid (4,29 mg/100 g meggy). Ezen vegyületek esetében az antioxidáns kapacitást a kalkonváz C3'-as és C4'-es szénatomjához kapcsolódó OH csoport biztosítja, így ezeket az ábrán is kiemeltük.

Az antocianinok mellett, a mintákban nagy mennyiségben találtunk kvercetin-3 rutinosidot és apigenint (flavonoidok) (34. ábra), melyek prekursor vegyületek az antocianinok bioszintézisében. De nagy mennyiségben megtalálhatóak benne még más fenolos vegyületek is, mint például a klorogén és a koffeinsav, melyek jellemzője a magas antioxidáns aktivitás.

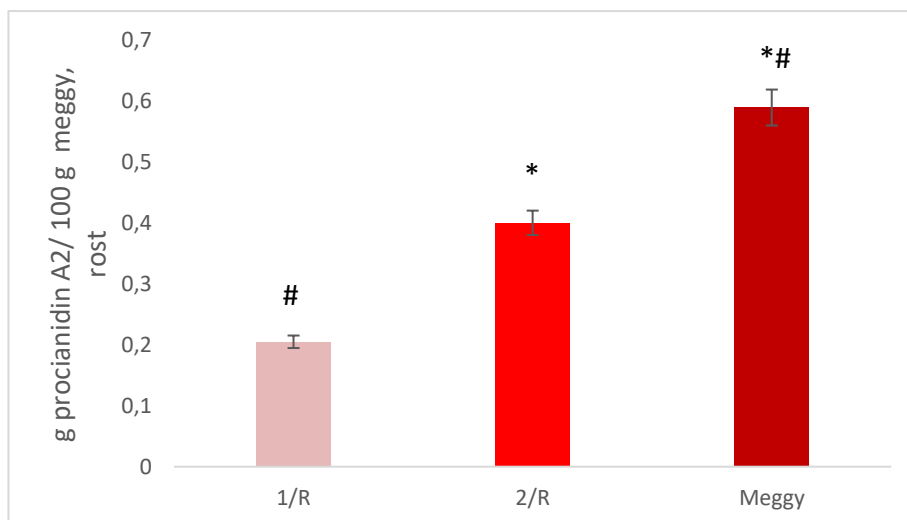


34. ábra. A meggykivonat UHPLC kromatogramja 340 nm-en.

4.3.2. Az extrakció után visszamaradt rost nem kioldható antioxidáns tartalma

Miután elvégeztük a kioldható antioxidánsokat tartalmazó kivonatok vizsgálatát, az extrakciók során visszamaradt rostokat kezdtük el elemezni, hogy meghatározzuk a nem kioldható antioxidáns hatású vegyületek mennyiségét és hidrolízissel megkíséreljük azok kivonását.

4.3.2.1. A meggy és a kivonás után visszamaradt rost összprocianidin tartalma (PAC)



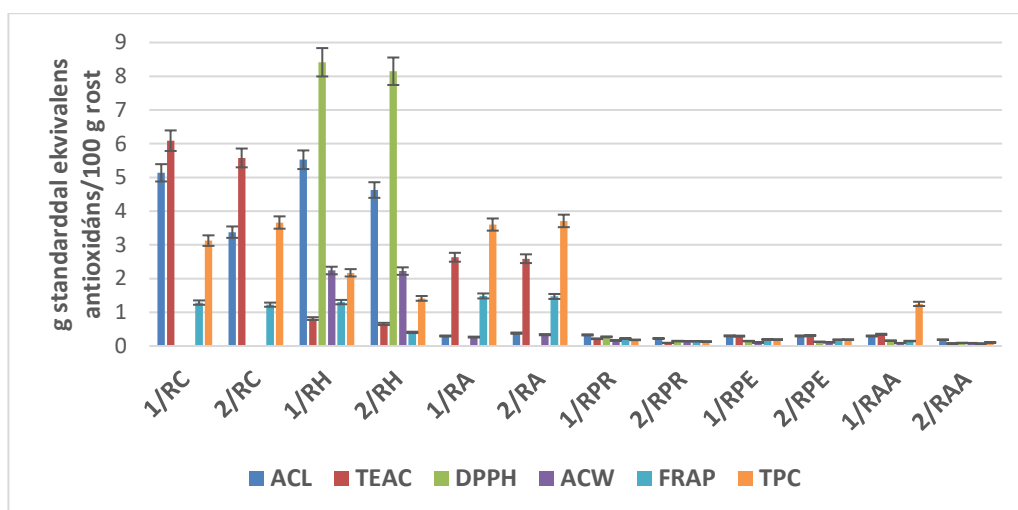
35. ábra. A meggy és a kivonás után visszamaradt meggyrost összprocianidin tartalma.

Mértékegységek: meggy minta, g procianidin A2/ 100 g friss meggy; kioldás után visszamarad rost: g procianidin A2/ 100 g száraz rost. Rövidítések: 1/R: az 1-es oldószerkombinációval kioldott meggyből visszamaradt rost; 2/R: a 2-es oldószerkombinációval kioldott meggyből visszamaradt rost. Jelölések: * szignifikánsan különbözik az 1/R-től ($p < 0.05$); # szignifikánsan különbözik 2/R-től ($p < 0.05$).

Először a procianidin vegyületeket vizsgáltuk meg, mivel korábbi tanulmányok alapján tudtuk, hogy a nem kioldható antioxidánsok nem mások, mint nem extrahálható polifenolok (NEPF) [PÉREZ-JIMÉNEZ és SAURA-CALIXTO, 2015], és ebbe a vegyületsorozatba a hidrolizálható tanninok mellett a nem extrahálható proanthocianidinek (NEPA) is beletartoznak [KRISTL et al. 2011; PÉREZ-JIMÉNEZ et al. 2013].

A 35. ábrán látható, hogy az 1-es oldószerkombináció alkalmazásával mérhetően nagyobb mennyiségű mono-, di- és trimer-procianidint extraháltunk, mint 2-es oldószer-kombinációval, mivel kevesebb maradt az 1/R maradékban, azonban az is megfigyelhető, hogy a procianidinek csak egy részét tudtuk kinyerni. Ennek azért van nagy jelentősége, mert a gyomorban és a vékonybélben zajló emésztési folyamatok során ezek a kötött vegyületek nem tudnak felszabadulni, vagyis eljutnak egészen a vastagbélig, ahol a bélflóra mikroorganizmusainak fermentációja teszi lehetővé a felszívódásukat.

4.3.2.2. A meggykivonatok nem kioldható antioxidáns kapacitása



36. ábra. A meggyrostból hidrolizált vegyületek antioxidáns kapacitásának és az összpolicifenol-tartalmának összehasonlítása. (Statisztikai elemzés: 4. melléklet)

Rövidítések: 1/R: az 1-es oldószerkombináció alkalmazása után visszamaradt rost; 1/RC: az 1/R rostból kivont hidrolizálható tanninok; 1/RH: az 1/R rostból kivont kondenzált tanninok; 1/RA: az 1/R rost lúgos hidrolízise; 1/RPR: az 1/R rost enzimes hidrolízise proteázzal; 1/RPE: az 1/R rost enzimes hidrolízise pektinázzal; 1/RAA: az 1/R rost enzimes hidrolízise α -amilázzal; 2/R: a 2-es oldószerkombináció alkalmazása után visszamaradt rost; 2/RC: a 2/R rostból kivont hidrolizálható tanninok; 2/RH: a 2/R rostból kivont kondenzált tanninok; 2/RA: a 2/R rost lúgos hidrolízise; 1/RPR: a 2/R rost enzimes hidrolízise proteázzal; 2/RPE: a 2/R rost enzimes hidrolízise pektinázzal; 2/RAA: a 2/R rost enzimes hidrolízise α -amilázzal.

Az 36. ábrán megfigyelhető, hogy az alkalmazott hidrolízis típusok közül csak a savas és a lúgos vezetett számottevő eredményre, mivel használatukkal szignifikánsan magasabb

antioxidáns kapacitást. Ennek az a magyarázat az, hogy a meggy nem tartalmaz nagy mennyiségű keményítőt, fehérjét, vagy pektint, tehát ezek lebontása (α -amilázzal, proteázzal illetve pektinázzal) nem okoz számottevő változást.

A lúgos kezeléssel már nagyobb mennyiségű antioxidáns vegyületet kaptunk, de leginkább a savas hidrolízisek hoztak kiemelkedő eredményt. Ezekben az esetekben a TPC értékek is megnövekedtek, így feltételezhetően a kötött polifenolok lebomlásából származó alacsony molekulatömegű fenolszármazékok lehetnek felelősek a látszólag magas antioxidáns aktivitásért. Bár a proantocianinokat általában a nem extrahálható komponensek közé sorolják, némelyiküket, az 7. táblázat eredményei alapján, már az extrakció során is kinyertük, viszont jelenlétüket a hidrolizátumokban nem tudtuk kimutatni.

A mérési módszerek hatékonyságáról ebben az esetben is elmondható, hogy jelentős különbségeket tapasztaltunk. Emellett a DPPH esetében megjegyeznénk, hogy az erős sav jelenléte nagyon megzavarta a mérési rendszert. A HCl-at tartalmazó mintákra (1/RC, 2/RC) kiugróan magas értékeket mértünk, míg a H₂SO₄ jelenlétében a minták antioxidáns kapacitása nem érte el a kimutatási határértéket (0,033 mg/ml).

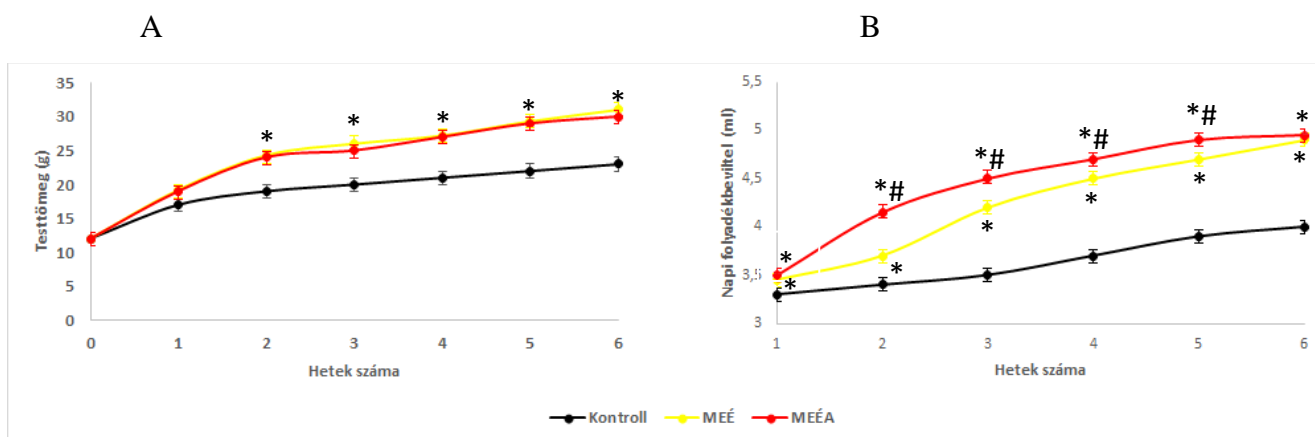
4.4. AZ ANTOCIANINOK HATÁSVIZSGÁLATA

Az antocianinok esetében felmerült az az elmélet, hogy alkalmasak lehetnek a 2-es típusú diabetes megelőzésére, illetve kezelésére. Ennek igazolására készítettünk egy antocianinokban gazdag kivonatot, melynek hatásait egy kisállatkísérletben vizsgáltuk.

Az antocianinok alkalmazhatóságát elhízott egér modellekben már megemlíti néhány szakirodalom, bár ezekben az esetekben különböző bogyókat, porított gyümölcshéjakat, bogyólevet vagy tisztított antocianinokat adtak az egyedeknek, és az alkalmazott dózis is változó volt. A legtöbb állatkísérlet 40 és 80 mg/kg közötti dózistartományban pozitív eredményt hozott, és egyes esetekben ezeket emberekkel végzett vizsgálatokban is megerősítették [NAIR és JACOB, 2016; AZZINI et al., 2017].

Az *in vivo* kísérlethez 35 hím C57BL/6J egeret használtunk, melyeket véletlenszerűen osztottuk három csoportba. A kontroll csoportot normál egér táppal és csapvízzel, a második csoportot magas zsírtartalmú táppal és 5 %-os cukortartalmú csapvízzel, a harmadik csoportot magas zsírtartalmú táppal és 5 %-os cukortartalmú, antocianinos csapvízzel (60 mg/kg) láttuk el, mivel a magas zsírtartalmú étrend és a szacharózzal kiegészített ivóvíz kombinációja hatékonyan vált ki elhízást és inzulinrezisztenciát [PRIOR et al., 2010B].

4.4.1. Antocianinos kezelés hatása a testsúlyra és a vízfogyasztásra



37. ábra: A krónikus antocianin kezelés hatása a testsúlyra és a napi vízfogyasztásra.

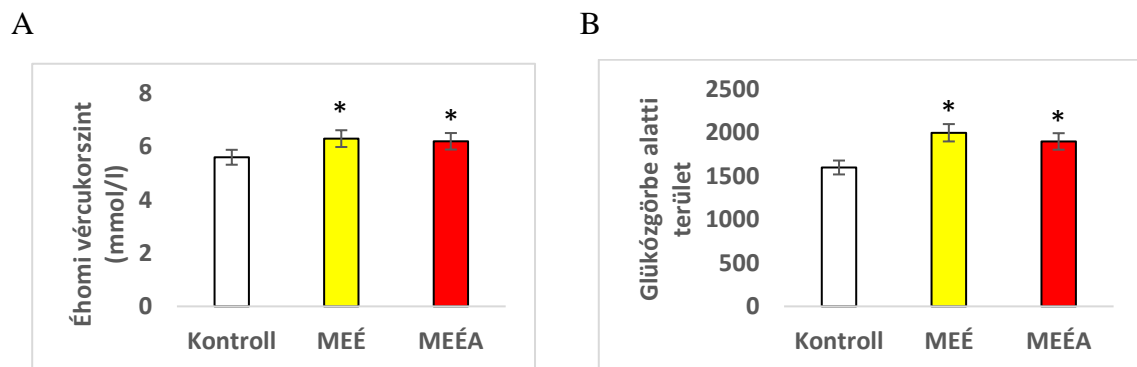
Rövidítések: MEÉ magas energiatartalmú étrend; MEÉA magas energiatartalmú étrend antocianinnal kiegészítve. Jelölések: * szignifikánsan különbözik a kontroll csoporttól ($p < 0.05$); # szignifikánsan különbség a MEÉ és a MEÉA csoport között ($p < 0.05$).

A kísérleti időszak kezdetén a három csoport átlagos testsúlya nem mutatott szignifikáns különbséget. Ugyanakkor a MEÉ-del és a MEÉA-nal ellátott csoport nagyobb napi testsúlynövekedést mutatott a kontroll csoporthoz képest, és a kísérleti időszak 2. hetére e két csoport tagjainak tömege szignifikáns mértékben megnőtt azokhoz az egyedekhez képest, akik a

normál étrendet kapták (37A. ábra). Az antocianin-kezelést összehasonlítva a magas energiatartalmú csoporttal semmilyen hatást nem mutatott a testtömegre. Ez az eredmény összhangban van más laboratóriumok eredményeivel is [DEFURIA et al., 2009; FARRELL et al., 2015].

Az átlagos napi vízfogyasztásban mind a MEÉ, mind a MEÉA csoport statisztikailag szignifikáns növekedést mutatott az egészséges kontroll egerekhez képest az 1. héttől kezdve, és ez a különbség az egész kísérleti időszak alatt fennállt (37B. Ábra). A 2. héttől az antocianinnal kezelt állatok szignifikánsan magasabb vízfogyasztást mutattak a magas zsírtartalmú csoporthoz képest, és az utolsó hetet leszámítva a különbség fennmaradt a két csoport között.

4.4.2. Az antocianin kezelés hatása a glükóztoleranciára



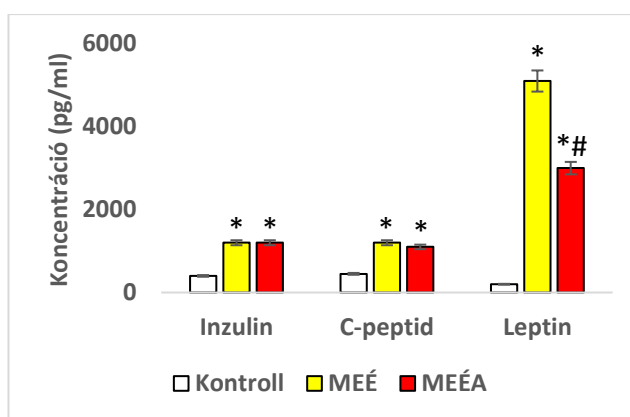
38. ábra. A krónikus antocianin kezelés hatása az éhomi vércukorszintre (A) és a glükózgörbe alatti területre (B).

Rövidítések: MEÉ magas energiatartalmú étrend; MEÉA magas energiatartalmú étrend antocianinnal kiegészítve. Jelölések: * szignifikánsan különbözik a kontroll csoporttól ($p < 0.05$).

A kísérleti időszak végén a magas zsír és a MEÉA csoport szignifikáns növekedést mutatott az éhomi vércukorszintben a kontroll csoporthoz képest (38A. ábra), ugyanakkor az orális glükóz beadása után mind a MEÉ, mind a MEÉA csoport csökkent glükóztoleranciát mutatott a kontroll egerekhez képest, amit a lényegesen nagyobb glükózgörbe alatt terület (AUGC) mutat (38 B. ábra), tehát a magas zsírtartalmú étrend és a szacharózzal kiegészített csapvíz elhízási modellje hatékonyan előidézte az éhomi hiperglikémiát. Ezt az állapotot gyakran az elhízás és 2-es típusú diabetes esetén tapasztalják. Megállapítottuk, hogy az antocianinkezelés nem okozott különbséget az éhomi plazma glükózban és az AUGC-ben a magas energiatartalmú étrenden tartott egerekhez képest, de ez más csoportok eredményei alapján várható is volt [PRIOR et al., 2010B; DEFURIA et al., 2009; WU et al., 2013A].

4.4.3. Az antocianin kezelés hatása a gyulladásgátló, és a gyulladáscsökkentő adipokinekre

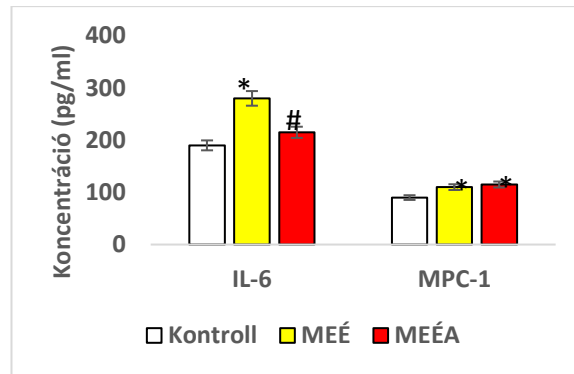
Mint az köztudott, a fehér zsírszövet nem csak energiatároló szerepet játszik, hanem fontos endokrin funkciót is ellát. A zsírszövet által termelt hormonok, az úgynevezett adipokinek, fiziológias körülmények között szekretálódnak a véráramba, de a súlygyarapodás és az elhízás kórosan megváltoztatja ezen vegyületek génexpresszióját és szekréción mintázatát, jelentősen megemelve az olyan gyulladásgátló adipokinek mennyiségét, mint a leptin, az MCP 1, az aIL-6 és a rezisztin, miközben csökkenti a gyulladásgátló adiponektin és az IL-10 termelését. Ezek a változások hozzájárulnak a szöveti gyulladáshoz, az inzulinrezisztencia és a metabolikus szindróma egyéb tüneteinek kialakulásához.



39. ábra. A krónikus antocianinkezelés hatása a postprandiális (étkezés utáni) inzulin, C-peptid és leptin szintre.

Rövidítések: MEÉ magas energiatartalmú étrend; MEÉA magas energiatartalmú étrend antocianinnal kiegészítve.
Jelölések: * szignifikánsan különbözik a kontroll csoporttól ($p < 0.05$); # szignifikánsan különbség a MEÉ és a MEÉA csoport között ($p < 0.05$).

Kísérleti eredményeink azt mutatják, hogy az orális glükózterhelés mind a MEÉ, mind a MEÉA csoportban szignifikánsan megnövekedett inzulinválaszt eredményezett a kontroll csoporthoz képest (39. ábra), amelyet a C-peptidszint szignifikáns emelkedése kísért 2 órával a glükózbevitel után, ami az inzulintermelés jelentős növekedését jelzi orális glükóz hatására (37. ábra). Az antocianin kezelés nem mutatott hatást a plazma étkezés utáni inzulin és C-peptid szintjére a MEÉ csoporthoz képest. Az étkezés utáni leptinszint tekintetében megállapítható, hogy a magas zsírtartalmú csoportban az leptin szintje több, mint 28-szoros növekedését mutatott a kontroll egerekhez képest, és bár a MEÉA csoportban szintén szignifikánsan magasabb let a kontroll csoporthoz képest, az is elmondható, hogy az antocianinkezelés a leptinszintjében jelentős csökkenését váltott ki a csak magas energiatartalmú étrenden nevelt egerekhez képest (39. ábra).

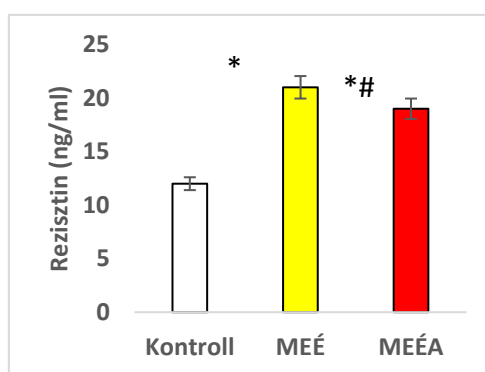


40. ábra. A krónikus antocianinkezelés hatása a plazma IL-6 és MCP-1 szintjére. Rövidítések: MEÉ magas energiatartalmú étrend; MEÉA magas energiatartalmú étrend antocianinnal kiegészítve. Jelölések: * szignifikánsan különbözik a kontroll csoporttól ($p < 0.05$); # szignifikánsan különbség a MEÉ és a MEÉA csoport között ($p < 0.05$).

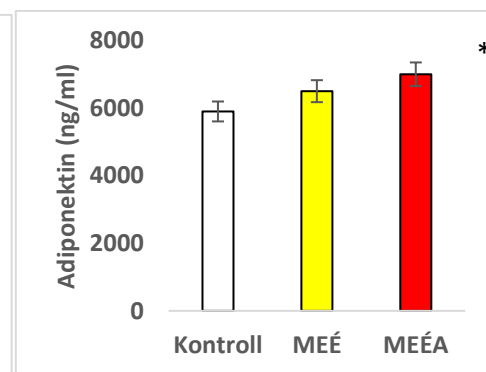
A kísérleti időszak végén az IL-6 szint szignifikánsan megemelkedett a magas zsírtartalmú csoportban az egészséges kontroll egerekhez képest, a MEÉA csoportban, azonban az IL-6 szintek nem mutattak különbséget összehasonlítva a kontroll állatokkal, és szignifikánsan alacsonyabbak voltak, mint a MEÉ csoport (40. ábra). Ez a megállapítás azért különösen fontos, mert elhízás esetén az IL-6 felszabadul a zsírsejtekből, és rontja a szövetek inzulinérzékenységét [HIRANO, 2010], tehát az antocianinok javíthatják azt. Ezt az eredményt más kutatócsoportok is megerősítették már [VENDRAME et al., 2013; WU et al, 2016].

Az MCP-1 szintje a kontrollhoz képest szignifikánsan megemelkedett mind a magas energiatartalmú, mind az antocianinnal kiegészített magas energiatartalmú étrenden tartott csoportokban (40. ábra). Különböző laboratóriumokban az antocianin-kezelés képes volt csökkenteni az MCP-1 értékét, de például DeFuria tanulmányában a miénkhez hasonló eredményre jutott [DEFURIA et al., 2009].

A



B

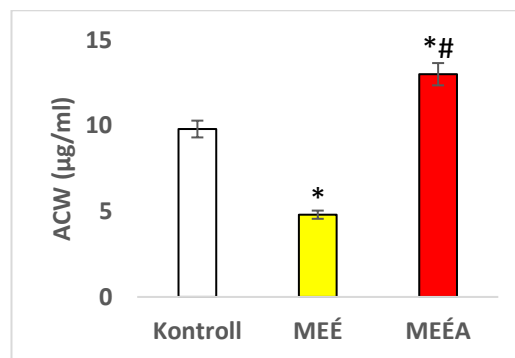


41. ábra. A krónikus antocianinkezelés hatása a plazma rezisztin (A) és adiponektin (B) szintjére.

Rövidítések: MEÉ magas energiatartalmú étrend; MEÉA magas energiatartalmú étrend antocianinnal kiegészítve. Jelölések: * szignifikánsan különbözik a kontroll csoporttól ($p < 0.05$); # szignifikánsan különbség a MEÉ és a MEÉA csoport között ($p < 0.05$).

A MEÉ csoportban az rezisztin koncentrációja a plazmában szignifikánsan megnövekedett, de az antocianin-kezelés hatásosan lecsökkentette (41A. ábra). Az adiponektin (gyulladáscsökkentő adipokin) koncentrációját a magas energiatartalmú étrend nem változtatta meg szignifikánsan, de az antocianinnal végzett kezelés szignifikánsan megnövelte azt a kontroll csoporthoz képest (41B. ábra), tehát az eredményeink megerősítették Tsuda megállapítását, mely szerint az antocianinok fokozták az adiponektin szekrécióját [TSUDA, 2012]. Ez jó eredménynek számít, mivel Funahashi (2004) megállapította, hogy az adiponektin mennyisége fordított összefüggést mutat az elhízás és az inzulinrezisztencia kockázatával.

4.4.4. Az antocianin kezelés hatása a szervezet antioxidáns státuszára



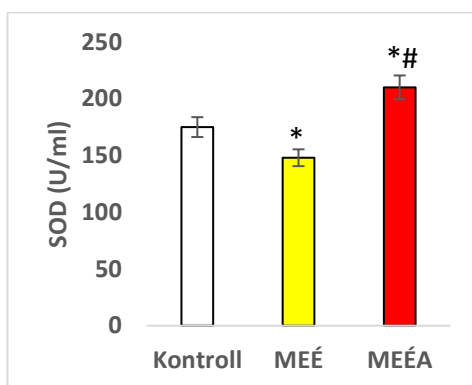
42. ábra. A krónikus antocianin kezelés hatása a vér zsírolható antioxidáns kapacitására (ACW).

Rövidítések: MEÉ magas energiatartalmú étrend; MEÉA magas energiatartalmú étrend antocianinnal kiegészítve.

Jelölések: * szignifikánsan különbözik a kontroll csoporttól ($p < 0.05$); # szignifikánsan különbség a MEÉ és a MEÉA csoport között ($p < 0.05$).

A magas energiatartalmú étrend jelentősen csökkentette az ACW-szintet, amit a kontroll és a MEÉ csoport közötti jelentős különbség mutat. Az antocianin kezelés sikeresen megakadályozta az ACW szint csökkenését; továbbá az antocianinnal kiegészített magas energiatartalmú étrenden tartott egerek eredményei enyhe, de szignifikáns növekedést mutattak a kontrollokhöz képest (42. ábra). Összességében, tehát a zsírban és cukorban gazdag étrend rontja az antioxidáns aktivitását, de a krónikus antocianinkezelés képes ellensúlyozni az elhízási modellben tapasztalt antioxidáns kapacitás csökkenést, és az egészséges kontrollokhöz képest szignifikáns növekedést idézett elő.

4.4.5. Az antocianinok hatása a SOD értékekre



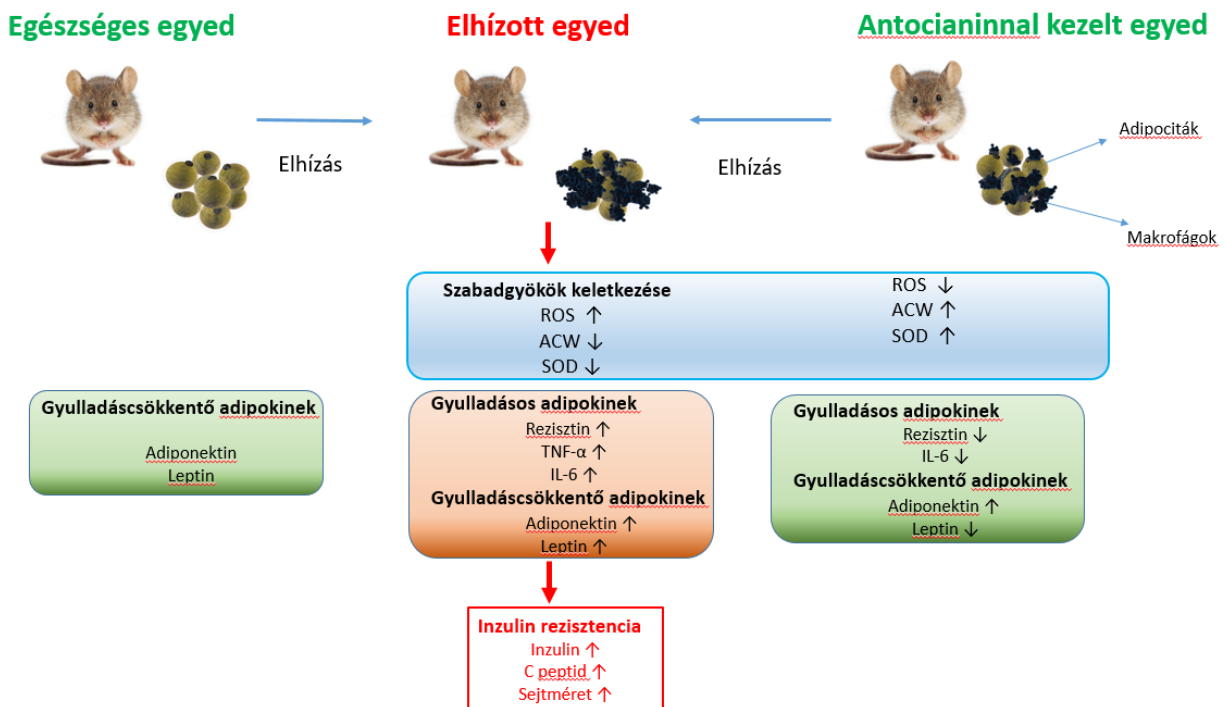
43. ábra. A krónikus antocianin kezelés hatása a plazma szuperoxid-dizmutáz (SOD) szintjére. Rövidítések: MEÉ magas energiatartalmú étrend; MEÉA magas energiatartalmú étrend antocianinnal kiegészítve. Jelölések: * szignifikánsan különbözik a kontroll csoporttól ($p < 0.05$); # szignifikánsan különbség a MEÉ és a MEÉA csoport között ($p < 0.05$).

A magas zsírtartalmú étrenden tartott egerekben a SOD szintje jelentősen csökkent a kísérleti időszak végére. Az antocianin-kezelés hatékonyan megemelte a SOD-ot az egészséges és a magas zsírtartalmú kontrollokhoz képest (43. ábra).

Ennek magyarázata az lehet, hogy a magas energiatartalmú étrenddel kiváltott elhízás miatt megnő az adipocitokinek koncentrációja. A növekedés mértéke korrelál az oxidatív stressz mértékével, és az oxidatív stressznek köszönhetően a H_2O_2 termelés következik be [FURUKAWA et al., 2004]. A H_2O_2 inaktíválja a SOD-ot, ami csökkent aktivitást eredményez. Az antocianinok azonban közvetlenül növelhetik a SOD aktivitását [TOUFEKTSIAN et al., 2008].

4.4.6. A krónikus antocianin kezelés hatásainak összefoglalása

Az egereken végzett kisállatkísérlet eredményeit, vagyis a mért paraméterek változásait a 44. ábra szemlélteti. Láthatjuk, hogy a kísérleti időszak végére a magas energiatartalmú étrend a glükóz tolerancia markáns csökkenését eredményezte mind az MEÉ, mind a MEÉA csoportban. Megállapítottuk továbbá, hogy az antocianinkezelés során az orális glükózterheléshez társuló megnövekedett C-peptid szekréció hatására megnövekedett inzulinválasz nem volt képes szignifikánsan ellensúlyozni a felfokozott vércukorszintváltozásokat, annak ellenére sem, hogy az antocianinok közül a cianidin-3-o- β -glikozidról már bizonyították, hogy képes növelni a sejtek inzulinérzékenységét azáltal, hogy inaktíválja a JNK (c-Jun N-terminal kinase, c-Jun N-terminális kináz) stressz kinázt, vagy nem alakítja át a szerin inzulinreceptor-1 szubsztrátumot [AGUIRRE et al., 2000].



44. ábra. A kisállatkísérlet eredményeinek grafikus értelmezése.

Azt tapasztaltuk, hogy zsírsavszint átmeneti növekedése az inzulintermelés fiziológiai stimulációjának is tekinthető, mivel az inzulinszekréciónak ideiglenesen fokozódhat a metabolikus egyensúly fenntartása érdekében, azonban az elhúzódó zsírsav-túlterhelés rontja a β -sejtek működését. Kísérletünk során azt tapasztaltuk, hogy a hiperkalórikus étrend fokozza az inzulin szekréciónak, és az antocianin-kezelés ebben az esetben nem tudta ellensúlyozni a magas energiatartalmú (magas zsír és cukor) étrend hatását.

Méréseinkkel továbbá bizonyítani tudtuk, hogy a zsírban és cukorban gazdag étrend rontja az antioxidáns aktivitását (ACW, SOD), de a krónikus antocianinkezelés képes volt ellensúlyozni a csökkenést.

A leptint („jóllakottsági hormon”) adipociták termelik, és mennyisége arányos a testzsír mennyiségével [HAMILTON et al., 1995]. Az étvágyat úgy szabályozza, hogy a hipotalamusz íves magjában lévő receptorokra hat. Elhízás esetén a leptin szint emelkedik, de a leptin rezisztencia miatt csökken a leptin aktivitása [ALLISON és MYERS, 2014], így a megnövekedett leptin szint szintén hozzájárul az inzulinrezisztenciához, és pozitív összefüggést mutat a kardiovaszkuláris betegségek és a metabolikus szindróma kockázatával [REN, 2004]. Vizsgálatunkban a magas energiatartalmú étrend hatékonyan növelte a leptin szintet mind a MEÉ, mind a MEÉA tartott egerekben. A magas zsírtartalmú táppal etetett egereknél megnövekedett a testtömeg és ebből eredő hyperleptinemia, ami hozzájárulhat a glükóz

intoleranciához. A krónikus antocianinkezelés szignifikánsan csökkentette a leptin szintet a MEÉ egerekhez képest, bár az egészséges kontrollokhoz képest még mindig szignifikánsan magasabb volt. Így nem meglepő, hogy az antocianin kezelés nem javította jelentősen a glükóz toleranciát, és nem is csökkentette a testtömeget a kísérleti időszak végére. Egyes irodalmak szerint az antocianin csak 12 hétes kezelés során volt képes csökkenteni a leptinszintet és a testsúlyt, ami az éhomi inzulinérzékenység javulásával járt [WU et al., 2013A; WU et al., 2013B; GUO et al. 2012]. Ezek alapján nem utasíthatjuk el annak lehetőségét, hogy a meggykivonatunk nagyobb dózisban vagy hosszabb kezelési periódus esetén jelentős javulást eredményezhet a glükóz anyagcserében, de ennek megválaszolása további kísérleteket igényel.

5. KÖVETKEZTETÉSEK, JAVASLATOK

Hazánkban a meggy ipari szempontból egy igen sololdalúan felhasználható gyümölcs, friss fogyasztása viszont nem igazán jellemző. Ha az egészséges életmódról, vagy az antioxidánsokról beszélünk, akkor is inkább a bogyós gyümölcsök jutnak az ember eszébe, pedig a meggy is igen gazdag fitokemikáliákban.

Az elmúlt években a fogyasztók (és ezáltal az ipar is) egyre fontosabbnak tartják a természetes eredetű ható-, és adalékanyagok használatát, és ezzel egyidőben tartózkodni kezdtek a mesterséges anyagoktól. Ezt az igényt felismerve ma már számos kutatócsoport folytat vizsgálatokat az zöldségekben és gyümölcsökben található ható komponensek felkutatására. Kapcsolódva ehhez a tendenciához, kutatócsoportunk megkezdte a magyarországi meggyfajtákban lévő értékes vegyületek feltérképezését és analízisét.

Elsőként a meggy magjának elemzését mutatnánk be. Bár a meggy magolaj bioaktív komponensekben (antioxidánsokban, antimikrobiális és gyulladásgátló tulajdonságú anyagokban) gazdag, és ipari kinyerésére már 1926-óta létezik megfelelő technológia, hazánkban a magot jellemzően még mindig nem kívánatos növényi hulladékként kezelik.

Vizsgálataink alapján a magbél átlagosan az egész mag 20 %-át teszi ki, de egyes fajták, mint például az 'Éva' elnevezésű meggy esetében ez az érték szignifikánsan magasabb is lehet (25 %). Megállapítottuk, hogy az endospermium olajhozama 10 és 15 % közötti érték, és hogy a kinyert olajban három tokoferol izomer (α , γ , δ) van jelen mérhető mennyiségben, mivel β izomert nem detektáltunk, viszont γ -tokoferolban igen gazdagok, átlagos koncentrációja a vizsgált mintákban 1,19 mg γ -tokoferol/g endospermium.

Összegezve az eredményeket, azt mondhatjuk, hogy a meggy mag feldolgozására, jó alternatívát jelent a magolaj készítése, mivel egyes fajták esetében az olaj kinyerése különösen gazdaságos, hatékony és a magas hatóanyagtartalom miatt ideális ipari γ -tokoferol forrás lehetne. Ennek elősegítésére további vizsgálatok lehetnek indokoltak, az iparban nagy mennyiségben feldolgozott meggyfajták vizsgálatára, a keletkező meggy mag mennyiségének, valamint a belőle nyerhető magolaj és a benne található γ -tokoferol mennyiségének felmérésére.

Munkánk folytatásához meg kellett találnunk a megfelelő módszert a meggyfajták antioxidáns kapacitásának meghatározására, azért hogy megtaláljuk a céljainknak leginkább megfelelő fajtákat.

Az irodalmazás során sajnos sokszor találkozunk azzal a problémával, hogy bár a választott módszerek széles körűen elfogadottak, nem az adott minta sajátosságainak megfelelően lettek kiválasztva, így fontos információk veszhetnek el.

Köztudott, hogy a zöldségek és a gyümölcsök fitokemikáliákban rendkívül gazdagok, és hogy a különböző növényfajok által termelt vegyületek fajtaspecifikusak, így a mérési módszerek problémáját megkerülendő, létrehozható lenne egy adatbázis, egy ajánlás, mely figyelembe véve a modellnövény sajátosságait, mérésekkel alátámasztva tartalmazná azt a mérési módszert, amely a leginkább alkalmas az összantioxidáns kapacitás meghatározására.

Mivel a magyarországi meggyfajták esetében még nem történt ilyen felmérés, 12 meggyfajta esetében megmértük az összes antioxidáns kapacitást öt módszerrel (FRAP, DPPH, TEAC, ACL, ACW). Ezek mellett megtörtént a minták C-vitamin tartalmának mérése és az antocianin vegyületek mennyiségi meghatározása is, hogy a meggyfajták esetében referenciaértékkel rendelkezünk, melyekhez viszonyítva meghatározhatjuk a kapott antioxidáns kapacitás értékek helyességét, és ellenőrizni tudjuk a módszerek hatékonyságát.

Megállapítottunk, hogy a zsír-, és a vízdékony módszerek esetében is vissza tudtuk mérni a referenciaként szolgáló antocianinok, illetve a C-vitamin mennyiségét, viszont azt is tapasztaltuk, hogy nemcsak a fajták, hanem a mérési módszerekkel kapott eredmények között is szignifikáns különbségek vannak.

Elmondható továbbá, hogy a meggy antioxidáns kapacitásának meghatározására a kemilumineszcencián alapuló PCL (ACW, ACL) módszerek bizonyultak a leghatékonyabbnak, mivel esetükben mértük a legmagasabb értékeket, melyek jellemzően a spektrofotométeres mérésekkel kapott eredmények többszöröse volt.

Megállapítottuk továbbá, hogy az egyes fajták eltérő arányban tartalmaznak zsír-, és vízdékony antioxidáns hatású vegyületeket, és hogy ilyen értelemben a vizsgált meggyek közül az 'Újfehértói fürtös' fajta a legértékesebb, így a további vizsgálatainkhoz és kivonatainkhoz ezt a gyümölcsöt használtuk fel.

Ezután a meggyben lévő antioxidánsok mennyiségi és minőségi meghatározásához oldó-, valamint hidrolizálószer segítségével elkülönítettük a kioldható és a nem kioldható antioxidáns hatású vegyületeket, majd analitikai módszerekkel meghatároztuk a kivonatok antioxidáns kapacitását.

A meggyből két többlépcsős oldószerkombinációval extraháltuk ki a kioldható antioxidánsokat, majd az kivonatok hat eltérő mérési módszerrel (FRAP, DPPH, TEAC, ACL, ACW, TPC) hasonlítottuk össze. A kapott eredmények alapján azt állapítottuk meg, hogy a két

extrakciós eljárással kapott kivontok antioxidáns kapacitása, illetve összpolicifenoltartalma szignifikánsan nem különbözik, de azt is láthattuk, hogy az oldószerkombinációk egyes lépéseiben alkalmazott elegyek önmagukban nem alkalmasak a bioaktív vegyületek teljes kivonására, mivel a velük nyert kivonatok antioxidáns kapacitása jelentősen elmarad az oldószerkombinációkra kapott értékektől.

A meggy esetében már tapasztalt, az egyes mérési módszerek hatékonyságában megfigyelt különbségek ebben a vizsgálatban is megmutatkoztak, és a korábbi tapasztalatokhoz hasonlóan, ebben az összehasonlításban is a kemilumineszcencián alapuló mérések bizonyultak a leginkább megfelelőnek.

Az antioxidáns kapacitás meghatározása mellett, UHPLC-MS illetve standardok segítségével mindkét oldószerkombináció esetén azonosítottuk a kioldott vegyületeket. Megállapítottuk, hogy ugyan a két kioldási módszerrel kinyert vegyületek számában volt különbség, a kioldott vegyületcsoportok (antocianinok, procianidinek, flavonoidok és egyéb polifenolok) megegyeztek. Ez a megállapítás azért nagyon fontos számunkra, mert a vizes-alkoholos kioldás (1-es oldószer kombináció) előnyösebb a feldolgozóipar számára, és a mért értékek alapján ez az extrakciós módszer elegendő a meggy legfontosabb vegyületeinek (antocianinok, procianidinek, fenolos komponensek és flavonoidok) kivonására.

Az 1-es kombinációval nyert kivonatból sikerült beazonosítanunk egy olyan vegyületet is, melyet korábban meggyből még nem mutattak ki. Ez a komponens a cinkonin, melynek rákellenes tulajdonságait több tanulmány is igazolta már.

A meggyben található főbb antioxidáns hatású vegyületek beazonosítására, és koncentrációjuk meghatározására kromatográfias rendszert fejlesztettünk UHPLC segítségével. Ezt a módszert a későbbiekben, az *in vivo* kísérleteinkhez használt magas antocianin tartalmú meggykivonat minőségellenőrzésében is alkalmaztuk.

A meggy, valamint a visszamaradt rostok összprocianidin tartalmának (PAC) elemzése rámutatott, hogy bár az 1. oldószerkombinációval szignifikánsan több procianidint tudtunk kioldani, mint a 2. módszerrel, a kioldott mennyiség jelentősen elmarad a meggyben összességében megtalálható összprocianidinok mennyiségétől, tehát jelentős mennyiségű procianidin maradt a mintákban kötött formában.

Az extrakciós eljárások után visszamaradt rostok hidrolízisével sikerült kinyernünk további antioxidáns hatású vegyületeket, bár az enzimes hidrolízis nem eredményezett jelentős antioxidáns aktivitást.

A lúgos és a savas hidrolízisek kiemelkedő eredményt hoztak, és ezekben az esetekben az összpolicifenoltartalom is megnövekedett, tehát valószínűsíthetően a kötött polifenolok

lebomlásából származó alacsony molekulatömegű fenolszármazékok okozhatják a változást. Emellett megállapítottuk, hogy a mérési módszerek hatékonyságáról ebben az esetben is jelentős különbségeket eredményezett, és hogy a DPPH mérés eredményét az erős sav jelenléte nagyban befolyásolta.

Összességében elmondhatjuk, hogy a friss meggyből kivont és az extrakciós maradékok hidrolízisével nyert antioxidánsok mennyisége az alkalmazott két oldószer-kombináció esetében nagyon hasonlóak voltak, és kijelenthetjük, hogy a Saura-Calixto és Goñi (2006) által kidolgozott savas (HCl) metanol-aceton-víz oldószer-kombináció szignifikánsan nem extrahált ki nagyobb mennyiségű antioxidáns vegyületet. Következésképpen a kioldás hatékonyságára nincs befojással, ha az első lépésben nem használunk HCl-t, és a metanolt etanollal, valamint ha az aceton-víz kombinációt 100 % -os etanollal helyettesítjük.

Miután sikerült egy hatékony eljárást kidolgoznunk az antocianinok alkoholos kivonására és tisztítására, kisállatkísérletet terveztünk az antocianinokban gazdag meggykivonat étrenddel kiváltott elhízásos modellen gyakorolt hatásának mérésére.

A kísérlet során azt tapasztaltuk, hogy a krónikus orális antocianin-kezelés nem védte meg az állatokat az étrenddel kiváltott súlygyarapodástól, és megállapítottuk, hogy a magas zsírtartalmú étrend és a szacharózzal kiegészített csapvíz alkalmazásával elő tudtuk idézni az éhomi hiperglikémiát, melyet a krónikus antocianinkezelés nem tudott jelentősen csökkenteni.

Kísérletünkben a MEÉ egerek szignifikáns különbségeket mutattak az egészséges kontrollokhoz képest, de rá kell mutatnunk, hogy nehéz minden részletben összehasonlítani a vizsgálatokat, mivel az elhízás vagy az inzulinrezisztencia modell tekintetében jelentős különbségek (rágcsálótörzs, alkalmazott vegyületek, kivonatok kémiai összetétele, adagolása, kezelési időtartam) vannak a szakirodalomban. Ez alapján azt feltételezhetjük, hogy az adipokin gén expressziós mintáiban különbségek vannak, ami megmagyarázhatja, hogy az adiponektin szintje miért nem változott sem az elhízás modelljében, sem az antocianin kezelésre adott válaszban. Hangsúlyoznunk kell azonban, hogy a meggykivonattal végzett krónikus kezelés csökkentette a leptin és az IL-6 szintjét, ami azt bizonyítja, hogy az alkalmazott antocianin mennyiség gyulladáscsökkentő hatású, és feltételezhetjük, hogy egy nagyobb dózisú antocianin és / vagy hosszabb periódus kezelés hatékonyan javíthatja az inzulinérzékenységet az étrenddel kiváltott elhízási modellben, de hipotézisünk bemutatása további kísérleteket igényel.

Méréseinkkel bizonyítani tudtuk, hogy a zsírban és cukorban gazdag étrend rontja a plazma antioxidáns aktivitását, de a krónikus antocianinkezelés képes ellensúlyozni az elhízási

modellünkben tapasztalt antioxidáns kapacitás csökkenést, és az egészséges kontrollokhoz képest enyhe, de mégis szignifikáns növekedést idézett elő.

6. ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK

1. Bizonyítottuk, hogy a magyarországi meggyfajták magbél: maghéj aránya, valamint az endospermiumok olajhozama eltérő. A magok összetételében egyes fajták között több, mint 6 %, míg az olajhozamban csaknem 7 %-os eltéréseket is tapasztaltunk. Emellett a magok jelentős γ -tokoferol tartalommal jellemezhetők (1,6 mg/g endospermium), míg β -tokoferol nem volt detektálható.

2. Bizonyítottuk, hogy a magyarországi meggyfajták közül az „Újfehértói fürtös” jellemezhető a legnagyobb víz- és zsíroldható antioxidáns kapacitással (ACW értéke 2,2 $\mu\text{g}/\text{mg}$; ACL értéke 4,4 $\mu\text{g}/\text{mg}$), és értékes vegyületeinek kinyerésére vizes-etanolos oldószerkegy alkalmazásával új extrakciós módszert dolgoztunk ki.

3. Elsőként azonosítottuk meggyben az ismert antocianin vegyületek mellett UHPLC-MS technikával a cinkonint.

4. Kisállatkísérleteinkkel igazoltuk, hogy az antocianinokban gazdag meggykivonat alkalmazásával csökkenthető a magas zsír- és cukor tartalmú étrend által kiváltott megemelkedett leptin, IL-6 és rezisztin szint. Esetünkben a leptin szintje 41 %-kal, IL-6-é 23 %-kal, a rezisztin szintje pedig 9,5%-kal csökkent, ezáltal bizonyítottuk, hogy az alkalmazott antocianin koncentráció (60 mg/kg) gyulladáscsökkentő hatású az étrenddel kiváltott elhízási modellben. A krónikus antocianin-kezelés képes ellensúlyozni az elhízási modellben tapasztalt antioxidáns kapacitás csökkenést és az egészséges kontrollhoz képest szignifikáns (43 %-os) növekedést detektáltunk.

7. GYAKORLATBAN ALKALMAZHATÓ EREDMÉNYEK

Eredményeinket a gyakorlatban a következőkre használhatók fel reményeink szerint a jövőben:

1. Sikerült néhány olyan meggyfajtát azonosítanunk, melyek magja kiemelkedő magolaj és γ -tokoferol forrás lehetne az ipar számára, ezek az 'M', az 'A' és az 'Éva' fajta.
2. Kimutattuk, hogy a fajták között jelentős különbség van az antioxidáns kapacitásban, és hogy az alkalmazott módszerek közül a meggy mérésére a kemilumineszcencián alapuló PCL (ACW, ACL) módszerek a leginkább alkalmasak.
3. Megállapítottuk, hogy a vizsgált magyarországi meggyfajták közül az 'Újfehértói fürtös' fajta a leggazdagabb a víz és a zsírdékony antioxidáns hatású vegyületekben (ACW értéke 2,2 $\mu\text{g}/\text{mg}$; ACL értéke 4,4 $\mu\text{g}/\text{mg}$), és kiemelkedően magas az antocianin tartalommal rendelkezik (0,15 $\mu\text{g}/\text{mg}$).
4. Módszert dolgoztunk ki a meggy antocianinokban gazdag kivonatának elkészítésére, mely extraktum az élelmiszer-, és a gyógyszeriper számára is felhasználható.
5. A kisállatkísérletünk tapasztalatai alapot adhatnak a jövőben további antocianin alapú vizsgálatokhoz az étrenddel kiváltott elhízási modellben.

8. ÖSSZEFOGLALÁS

Doktori munkám során a magyarországi meggyfajtákban lévő bioaktív komponensek vizsgálatával foglalkoztam. Ennek során meghatároztuk a meggyfajták magjának olajhozamát, valamint az olaj mennyiségét és minőségi összetételét, összehasonlítottuk az antioxidáns mérő módszerek hatékonyságát, eljárást dolgoztunk ki a kioldható és a nem kioldható antioxidánsok, illetve az antocianinok kinyerésére és in vivo kísérletben elemeztük az antocianinok élettani hatásait.

Megállapítottuk, hogy a magyarországi meggyfajták magjának olajhozamai jelentős különbséget mutatnak (10-15 %), és beazonosítottunk három fajtát ('M', 'A' és 'Éva'), melyek a mennyiségi és a minőségi paraméterek alapján kimagasló olaj és γ -tokferol források. Méréseinkkel igazoltuk, hogy összetételük alapján, a vizsgált meggyfajták közül az 'Újfehértói fürtös' a legértékesebb, mivel vízdékony és zsírdékony antioxidáns hatású vegyületekben ez a fajta volt a leggazdagabb. A mérési módszerek hatékonyságában is nagy eltéréseket tapasztaltunk, és a meggy meghatározására a kemilumineszcencián alapuló PCL (ACW, ACL) módszereket találtuk a leginkább alkalmasnak.

Kifejlesztettünk egy az ipar számára is alkalmazható, etanol alapú kioldási módszert a meggyben lévő kioldható antioxidánsok nagy hatékonyságú kinyerésére, melyet összehasonlítva az irodalmakban alkalmazott módszerrel nem találtunk szignifikáns antioxidáns kapacitásbeli különbséget. A kivonatokban antocianinokat, procianidineket, flavonoidokat és egyéb polifenolokat azonosítottunk. Kromatográfias rendszert fejlesztettünk UHPLC készüléken, mellyel nagy mennyiségű cianidin-3-O-glükozil-rutinozidot, cianidin-3-O-rutinozidot és cianidin-3-O-monoglükozidot azonosítottunk az 'Újfehértói fürtös' fajtában.

Az extrakció után visszamaradt rostban kötött formában lévő antioxidáns hatású vegyületeket, hidrolizáló módszerekkel (savas, lúgos és enzimes) nyertük ki, és az alkalmazott módszerek közül a savas és a lúgos kezeléseket találtuk hatékonyoknak.

A meggyből készült kivonatot tovább tisztítva eljárást dolgoztunk ki az antocianinok kivonására, majd kisállatkísérletet terveztünk az antocianinokban gazdag meggykivonat étrenddel kiváltott elhízásos modellen gyakorolt hatásának vizsgálatára.

A kísérlet során azt tapasztaltuk, hogy a krónikus orális antocianin-kezelés nem védte meg az állatokat az étrenddel kiváltott súlygyarapodástól, és megállapítottuk, hogy a magas zsírtartalmú étrend és a szacharózzal kiegészített csapvíz alkalmazásával (MEÉ) elő tudtuk idézni az éhomi hiperglikémiát, melyet a krónikus antocianinkezelés nem tudott jelentősen csökkenteni.

A vizsgált paraméterekben (testsúly, vízfogyasztás, glükóztolerancia, gyulladásgátló, és gyulladáscsökkentő adipokinek, a vér antioxidáns státusza, a plazma szuperoxid-dizmutáz (SOD) szintje) a MEÉ egerek szignifikáns különbségeket mutattak az egészséges kontrollokhöz képest. A meggykivonattal végzett krónikus kezelés csökkentette a leptin és az IL-6 szintjét, ami azt bizonyítja, hogy az alkalmazott antocianin mennyiség gyulladáscsökkentő hatású. Méréseinkkel bizonyítani tudtuk, hogy a zsírban és cukorban gazdag étrend rontja a plazma antioxidáns aktivitását, de a krónikus antocianinkezelés képes ellensúlyozni az elhízási modellünkben tapasztalt antioxidáns kapacitás csökkenést, és az egészséges kontrollokhöz képest enyhe, de mégis szignifikáns növekedést idézett elő.

9. SUMMARY

During my Ph.D., I dealt with the study of bioactive components in Hungarian sour cherry cultivars. We determined the oil yield and the quantity and quality composition of the seeds of the cherry cultivars, compared the efficiency of antioxidant measurement methods, developed a method for the extraction of soluble and insoluble antioxidants and anthocyanins, and analyzed the physiological effects of anthocyanins in an *in vivo* experiment.

We found that the oil yields of the seeds of the Hungarian sour cherry cultivars show a significant difference (10-15 %), and based on the quantitative and qualitative parameters, we identified three cultivars ('M', 'A' and 'Éva'), which are outstanding sources of oil and γ -tocopherol. Furthermore, we proved that the 'Újfehértói fűrtös' is the most valuable from the examined sour cherry cultivars, as this cultivar was the richest in water-soluble and fat-soluble antioxidant compounds. We also verified, that there are large differences in the efficiency of the measurement methods, and we found the PCL (ACW, ACL) methods, that based on chemiluminescence, to be the most suitable for the determination of sour cherries.

We have developed an ethanol-based extraction method for the high-efficiency extraction of soluble antioxidants from sour cherries, that is suitable industrial purposes. We compared this method with another, that used in the literature, and we found, there are not significant difference in antioxidant capacity. Anthocyanins, procyanidins, flavonoids and other polyphenols were identified in the extracts. We developed a chromatography system on a UHPLC, that identified large amounts of cyanidine-3-O-glucosyl rutinoside, cyanidine-3-O-rutinoside, and cyanidine-3-O-monoglycoside in the 'Újfehértói fűrtös' variety.

The residue remaining (after extraction) contain antioxidant compounds in bound form. These chemicals were recovered by hydrolysis methods (acidic, alkaline and enzymatic), and we found, that acidic and alkaline treatments were effective.

By further purifying the sour cherry extract, we developed a method for extracting anthocyanins, and then designed a pet experiment to investigate the effect of anthocyanin-rich sour cherry extract on a diet-induced obese model.

In the experiment, we found, that chronic oral anthocyanin treatment did not protect animals from diet-induced weight gain, and that the use of a high-fat diet and sucrose-supplemented tap water (MEÉ) could induce fasting hyperglycemia. The anthocyanin treatment could not significantly reduce the fasting hyperglycemia.

In the analysed parameters (body weight, water intake, glucose tolerance, anti-inflammatory and anti-inflammatory adipokines, blood antioxidant status, plasma superoxide

dismutation (SOD) levels), MEÉ mice showed significant differences compared to healthy controls. Chronic treatment with sour cherry extract reduced leptin and IL-6 levels, proving that the used amount of anthocyanin has an anti-inflammatory effect. With our measurements, we were able to demonstrate that a fat- and sugar-rich diet impairs plasma antioxidant activity, but chronic anthocyanin treatment can counteract the decrease in antioxidant capacity in our obesity model and produced a slight but significant increase compare with the healthy controls.

10. IRODALOM

- Abrankó L. (2018): Élelmi polifenolok: Egy sokszínű molekulacsoport. *Magyar kémikusok lapja*, 73 (11): 345-351.
- Aguirre V., Uchida T., Yenush L., Davis R., White M. F. (2000): The c-Jun NH₂-terminal kinase promotes insulin resistance during association with insulin receptor substrate-1 and phosphorylation of Ser307. *Journal of Biological Chemistry*, 275: 9047–9054.
- Allison M. B., Myers M. G. (2014): Jr. 20 years of leptin: Connecting leptin signaling to biological function. *Journal of Endocrinology*, 223: T25–T35.
- Amorati R., Menichetti S., Viglianisi C., Foti M. C. (2012): Proton–electron transfer pathways in the reactions of peroxy and dpph radicals with hydrogen-bonded phenols. *Chemical Communications*, 48: 11904–11906.
- Amorati R., Valgimigli L. (2015): Advantages and limitations of common testing methods for antioxidants. *Free Radical Biology and Medicine*, 49: 633–649.
- Andersen O. M., Jordheim M. (2010): Anthocyanins. In *Encyclopedia of Life Sciences*; MacMillan: New York.
- Andreasen M. F., Kroon P. A., Williamson G., Garcia-Conesa M. T. (2001): Esterase Activity Able to Hydrolyze Dietary Antioxidant Hydroxycinnamates Is Distributed along the Intestine of Mammals. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49: 5679–5684.
- Anokwuru C., Sigidi M., Boukandou M., Tshisikhawe P., Traore A., Potgieter N. (2018): Antioxidant Activity and Spectroscopic Characteristics of Extractable and Non-Extractable Phenolics from *Terminalia sericea* Burch. ex DC. *Molecules*, 23 (6): 1303.
- Antal M., Regöly-Mérei A. (2012): Az E-vitamin szerepe az egészségmegőrzésben. *Magyar Tudomány*, 7: 861-869.
- Antolovich M., Prenzler P. D., Patsalides E., McDonald S., Robards K. (2002): Methods for testing antioxidant activity. 127: 183-198.
- Antus S., Mátyus P. (2014): SZERVES KÉMIA III. Nemzedékek Tudása Tankönyvkiadó zrt. Budapest.
- Apak R., Gorinstein S., Böhm V., Schaich K. M., Özyürek M., Güçlüe K. (2013): Methods of measurement and evaluation of natural antioxidant capacity/activity (IUPAC Technical Report). *Pure and Applied Chemistry*, 85: 957-998.
- Apáti F. (2009): A magyar meggytermesztés költség- és jövedelemviszonyi. *Agrofórum*, 20 (28): 34-38.
- Arapitsas P., Sjober, P. J. R., Turner C. (2008): Characterisation of anthocyanins in red cabbage using high resolution liquid chromatography coupled with photodiode array detection and electrospray ionization-linear ion trap mass spectrometry. *Food Chemistry*, 109: 219–226.

- Aron P. M. (2007): Composition of Flavonoid Phenolic Polymers Isolated From Red Wine During Maceration and Significance of Flavan-3-Ols in Foods Pertaining to Biological Activity Oregon State University.
- Azzini E., Giacometti J., Russo G. L. (2017) Antiobesity effects of anthocyanins in preclinical and clinical studies. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2740364.
- Bak I., Lekli I., Juhasz B., Nagy N., Varga E., Varadi J., Gesztelyi R., Szabo G., Szendrei L., Bacskay I., Vecsernyes M., Antal M., Fesus I., Boucher F., deLeiris J., Tosaki A. (2006): Cardioprotective mechanisms of *Prunus cerasus* (sourcherry) seed extract against ischemia-reperfusion-induced damage in isolated rat hearts. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, 291: H1329–H1336.
- Bak I., Lekli I., Juhasz B., Varga E., Varga B., Gesztelyi R., Szendrei L., Tosaki A. (2010): Isolation and analysis of bioactive constituents of sour cherry (*Prunus cerasus*) seed kernel: an emerging functional food. *Journal of Medicinal Food*, 13: 905–910.
- Benzie I. F. and Strain J. J. (1999): Ferric reducing antioxidant power assay; direct measure of total antioxidant activity of biological fluids and modified version for simultaneous measurement of total antioxidant power and ascorbic acid concentration. *Methods in Enzymology*, 299: 15-27.
- Benzie I. F., Strain J. J. (1996): The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay. *Analytical Biochemistry*, 239: 70-76.
- Bjelakovic G., Nikolova D., Gluud L. L., Simonetti R. G., Gluud, C. (2007): Mortality in randomized trials of antioxidant supplements for primary and secondary prevention: systematic review and meta-analysis. *Journal of the American Medical Association*, 297: 8. 842–857. p.
- Blázovics A. (2009): A szabad gyököktől a táplálkozás tudományáig. *Orvosi Hetilap*, 150 (2): 53–63.
- Boligon A. A., Machado M. M., Athayde M. L. (2014): Technical evaluation of antioxidant activity. *Journal of Medical Chemistry*, 4: 517-522.
- Bomser J., Madhavi D. L., Singletary K., Smith M. A. (1996): Invitro anticancer activity of fruit extracts from *Vaccinium* species. *Planta Medica*, 62 (3): 212–216.
- Bonerz D., Würth K., Dietrich H., Will F. (2007): Analytical characterization and the impact of ageing on anthocyanin composition and degradation in juices from five sour cherry cultivars. *European Food Research and Technology*, 224: 355–364.
- Bonn D. (2001): Evidence gathers for gamma-tocopherol in prostate cancer prevention. *The Lancet Oncology*, 2 (2): 66.
- Bors W., Heller W., Michel C., Saran M. (1990): Flavonoids as antioxidants: determination of radical-scavenging efficiencies. *Methods in Enzymology*, 186: 343–355.
- Bouayed J., Bohn T. (2010): Exogenous antioxidants-Double-edged swords in cellular redox state. Health beneficial effects at physiologic doses versus deleterious effects at high doses. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 3 (4): 228-237.

- Brand-Williams W., Cuvelier M. E., Berset C. (1995): Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Journal of Food Science and Technology*, 28: 25–30.
- Campbell I. W. (2005): The clinical significance of PPAR gamma agonism. *Current Molecular Medicine*, 5: 349–363.
- Campbell S., Stone W., Whaley S., Krishnan K. (2003): Development of gamma-tocopherol as a colorectal cancer chemopreventive agent. *Critical Reviews in Oncology/Hematology*, 47: 249–259.
- Cao G., Prior R. L. (1999): Measurement of oxygen radical absorbance capacity in biological samples. *Methods Enzymology*, 299: 50–62.
- Casanova-Martí À., Serrano J., Blay M. T., Terra X., Ardévol A., Pinent M. (2017): Acute selective bioactivity of grape seed proanthocyanidins on enteroendocrine secretions in the gastrointestinal tract. *Food and Nutrition Research*, 61.
- Casanova-Martí À., Serrano J., Portune K.J., Sanz Y., Blay M.T., Terra X., Ardévol A., Pinent M. (2018): Grape seed proanthocyanidins influence gut microbiota and enteroendocrine secretions in female rats. *Food Function*, 9: 1672–7682.
- Cassidy A., Mukamal K. J., Liu L., Franz M., Eliassen A. H., Rimm E. B. (2013) High Anthocyanin Intake Is Associated With a Reduced Risk of Myocardial Infarction in Young and Middle-Aged Women. *Circulation*, 127(2): 188-196.
- Cassidy A., Rogers G., Peterson J. J., Dwyer J. T., Lin H., Jacques P.F. (2015): Higher dietary anthocyanin and flavonol intakes are associated with anti-inflammatory effects in a population of US adults. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 102(1): 172-181.
- Cavalcanti R. N., Santos D. T., Meirele, M. A. A. (2011): Non-thermal Stabilization Mechanisms of Anthocyanins in Model and Food Systems—An Overview. *Food Research International*, 44 (2):, 409–509.
- Cenkowski S., Yakimishen R., Przybylski R., Muir W. (2006): Quality of extracted sea buckthorn seed and pulp oil. *Canadian Agricultural Engineering*, 48: 3.9–3.16.
- Chandra S., Sah K., Bagewadi A., Keluskar V., Shetty A., Ammanagi R., Naik Z. (2012): Additive and synergistic effect of phytochemicals in prevention of oral cancer. *European Journal of General Dentistry*, 1 (3): 142-147.
- Collaboration N. R. F. (2016): Worldwide trends in diabetes since 1980: A pooled analysis of 751 population-based studies with 4.4 million participants. *Lancet*, 387, 1513–1530.
- Considine R. V., Sinha M. K., Heiman M. L., Kriauciunas A., Stephens T. W., Nyce M. R., Ohannesian J. P., Marco C. C., McKee L. J., Bauer T. L., Caro J.F. (1996): Serum immunoreactive-leptin concentrations in normal-weight and obese humans. *The New England Journal of Medicine*, 334: 292–295.
- Cos P., Bruyne T. D., Hermans N., Apers S., Berghe D. V., Vlietinck A. (2004): Proanthocyanidins in health care: current and new trends. *Current Medicinal Chemistry*, 11: 1345-1359.

- Cosme P., Rodríguez A. B., Espino J., Garrido M. (2020): Plant Phenolics: Bioavailability as a Key Determinant of Their Potential Health-Promoting Applications. *Antioxidants*, 9(12): 1263.
- Crozier A., Jaganath I. B., Clifford M. N. (2009): Dietary phenolics: chemistry, bioavailability and effects on health. *Natural Product Reports*, 26 (8): 1001-1043.
- Curtin C., Zhang W., Franco C. (2003): Manipulating anthocyanin composition in *Vitis vinifera* suspension cultures by elicitation with jasmonic acid and light irradiation. *Biotechnology Letters*, 25 (14): 1131–1135.
- Cuyckens, F., Claeys, M., J. (2005): Determination of the glycosylation site in flavonoid mono-O-glycosides by collision-induced dissociation of electrospray-generated deprotonated and sodiated molecules. *Journal of Mass Spectrometry*, 40: 364–372.
- Czech M. P. (2017): Insulin action and resistance in obesity and type 2 diabetes. *Nature Medicine*, 23: 804–814.
- Dantzer R., O'Connor J. C., Freund G. G., Johnson R. W., Kelley K. W. (2008): From inflammation to sickness and depression: when the immune system subjugates the brain. *Nature Reviews Neuroscience*, 9(1): 46–56.
- Das N. P., Pereira T. A. (1990): Effects of flavonoids on thermal autoxidation of palm oil; structure-activity relationship. *Journal of American Oil Chemists Society*, 67: 255-258.
- Das U.N. (2001): Is obesity an inflammatory condition. *Nutrition*, 17: 953–966.
- De Rijke E., Out P., Niessen W. M. A., Ariese F., Gooijer C., Brinkman U. A. Th. (2006): Analytical separation and detection methods for flavonoids. *Journal of Chromatography A*, 1112: 31-63.
- DeFuria J., Bennett G., Strissel K. J., Perfield J. W. 2nd, Milbury P. E., Greenberg A. S., Obin M. S. (2009): Dietary blueberry attenuates whole-body insulin resistance in high fat-fed mice by reducing adipocyte death and its inflammatory sequelae. *Journal of Nutrition*, 139: 1510–1516.
- Delgado-Vargas F., Jiménez-Aparicio A., Paredes-Lopez O. (2000): Natural pigments: carotenoids, anthocyanins and betalains—characteristics, biosynthesis, processing and stability. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 40: 173–289.
- Dündar Y., Aslan R. (2000): Antioxidative stress. *Eastern Journal of Medicine*, 5: 45-47. p.
- Dziedzic S. Z., Hudson B. J. F. (1983): Hydroxyisoflavons as antioxidants for edible oils. *Food Chemistry*, 11: 161-166.
- Eaton S. B., Eaton S. B. (2017): Physical inactivity, obesity, and type 2 diabetes: an evolutionary perspective. *Research Quarterly for Exercise Sport*, 88: 1–8.
- Ellulu M.S., Khaza'ai H., Rahmat A., Patimah I., Abed Y. (2016): Obesity can predict and promote systemic inflammation in healthy adults. *International Journal of Cardiology*, 215: 318–324.
- Esposito K., Nappo F., Marfella R., Giugliano G., Giugliano F., Ciotola M., Quagliaro L., Ceriello A., Giugliano D. (2002): Inflammatory cytokine concentrations are acutely increased by hyperglycemia in humans: role of oxidative stress. *Circulation*, 106(16): 2067–2072.

- Evelson P., Travacio M., Repetto M., Escobar J., Llesuy S., Lissi E. A. (2001): Evaluation of total reactive antioxidant potential (TRAP) of tissue homogenates and their cytosols. *Archives of Biochemistry Biophysics*, 388: 261–266.
- Farrell N. J., Norris G. H., Ryan J., Porter C. M., Jiang C., Blesso C. N. (2015): Black elderberry extract attenuates inflammation and metabolic dysfunction in diet-induced obese mice. *British Journal of Nutrition*, 114: 1123–1131.
- Ferreres F., Gomes D., Valentão P., Gonçalves R., Pio R., Chagas E. A., Seabra R. M., Andrade P. B. (2009): Improved loquat (*Eriobotrya japonica* Lindl.) cultivars: variation of phenolics and antioxidative potential. *Food Chemistry*, 114 (3): 1019-1027.
- Ferretti G., Bacchetti T., Belleggia A., Neri D. (2010): Cherry Antioxidants: From Farm to Table. *Molecules*, 15 (10): 6993–7005.
- Fine A. M. (2000): Oligomeric proanthocyanidin complexes: history, structure, and phytopharmaceutical applications. *Alternative Medicine Review*, 5: 144-151.
- Frankel E. N., Meyer A. S. (2000): The problems of using one-dimensional methods to evaluate multifunctional food and biological antioxidants. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80: 1925-1941.
- Frederich R.C., Hamann A., Anderson S., Lo'ilmann B., Lowell B. B., Flier J. S. (1995): Leptin levels reflect body lipid content in mice: evidence for diet-induced resistance to leptin action. *Nature Medicine*, 1:1311–1314.
- Friedman J. M. (2004): Modern science versus the stigma of obesity. *Nature Medicine*, 10: 563–569.
- Fromm M., Bayha S., Kammerer D. R., Carle R. (2012): Identification and quantitation of carotenoids and tocopherols in seed oils recovered from different rosaceae species. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60: 10733–10742.
- Funahashi T. (2004): Adiponectin as a Biomarker of the Metabolic Syndrome. *Circulation Journal*, 68: 975–981.
- Furukawa S., Fujita T., Shimabukuro M., Iwaki M., Yamada Y., Nakajima Y., Nakayama O., Makishima M., Matsuda M., Shimomura I. (2004): Increased oxidative stress in obesity and its impact on metabolic syndrome. *Journal of Clinical Investigation*, 114: 1752–1761.
- Gaborit B., Abdesselam I., Kober F., Jacquier A., Ronsin O., Emungania O., Lesavre N., Alessi M.-C., Martin J. C., Bernard M., Dutour A. (2015): Ectopic fat storage in the pancreas using 1H-MRS: Importance of diabetic status and modulation with bariatric surgery-induced weight loss. *International Journal of Obesity*, 39: 480–487.
- Gasztonyi K. (1992): Élelmiszer technológiai adalékok. In: Élelmiszer-kémia 1. Mezőgazda Kiadó, Budapest.
- Geier D. A., Kern J. K., Garver C. R., Adams J. B., Audhya T., Nataf R., Geier M. R. (2009): Biomarkers of environmental toxicity and susceptibility in autism. *Journal of the Neurological Sciences*, 280: 101–108.

- Gheju M., Balcu I., Jurchescu P. (2016): Removal of hexavalent chromium from aqueous solutions by use of chemically modified sour cherry stones. *Desalination and Water Treatment*, 57: 10776–10789.
- Giles G. I., Jacob C. (2002): Reactive sulfur species: an emerging concept in oxidative stress. *Biological Chemistry*, 383: 375–388.
- Gómez-García R., Martínez-Ávila G. C. G., Aguilar C. N. (2012): Enzyme-assisted extraction of antioxidative phenolics from grape (*Vitis vinifera* L.) residues. *3 Biotech*, 2: 297–300.
- Gonzales-Manzano S., Santos-Buelga C., Perez-Alonso J. J., Rivas-Gonzalo J. C., Escribano-Bailón M. T. (2006): Characterization of the mean degree of polymerization of proanthocyanidins in red wines using Liquid Chromatography-Mass Spectrometry (LC-MS). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 54: 4326–4332.
- Górnaś P., Rudzińska M., Raczyk M., Mišina I., Soliven A., Segliņa D. (2016): Composition of bioactive compounds in kernel oils recovered from sour cherry (*Prunus cerasus* L.) byproducts: impact of the cultivar on potential applications. *Industrial Crops and Products*, 82: 44–50.
- Górnaś P., Soliven A., Seglin A. D. (2015): Seed oils recovered from industrial fruitby-products are a rich source of tocopherols and tocotrienols: Rapidseparation of $\alpha/\beta/\gamma/\delta$ homologues by RP-HPLC/FLD. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 117: 773–777.
- Gu L. W., Kelm M., Hammerstone J. F., Beecher G., Cunningham D., Vannozzi A., Prior R. (2002): Fractionation of polymeric procyanidins from lowbush blueberry and quantification of procyanidins in selected foods with an optimized normal-phase HPLC-MS fluorescent detection method. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50: 4852–4860.
- Guarner V., Rubio-Ruiz M. E. (2015): Low-grade systemic inflammation connects aging, metabolic syndrome and cardiovascular disease. *Interdisciplinary Topisc Gerontology*, 40: 99–106.
- Guo H., Ling W., Wang Q., Liu C., Hu Y., Xia M. (2008): Cyanidin 3-glucoside protects 3T3-L1 adipocytes against H₂O₂- or TNF- α -induced insulin resistance by inhibiting c-Jun NH₂-terminal kinase activation. *Biochemical pharmacology*, 75: 1393–1401.
- Guo H., Xia M. Zou T., Ling W., Zhong R., Zhang W. (2012): Cyanidin 3-glucoside attenuates obesity-associated insulin resistance and hepatic steatosis in high-fat diet-fed and db/db mice via the transcription factor FoxO1. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 23: 349–360.
- Guo L. (2017): Enzymatic hydrolysis of lotus rhizome starch using alpha-amylase and glucoamylase. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56:372–380.
- Guo L. (2017): Enzymatic hydrolysis of lotus rhizome starch using alpha-amylase and glucoamylase. *Journal of Food and Nutrition Reserch*, 56: 372–380.
- Halaas J. L., Boozer C., Blair-West J., Fidahusein N., Denton D. A., Friedman, J. M. (1997). Physiological response to long-term peripheral and central leptin infusion in lean and obese mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 94: 8878–8883.

- Hall J. E., do Carmo J. M., da Silva, A. A., Wang Z., Hall M. E. (2015): Obesity-induced hypertension: Interaction of neurohumoral and renal mechanisms. *Circulation Research*, 116: 991–1006.
- Hamilton B. S., Paglia D., Kwan A. Y., Deitel M. (1995): Increased obese mRNA expression in omental fat cells from massively obese humans. *Nature Medicine*, 1: 953–956.
- Han J. H., Lee H. J., Cho M.R, Chang N., Kim Y, Oh S.Y., Kang M.H. (2014): Total antioxidant capacity of the Korean diet. *Nutrition Research and Practice*, 8: 183–191.
- Hartzfeld P. W., Forkner R., Hunter D. M. Hagerman A. E. (2002): Determination of hydrolysable tannins (gallotannins and ellagitannins) after reaction with potassium iodate. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50: 1785–1790.
- Hassanien M. M. M., Abdel-Razek A. G., Rudzinska M., Siger A., Ratusz K., Przybylski R. (2014): Phytochemical contents and oxidative stability of oils from non-traditional sources. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 116: 1563–1571.
- He J., Giusti M. (2010): Anthocyanins: Natural Colorants with Health-Promoting Properties. *Annual Review of Food Science and Technology*, 1 (1): 163–187.
- Heldt, H.-W. (1997): *Plant Biochemistry and Molecular Biology*. Oxford University Press, Oxford.
- Hirano T. (2010): Interleukin 6 in autoimmune and inflammatory diseases: A personal memoir. *Proceedings of the Japan Academy, Series B*, 86: 717–730.
- Homoki J. R., Nemes A., Fazekas E., Gyémánt Gy., Balogh P., Gál F., Al-Asri J., Mortier J., Wolber G., Babinszky L., Remenyik R. (2016): Anthocyanin composition, antioxidant efficiency, and α -amylase inhibitor activity of different Hungarian sour cherry varieties (*Prunus cerasus* L.). *Food Chemistry*, 194: 222–229.
- Hopkins M., Blundell J. E. (2016): Energy balance, body composition, sedentariness and appetite regulation: Pathways to obesity. *Clinical Science*, 130: 1615–1628.
- Horbańczuk O. K., Kurek M. A., Atanasov A. G., Brnčić M., Brnčić S. R. (2019) The Effect of Natural Antioxidants on Quality and Shelf Life of Beef and Beef Products. *Food Technology and Biotechnology*, 57 (4): 439–447.
- Horváth C. (2010): Lehetőségek és valóság. *Kertészet és Szőlészet*, 59 (33): 16-17.
- Hrotkó K. (2003): *Cseresznye és meggy*. Mezőgazda Kiadó, Budapest.
- Huang D., Ou B., Prior R. L. (2005): The chemistry behind antioxidants capacity assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53: 1841-1856.
- Huth C., Pigeon É., Riou M-È., et al. (2016): Fitness, adiposopathy, and adiposity are independent predictors of insulin sensitivity in middle-aged men without diabetes. *Journal of Physiology Biochemistry*, 72:435–444.
- Ignat I., Volf I., Popa V. I. (2011): A Critical Review of Methods of Characterization of Polyphenol Compounds in Fruit and Vegetables. *Food Chemistry*, 126 (4): 1821–1835.

- Jakobek L., Seruga M., Seruga B., Novak I. (2009) Medvicovic-Kosanovic, M. Phenolic compound composition and antioxidant activity of fruits of *Rubus* and *Prunus* species from Croatia. *International Journal of Food Science and Technology*, 44: 860–868.
- Jayaprakasam B., Shaiju K., Vareed L., Olson K., Nair M. G. (2005): Insulin Secretion by Bioactive Anthocyanins and Anthocyanidins Present in Fruits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53: 28–31.
- Jin Z.-L., Yan W., Qu M., Ge C.-Z., Chen X., Zhang S.-F. (2018): Cinchonine activates endoplasmic reticulum stress-induced apoptosis in human liver cancer cells. *Experimental and Therapeutic Medicine*, 15(6): 5046-5050.
- Kachlicki P., Einhorn J., Muth D., Kerhoas L., Stobiecki M., (2008): Evaluation of glycosylation and malonylation patterns in flavonoid glycosides during LC/MS/MS metabolite profiling. *Journal of Mass Spectrometry*, 43: 572–586.
- Kamei H., Kojima S., Hasegawa M., Umeda T., Ter-abe K., Yukawa T. (1993): Suppressive effect of flavonoid ex-tracts from flower petals on cultured human malignant cells. *Journal of Clinical and Experimental Medicine*, 164: 829–830.
- Kandra L. (2006): Biokémiai gyakorlatok.
- Kang S. Y., Seeram N. P., Nair M.G., Bourquin L. D. (2003): Tart cherry anthocyanins inhibit tumor development in *Apc Min* mice and reduce proliferation of human colon cancer cells. *Cancer Letters*, 194 (1): 13–19.
- Karamali Khanbabaee K., van Ree T. (2001) Tannins: Classification and definition. *Natural Product Reports*, 18: 461-469.
- Kim D.-O., Heo H. J., Kim Y. J., Yang H. S., Lee C. Y. (2005) Sweet and sour cherry phenolics and their protective effects on neuronal cells. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53: 9921–9927.
- Kirschbaum B. (2001): Total urine antioxidant capacity. *Clinica Chimica Acta*, 305: 167–173.
- Knaup B., Oehme A., Valotis A., Schreier P. (2009) Anthocyanins as lipoxygenase inhibitors. *Molecular Nutrition and Food Research*, 53: 617 – 624.
- Korlesky N. M., Stolp L. J., Kodali D. R., Goldschmidt R., Byrdwell W. C. (2016): Extraction and characterization of montmorency sour cherry (*Prunus cerasus* L.) pit oil. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 93: 995–1005.
- Kristl J., Slekovec M., Tojnko S., Unuk T. (2011): Extractable antioxidants and non-extractable phenolics in the total antioxidant activity of selected plum cultivars (*Prunus domestica* L.): Evolution during on-tree ripening. *Food Chemistry*, 125: 29–34.
- KSH (2014): Mezőgazdasági statisztikai évkönyv. Xerox Magyarország Kft., Budapest.
- Kusminski C. M., Bickel P. E., Scherer P. E. (2016): Targeting adipose tissue in the treatment of obesity-associated diabetes. *Nature Reviews Drug Discovery*, 15: 639–660.

- Ky I., Le Floch A., ZenG., Pechamat L. L., Jourdes M., Teissedre P. L., (2016): Tannins, in: B. Caballero, P.M. Finglas, F. Toldrá (Eds.), *Encyclopedia of Food and Health*, Academic Press, Oxford.
- Langseth L. (1995): *Oxidants, antioxidants and disease prevention*. ILSI Europe, Belgium.
- Lee J., Durst R. W., Wrolstad, R. E. (2005): Determination of total monomeric anthocyanin pigment content of fruit juices, beverages, natural colorants, and wines by the pH differential method: Collaborative Study. *Journal of AOAC International*, 88: 1269–1278.
- Lee S. Y., Rhee Y. H., Jeong S. J., Lee H. J., Lee H. J., Jung M. H., Kim S. H., Lee E. O., Ahn K. S., Ahn K. S., Kim S. H. (2011): Hydrocinchonine, cinchonine, and quinidine potentiate paclitaxel-induced cytotoxicity and apoptosis via multidrug resistance reversal in MES-SA/DX5 uterine sarcoma cells. *Environmental Toxicology*, 26:424–431.
- Leopoldini M., Russo N., Toscano N. M. (2011): The Molecular Basis of Working Mechanism of Natural Polyphenol Antioxidants. *Food Chemistry*. 125 (2): 288–306.
- Levaj B., Dragović-Uzelac V., Delonga K., Kovačević Ganić K., Banović M., Kovačević D. B. (2010): Polyphenols and Volatiles in Fruits of Two Sour Cherry Cultivars, Some Berry Fruits and Their Jams. *Food Technology and Biotechnology*, 48 (4): 538–547.
- Li C. M., Leverence R., Trombley J. D., Xu S. F., Yang J., Tian Y., Reed J. D., Hagerman A. E. (2010): High molecular weight persimmon (*Diospyros kaki* L.) proanthocyanidin: a highly galloylated, Alinked tannin with an unusual flavonol terminal unit, myricetin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58: 9033–9042.
- Lin L.-Z., Harnly J. M. (2007): A screening method for the identification of glycosylated flavonoids and other phenolic compounds using a standard analytical approach for all plant materials. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55: 1084-1096.
- Lindenmeier M, Burkon A, Somoza V. (2007): A novel method to measure both the reductive and the radical scavenging activity in a linoleic acid model system. *Molecular Nutrition and Food Research*, 51: 1441–1446.
- Lissi E, Salim-Hanna M, Pascual C, del Castillo M. D., (1995): Evaluation of total antioxidant potential (TRAP) and total antioxidant reactivity from luminol-enhanced chemiluminescence measurements. *Free Radical Biology and Medicine*, 18: 153–158.
- Litwinienko G., Ingold K. U. (2003): Abnormal solvent effects on hydrogen atom abstractions. 1. The reactions of phenols with 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (dpph•) in alcohols. *The Journal of Organic Chemistry*, 68: 3433-3438.
- Liu R. H. (2003): Health benefits of fruit and vegetables are from additive and synergistic combinations of phytochemicals. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 78(3): 517S–520S.
- Liu R. H., Finley J. (2005): Potential cell culture models for antioxidant research. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53: 4311–4.

- Longo M., Zatterale F., Naderi J., Parrillo L., Formisano P., Raciti G. A., Beguinot F., Miele C. (2019): Adipose Tissue Dysfunction as Determinant of Obesity-Associated Metabolic Complications. *International Journal of Molecular Science*, 20(9): 2358.
- Lotito S. B., Frei B. (2006): Consumption of flavonoid-rich foods and increased plasma antioxidant capacity in humans: cause, consequence, or epiphenomenon? *Free Radical Biology and Medicine*, 41: 1727–1746.
- Lugasi A. (2001): Az antioxidáns hatású anyagok jelentősége. *Új Diéta*, 1: 16-18.
- Lü J.-M., Lin P. H., Yao Q., Chen C. (2010): Chemical and molecular mechanisms of antioxidants: experimental approaches and model systems. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 14 (4): 840-860.
- Lü J.-M., Yao Q., Chen C. (2009): Ginseng compounds: an update on their molecular mechanisms and medical applications. *Current Vascular Pharmacology*, 7: 293–302.
- MacLean P. S., Blundell J.E., Mennella J. A., Batterham R. L. (2017): Biological control of appetite: A daunting complexity. *Obesity*, 25: S8–S16.
- Magalhães L. M., Segundo M.A., Reis S., Lima J. L. F. C. (2008): Methodological aspects about in vitro evaluation of antioxidant properties. *Analytica Chimica Acta*, 613: 1-19.
- Magkos F., Fraterrigo G., Yoshino J., Luecking C., Kirbach K., Kelly S. C., de Las Fuentes L., He S., Okunade A. L., Patterson B. W., Klein S. (2016): Effects of Moderate and Subsequent Progressive Weight Loss on Metabolic Function and Adipose Tissue Biology in Humans with Obesity. *Cell Metabolism*, 23: 591–601.
- Manach C., Williamson G., Morand C., Scalbert A., Rémésy C. (2005): Bioavailability and bioefficacy of polyphenols in humans. I. Review of 97 bioavailability studies. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 81: 230S–42S.
- Mandl J. (2004): Biotranszformáció – méregtelenítés. [In: Ádám V. (szerk.) orvosi Biokémia.] Medicina Könyvkiadó, Budapest.
- Markham K.R., Ryan K.G., Bloor S.J., Mitchell K.A. (1998A): An Increase in the Luteolin: Apigenin Ratio in *Marchantia Polymorpha* on UV-B Enhancement. *Phytochemistry*, 48: 791-794.
- Marsland A. L., McCaffery J. M., Muldoon M. F., Manuck S. B. (2010): Systemic inflammation and the metabolic syndrome among middle-aged community volunteers. *Metabolism: Clinical and Experimental*, 59: 1801–1808.
- Miller N. J., Rice-Evans C. A., Davies M. J., Gopinathan V., Milner A. (1993): A novel method for measuring antioxidant capacity and its application to monitoring the antioxidant status in premature neonates. *Clinical Science*, 84, 407–412.
- Misra A., Khurana L. (2008): Obesity and the metabolic syndrome in developing countries. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 93:9–30.
- Montoro P., Tuberoso C.I., Piacente S. Perrone A., De Feo V., Cabras P., Pizza C. (2006): Stability and antioxidant activity of polyphenols in extracts of *Myrtus communis* L. berries used for the

- preparation of myrtle liqueur. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 41: 1614-1619.
- Morris R. (2015): Spectrophotometry. *Current Protocols Essential Laboratory Techniques*, 11(1).
- Mulabagal V., Van Nocker S., Dewitt D. L, Nair M. G. (2007): Cultivars of Apple Fruits That Are Not Marketed with Potential for Anthocyanin Production. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55: 8165–8169.
- Munoz-Espada A. C., Watkins B. A. (2006): Cyanidin attenuates PGE2 production and cyclooxygenase-2 expression in LNCaP human prostate cancer cells. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 17: 589–596.
- Nacz M., Shahidi F. (2004): Extraction and analysis of phenolics in food. *Journal of Chromatography A*, 1054 (1-2): 95-111.
- Nair A. B.; Jacob S. (2016): A simple practice guide for dose conversion between animals and human. *Journal of Basic and Clinical Pharmacy*, 7: 27–31.
- Nehlin J. O., Mogensen J. P., Petterson I., Jeppesen L., Fleckner J., Wulff E. M., Sauerberg P. (2006): Selective PP AR agonists for the treatment of type 2 diabetes. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1067: 448–453.
- Nizamutdinova I. T., Jin Y. C., Chung J. I., Shin S.C., Lee S. J., Seo H. G., Lee J. H., Chang K. C., Kim H. J. (2009): The anti-diabetic effect of anthocyanins in streptozotocin-induced diabetic rats through glucose transporter 4 regulation and prevention of insulin resistance and pancreatic apoptosis. *Molecular Nutrition and Food Research*, 53(11): 1419-1429.
- Nunn A. V., Guy G. W., Brodie J. S., Bell J. D. (2010): Inflammatory modulation of exercise salience: using hormesis to return to a healthy lifestyle. *Nutrition and Metabolism (London)*, 7: 87.
- Olden E.J.; Nybom N. (1968): On the origin of the *Prunus cerasus* L. *Hereditas*, 59: 327–345.
- Olshansky S. J., Passaro D. J., Hershow R. C., Layden J., Carnes B. A., Brody J., Hayflick L., Butler R. N., Allison D. B., Ludwig D. S. (2005): A potential decline in life expectancy in the United States in the 21st century. *The New England Journal of Medicine*, 352: 1138–1145.
- Olsson L.C., Veit M., Weissenböck G., Bornman J.F. (1998): Differential Flavonoid Response to Enhanced UV-B Radiation in *Brassica napus*. *Phytochemistry*, 49: 1021-1028.
- Panchatcharam M., Miriyala S., Gayathri V. S., Suguna L. (2006): Curcumin improves wound healing by modulating collagen and decreasing reactive oxygen species. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 290: 87–96.
- Pannala A. S., Chan T. S., O'Brien P. J., Rice-Evans C. A. (2001): Flavonoid B-ring chemistry and antioxidant activity: Fast reaction kinetics. *Biochemistry Biophysics Research Communications*, 282: 1161–1168.
- Papp N., Szilvássy B., Abrankó L., Szabó T., Pfeiffer P., Szabó Z., Nyéki J., Ercisli S., Stefanovits-Bányai É., Hegedűs A. (2010): Main quality attributes and antioxidants in Hungarian sour

- cherries: identification of genotypes with enhanced functional properties. *International Journal of Food Science & Technology*, 45 (2): 395-402.
- Papp N., Szilvássy B., Szabó Z., Nyéki J., Stefanovits-Bányai É., Hegedűs A. (2008): Antioxidant capacity, total phenolics and mineral element contents in fruits of Hungarian sour cherry cultivars. *International Journal of Horticultural Science*, 14 (1-2): 59-64.
- Paredes-López O., Cervantes-Ceja M. L., Vigna-Pérez M., Hernández-Pérez T. (2010): Berries: Improving Human Health and Healthy Aging, and Promoting Quality Life A Review. *Plant Foods for Human Nutrition*, 65: 299–308.
- Pedicino D., Giglio A., Galiffa V., Trotta F., Liuzzo G. (2012): Type 2 diabetes, immunity and cardiovascular risk: a complex relationship, in: Pathophysiology and complications of diabetes mellitus, IntechOpen, London.
- Pérez-Jiménez J., Arranz S., Tabernero M., Díaz- Rubio M. E., Serrano J., Goñi I., Saura-Calixto F. (2008): Updated methodology to determine antioxidant capacity in plant foods, oils and beverages: Extraction, measurement and expression of results. *Food Research International*, 41:274–285.
- Pérez-Jiménez J., Díaz-Rubio M.E., Saura-Calixto F. (2013): Non-extractable polyphenols, a major dietary antioxidant: Occurrence, metabolic fate and health effects. *Nutrition Reserch Reviews*, 26: 118–129.
- Perez-Jimenez J., Saura-Calixto F. (2008): Anti-oxidant capacity of dietary polyphenols determined by ABTS assay: a kinetic expression of the results. *International Journal of Food Science and Technology*, 48: 185-191.
- Pérez-Jiménez J., Saura-Calixto F. (2015): Macromolecular antioxidants or non-extractable polyphenols in fruit and vegetables: Intake in four European countries. *Food Reserch International*, 74: 315–323.
- Pham-Huy L. A., He H., Pham-Huy C. (2008): Free Radicals, Antioxidants in Disease and Health. *International journal of Biomedical Science*, 4 (2): 89-96.
- Pitija K., Nakornriab M., Sriseadka T., Vanavichit A., Wongpornchai S. (2013): Anthocyanin content and antioxidant capacity in bran extracts of some Thai black rice varieties. *International Journal of Food Science and Technology*, 48: 300–308.
- Plata N., Konczak-Islam I., Jayram S., McClelland K., Woolford T., Franks P. (2003): Effect of methyl jasmonate and p-coumaric acid on anthocyanin composition in a sweet potato cell suspension culture. *Biochemical Engineering Journal*, 14 (3):171–177.
- Popov I. N., Lewin G. (1996): Photochemiluminescent detection of antiradical activity; IV: Testing of lipid-soluble antioxidants. *Journal of Biochemical and Biophysical Methods*, 31: 1–8.
- Popov I. N., Lewin G. (1999): Antioxidative homeostasis: Characterization by means of chemiluminescent technique. *Methods in Enzymology*, 300: 437–456.
- Popov I.N., Lewin G. (1994): Photochemiluminescent detection of antiradical activity. 2. Testing nonenzymic water-soluble antioxidants. *Free Radical Biology and Medicine*, 17, 267–271.

- Porter L., Hrstich L., Chan B. (1985): The conversion of procyanidins and prodelphinidins to cyaniding and delphinidin. *Phytochemistry*, 25: 223–230.
- Prakash A. (2001): Antioxidant activity. *Medical Laboratory Analytical Progress*, 19: 1–6.
- Prasain J. K., Wang C.-C., Barnes S. (2004): Mass spectrometric methods for the determination of flavonoids in biological samples. *Free Radical Biology and Medicine*, 37: 1324–1350.
- Prigent S. V., Voragen A. G., Koningsveld G. A. V., Baron A. Renard C. M. G. C., Gruppen H. (2009): Interactions between globular proteins and procyanidins of different degrees of polymerization. *Journal of Dairy Science*, 92: 5843–5853.
- Prior R. L., Cao G. (2000): Analysis of botanicals and dietary supplements for antioxidant capacity; a review. *Journal of AOAC International*, 83: 950 – 955.
- Prior R. L., Fan E., Ji H., Howell A., Nio C., Payne M. J., Reed J. (2010A): Multi-laboratory validation of a standard method for quantifying proanthocyanidins in cranberry powders. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 90: 1473–1478.
- Prior R. L., Wilkes S. E., Rogers T. R., Khanal R. C., Wu X., Howard L. R. (2010B): Purified blueberry anthocyanins and blueberry juice alter development of obesity in mice fed an obesogenic high-fat diet. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58: 3970–3976.
- Rabak F. (1932): Cherry kernel oil - Production and utilization. *Oil and Soap*, 9: 210–213.
- Ramosromero S., Hereu M., Molinartoribio E., Almajano M. P., Méndez L., Medina I., Taltavull N., Romeu M., Nogués M. R., Torres J. L. (2017): Effects of the combination of ω -3 PUFAs and proanthocyanidins on the gut microbiota of healthy rats. *Food Research International*, 97: 364–371.
- Rauf A., Imran M., Abu-Izneid T., Iahtisham-Ul-Haq, Patel S., Pan X., Naz S., Silva A. S., Saeed F., Suleria H. A. R. (2019): Proanthocyanidins: A comprehensive review. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 116: 1089993.
- Reed J., McDowell R. E., Van Soest P. J., Horvath P. R. J. (1982): Condensed tannins: A factor limiting the use of cassava forage. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 33: 213–220.
- Reilly S. M., Saltiel A. R. (2017): Adapting to obesity with adipose tissue inflammation. *Nature Reviews Endocrinology*, 13: 633–643.
- Reiter E., Jiang Q., Cristen S. (2007): Anti-inflammatory properties of alfa and gamma-tocopherol. *Molecular Aspects of Medicine*, 28: 668–691.
- Ren J. (2004): Leptin and hyperleptinemia - from friend to foe for cardiovascular function *Journal of Endocrinology*, 181: 1–10.
- Rice-Evans C. (1999): Screening of phenolics and flavonoids for antioxidant activity. In: Packer L., Hiramatsu M., Yoshikawa T., eds. *Antioxidant Food Supplements in Human Health*. Academic Press, San Diego.

- Rice-Evans C. A. (2007): Measurement of total antioxidant activity as a marker of antioxidant status in vivo: procedures and limitations. *Free Radical Research*, 33: S59–S66.
- Rice-Evans C. A., Packer L. (1999): Flavonoids in Health and Disease. CRC Press, Boca Raton.
- Rice-Evans C.-A., Miller N. J., Bolwell P. G., Bramley P. M., Pridham J. B. (1995): The relative antioxidant activities of plant-derived polyphenolic flavonoids. *Free Radical Research*, 22: 375–383.
- Robbins, R. J. (2003): Phenolic acids in foods: An overview of analytical methodology. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51 (10): 2866-2887.
- Rosa F. T., Zulet M. A., Marchini J. S., Martínez J. A. (2012): Bioactive compounds with effects on inflammation markers in humans. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 63: 749–765.
- Roy M., Sen S., Chakraborti A. S. (2008): Action of pelargonidin on hyperglycemia and oxidative damage in diabetic rats: Implication for glycation-induced hemoglobin modification. *Life Sciences*, 82: 1102–1110.
- Rutkowski J. M., Stern J. H., Scherer P. E. (2015): The cell biology of fat expansion. *Journal of Cell Biology*. 208: 501–512.
- Sanchez-Moreno C., Larrauri J. A., Saura-Calixto F. (1998): A procedure to measure the antiradical efficiency of polyphenols. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 76: 270–276.
- Santos-Buelga C., Scalbert A. (2000): Proanthocyanidins and tannin-like compounds – nature, occurrence, dietary intake and effects on nutrition and health. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80 (7): 1094-1117.
- Saura-Calixto, F., Goñi, I. (2006): Antioxidant capacity of the Spanish Mediterranean diet. *Food Chemistry*, 94: 442–447.
- Scherer P.E. (2006): Adipose tissue: From lipid storage compartment to endocrine organ. *Diabetes*, 55: 1537–1545.
- Schlesier K., Harwat M., Böhm V., Bitsch R. (2002): Assessment of antioxidant activity by using different in vitro methods. *Free Radical Biology and Medicine*, 36: 177-187.
- Schwartz M. W., Seeley R. J., Zeltser L. M. (2017): Obesity pathogenesis: An Endocrine Society scientific statement. *Endocrine Reviews*, 38: 267–296.
- Sears, B., Perry, M. (2015): The role of fatty acids in insulin resistance. *Lipids in Health and Disease*, 14: 172.
- Sendra J. M., Sentandreu E., Navarro J. L. (2006): Reduction kinetics of the free stable radical 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH•) for determination of the antiradical activity of citrus juices. *European Food Research and Technology*, 223: 615–624.

- Seymour E. M., Singer A. A. M., Kirakosyan A., Urcuyo-Llanes D. E., Kaufman P. B., Bolling S. F. (2008): Altered Hyperlipidemia, Hepatic Steatosis, and Hepatic Peroxisome Proliferator-Activated Receptors in Rats with Intake of Tart Cherry. *Journal of Medicinal Food*, 11(2): 252–259.
- Shahidi F, Naczki M. (2004): Phenolics in Food and Nutraceuticals. CRC Press, Boca Raton.
- Shahidi F., Yeo J. D. (2016): Insoluble-Bound Phenolics in Food. *Molecules*, 21: 1216.
- Shih P. H., Yeh C. T., Yen G. C. (2007): Anthocyanins induce the activation of phase II enzymes through the antioxidant response element pathway against oxidative stress-induced apoptosis. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55: 9427–9435.
- Simonyi G., Pados Gy., Bedros J. R. (2012): Az elhízás kezelésének szakmai és szervezeti irányelvei. A Magyar Obezitológiai és Mozgásterápiás Társaságállásfoglalása és ajánlása.
- Singh P., Singh I. N., Mondal S. C., Singh L., Garg V.K. (2013): Platelet-activating factor (PAF)-antagonists of natural origin. *Fitoterapia*, 84: 180–201.
- Singh R. G., Yoon H. D., Wu L. M., Lu J., Plank L. D., Petrov M. S. (2017): Ectopic fat accumulation in the pancreas and its clinical relevance: A systematic review, metaanalysis, and meta-regression. *Metabolism*, 69: 1–13.
- Singleton V. L., Orthofer R., Lamuela-Raventós R. M. (1999): Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology*, 299: 152–178.
- Siriwardhana N., Kalupahana N. S., Cekanova M., Lemieux, M., Greer, B., Moustaid-Moussa N. (2013): Modulation of adipose tissue inflammation by bioactive food compounds. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 24: 613–623.
- Sironi A. M., Gastaldelli A., Mari A., Ciociaro D., Positano V., Buzzigoli E., Ghione S., Turchi S., Lombardi M., Ferrannini E. (2004): Visceral fat in hypertension: Influence on Insulin Resistance and β -Cell Function. *National Library of Medicine*, 44: 127–133.
- Smeriglio A., Barreca D., Bellocco E., Trombetta D. (2017): Proanthocyanidins and hydrolysable tannins: Occurrence, dietary intake and pharmacological effects. *British Journal of Pharmacology*, 174: 1244–1262.
- Smith M. A., Pépin M. F. (1999): Stimulation of bioactive flavonoid production in suspension and bioreactor-based cell cultures. In: Altman A., Ziv M., Izhar S., eds. *Plant Biotechnology and In Vitro Biology in the 21st Century*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht.
- Sun K., Kusminski C. M., Scherer P.E. (2011): Adipose tissue remodeling and obesity. *Journal of Clinical Investigation*, 121: 2094–2101.
- Sytar O., Brestic M., Rai M., Shao H. (2012): Phenolic compounds for food, pharmaceutical and cosmetics production. *Journal of Medicinal Plants Research*, 6: 2526-2539.

- Szarka A., Tomasskovics B., Bánhegyi G. (2012): The ascorbate-glutathione- α -tocopherol triad in abiotic stress response. *International Journal of Molecular Sciences*, 13 (4): 4458–4483.
- Tang Y., Zhang B., Li X., Chen P. X., Zhang H., Liu R., Tsao R. (2016): Phenolics of Quinoa Seeds Released by Acid, Alkaline, and Enzymatic Treatments and Their Antioxidant and α -Glucosidase and Pancreatic Lipase Inhibitory Effects. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 64: 1712–1719.
- Tian X., Schaich K.M. (2013): Effects of molecular structure on kinetics and dynamics of the Trolox Equivalent Antioxidant Capacity assay with ABTS+•. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61: 5511–5519.
- Toeller M. (1994): α -Glucosidase inhibitors in diabetes: efficacy in NIDDM subjects. *European Journal of Clinical Investigation*, 24: 31–35.
- Toufektsian M.-C., De Lorgeril M., Nagy N., Salen P., Donati M. B., Giordano L., Mock H.-P., Peterek S., Matros A., Petroni K., Pilu R., Rotilio D., Tonelli C., de Leiris J., Boucher F., Martin C. (2008): Chronic dietary intake of plant-derived anthocyanins protects the rat heart against ischemia-reperfusion injury. *Journal of Nutrition*, 138: 747–752.
- Toydemir G., Capanoglu E., Gomez-Roldan M. V., de Vos R. C. H., Boyacioglu D., Hall R. D., Beekwilder M. J. (2013): Industrial processing effects on phenolic compounds in sour cherry (*Prunus cerasus* L.) fruit. *Food Research International*, 53: 218–225.
- Tsuda T. (2008): Regulation of Adipocyte Function by Anthocyanins; Possibility of Preventing the Metabolic Syndrome. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56: 642–646.
- Tsuda T. (2012): Anthocyanins as Functional Food Factors-Chemistry, Nutrition and Health Promotion. *Food Science and Technology Research*, 18: 315–324.
- Vajragupta O., Boonchoong P., Berliner L. J. (2004): Manganese complexes of curcumin analogues: evaluation of hydroxyl radical scavenging ability, superoxide dismutase activity and stability towards hydrolysis. *Free Radical Research*, 38: 303–314.
- Van den Berg R., Haenen G., Van den Berg H. (1999): Applicability of an improved Trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) assay for evaluation of antioxidant capacity measurements of mixtures. *Food Chemistry*, 66: 511–517.
- Van Gaal L. F., Mertens I. L., De Block C. E. (2006) Mechanisms linking obesity with cardiovascular disease. *Nature*, 444: 875–880.
- Van Raalte D. H., Li M., Pritchard P. H., Wasan K. M. (2004): Peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR)- α : a pharmacological target with a promising future. *Pharmacological Research*, 21: 1531–1538.
- Vendrame S., Daugherty A., Kristo A. S., Riso P., Klimis-Zacas D. (2013): Wild blueberry (*Vaccinium angustifolium*) consumption improves inflammatory status in the obese Zucker rat model of the metabolic syndrome. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 24: 1508–1512.
- Wang H., Cao G. (1997): Oxygen radical absorbing capacity of anthocyanins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45:304–309.

- Wang H., Nair M. G., Iezzoni A., Strasburg G. M., Booren A. M., Gray J. I. (1997): Quantification and characterization of anthocyanins in Balaton tart cherries. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45 (7): 2556–2560.
- Wang H., Nair M. G., Strasburg G. M., Chang Y. C., Booren A. M., Gray J. I., Dewitt D., L. (1999): Antioxidant and anti-inflammatory activities of anthocyanins and their aglycon, cyanidin, from tart cherries. *Journal of Natural Products*, 62 (2): 294–296.
- Williamson G., Manach C. (2005): Bioavailability and bioefficacy of polyphenols in humans. II. Review of 93 intervention studies. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 81: 243S–55S.
- Wojdyło A., Nowicka P., Laskowski P., Oszmiański J. (2014): Evaluation of sour cherry (*Prunus cerasus* L.) fruits for their polyphenol content, antioxidant properties, and nutritional components. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51: 12332–12345.
- Wu T., Qi X., Liu Y., Guo J., Zhu R., Chen W., Zheng X., Yu T. (2013A): Dietary supplementation with purified mulberry (*Morus australis* Poir) anthocyanins suppresses body weight gain in high-fat diet fed C57BL/6 mice. *Food Chemistry*, 141: 482–487.
- Wu T., Tang Q., Gao Z., Yu Z., Song H., Zheng X., Chen W. (2013B): Blueberry and mulberry juice prevent obesity development in c57bl/6 mice. *PLoS ONE*, 8: e77585.
- Wu T., Yin J., Zhang G., Long H., Zheng X. (2016): Mulberry and cherry anthocyanin consumption prevents oxidative stress and inflammation in diet-induced obese mice. *Molecular Nutrition and Food Research*, 60: 687–694.
- Xia M., Hou M., Zhu H., Ma J., Tang Z., Wang Q., Li Y., Chi D., Yu X., Zhao T., Han P., Xia X., Ling W. (2005): Anthocyanins induce cholesterol efflux from mouse peritoneal macrophages: the role of the peroxisome proliferator-activated receptor γ -liver X receptor α -ABCA1 pathway. *Journal of Biological Chemistry*, 280: 36792–36801.
- Ye J. (2013): Mechanisms of insulin resistance in obesity. *Frontiers in Medicine*, 7: 14–24.
- Yilmaz C., Gökmen V. (2013): Compositional characteristics of sour cherry kernel and its oil as influenced by different extraction and roasting conditions. *Industrial Crops and Products*, 49: 130–135.
- Yilmaz F. M., Görgüç A., Karaaslan M., Vardin H., Bilek S. E., Uygun Ö., Bircan C. (2018): Sour Cherry By-products: Compositions, Functional Properties and Recovery Potentials – A Review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 20: 1-15.
- Young I. S. (2001): Measurement of total antioxidant capacity. *Journal of Clinical Pathology*, 54: 339.
- Yu D., Huang T., Tian B., Zhan J. (2020): Advances in Biosynthesis and Biological Functions of Proanthocyanidins in Horticultural Plants. *Foods*, 9: 1774.
- Ziegler D. (2005): Type 2 Diabetes As An Inflammatory Cardiovascular Disorder. *Current Molecular Medicine*, 5(3): 309-322.

Zienkiewicz Z., Zienkiewicz A. K., Rejon J. D., Alche J. D., Castro A. J., Rodriguez-Garcia M. I. (2014): Olive seed protein bodies store degrading enzymes involved in mobilization of oil bodies. *Journal of Experimental Botany*, 65: 103-115.

Internetes hivatkozás

I1 (1. ábra): <http://masho0oq.blogspot.com/2010/11/fruit.html>

I2 (11. ábra): <https://www.favorittrade.hu/tartalom.php?azon=110>

11. PUBLIKÁCIÓK AZ ÉRTEKEZÉS TÉMAKÖRÉBEN



**DEBRECENI
EGYETEM**

**DEBRECENI EGYETEM
EGYETEMI ÉS NEMZETI KÖNYVTÁR**

H-4002 Debrecen, Egyetem tér 1, Pf.: 400
Tel.: 52/410-443, e-mail: publikaciok@lib.unideb.hu

Nyilvántartási szám: DEENK/315/2020.PL
Tárgy: PhD Publikációs Lista

Jelölt: Kun-Nemes Andrea
Doktori Iskola: Kerpely Kálmán Doktori Iskola
MTMT azonosító: 10051571

A PhD értekezés alapjául szolgáló közlemények

Magyar nyelvű tudományos közlemények hazai folyóiratban (2)

1. Biró, A., **Kun-Nemes, A.**, Gálné Remenyik, J.: A meggy mag mint ipari gamma-tokoferol forrás.
Agrártud. Közl. 63, 27-33, 2015. ISSN: 1587-1282.
2. **Kun-Nemes, A.**, Stefanovits-Bányai, É., Gálné Remenyik, J.: Új mérési eljárások fejlesztése a növényi antioxidáns státusz meghatározására.
Agrártud. Közl. 63, 105-112, 2015. ISSN: 1587-1282.

Idegen nyelvű tudományos közlemények hazai folyóiratban (1)

3. **Kun-Nemes, A.**, Homoki, J., Kiss, R., Stündl, L., Gálné Remenyik, J.: Effect of anthocyanin-rich Hungarian tart cherry extract on blood antioxidant status in C57BL/6J mice.
Agrártud. Közl. 150th Anniversary Issue, 335-341, 2018. ISSN: 1587-1282.
DOI: <http://dx.doi.org/10.34101/actaagrar/150/1728>

Idegen nyelvű tudományos közlemények külföldi folyóiratban (2)

4. **Kun-Nemes, A.**, Homoki, J., Kiss, R., Hegedűs, C., Kovács, D., Peitl, B., Gál, F., Stündl, L., Szilvássy, Z., Gálné Remenyik, J.: Effect of Anthocyanin-Rich Tart Cherry Extract on Inflammatory Mediators and Adipokines Involved in Type 2 Diabetes in a High Fat Diet Induced Obesity Mouse Model.
Nutrients. 11 (9), 1-17, 2019. EISSN: 2072-6643.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/nu11091966>
IF: 4.546
5. **Kun-Nemes, A.**, Szöllősi, E., Stündl, L., Biró, A., Homoki, J., Szarvas, M. M., Balogh, P., Cziáky, Z., Gálné Remenyik, J.: Determination of Flavonoid and Proanthocyanidin Profile of Hungarian Sour Cherry.
Molecules. 23 (12), 1-20, 2018. ISSN: 1420-3049.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/molecules23123278>
IF: 3.06





Magyar nyelvű absztrakt kiadványok (1)

6. **Kun-Nemes, A.**, Szilvássy, Z., Patonay, T., Fári, M., Gálné Remenyik, J.: Antioxidáns kapacitás meghatározása kemiluminometriás módszerrel.
In: XVII. Növénynevelési Tudományos Napok Összefoglalók. Szerk.: Óvári Judit, Planet Corp. Szolgáltató Kft, Szeged, 66, 2011. ISBN: 97896308.12351

Idegen nyelvű absztrakt kiadványok (1)

7. **Kun-Nemes, A.**, Homoki, J., Kiss, R., Stündl, L., Gálné Remenyik, J.: Effect of anthocyanin-rich tart cherry extract on blood antioxidant status in a high fat diet induced obesity mouse model.
In: 9th Central European Congress on Food, Food Science for Well-being : Abstract book.
Ed.: L. Gaceu, M. Mironescu, G. Mohan, Lucia Blaga University of Sibiu Press, Sibiu, 146, 2018. ISBN: 9786061215461

További közlemények

Magyar nyelvű tudományos közlemények hazai folyóiratban (3)

8. **Kun-Nemes, A.**, Fehérmé Baranyai, E., Gálné Remenyik, J.: A meggy jelentősége a vaspótlásban.
Agrártud. Közl. 63, 101-104, 2015. ISSN: 1587-1282.
9. Homoki, J., **Kun-Nemes, A.**, Gálné Remenyik, J.: A meggy mint funkcionális élelmiszer.
Agrártud. Közl. 55, 41-47, 2014. ISSN: 1587-1282.
10. Bódi, É., Gálné Remenyik, J., **Kun-Nemes, A.**, Homoki, J., Peles, F., Fekete, I., Kovács, B.: Szelénnel dúsított étkezési csírák antioxidáns aktivitásának meghatározása, valamint mikrobiológiai vizsgálatuk.
Agrártud. Közl. 52, 25-30, 2013. ISSN: 1587-1282.

Idegen nyelvű tudományos közlemények külföldi folyóiratban (2)

11. Homoki, J., **Kun-Nemes, A.**, Fazekas, E., Gyémánt, G., Balogh, P., Gál, F., Al, A. J., Mortier, J., Wolber, G., Babinszky, L., Gálné Remenyik, J.: Anthocyanin composition, antioxidant efficiency, and alpha-amylase inhibitor activity of different Hungarian sour cherry varieties (*Prunus cerasus* L.).
Food Chem. 194 (1), 222-229, 2016. ISSN: 0308-8146.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.07.130>
IF: 4.529
12. Bódi, É., Gálné Remenyik, J., **Kun-Nemes, A.**, Homoki, J., Peles, F., Fekete, I., Kovács, B.: The determination of antioxidant activity of selenium-enriched wheat and pea sprouts, as well as their microbiological analysis.
Scientific papers. Series A., Agronomy. 56., 196-201, 2013. ISSN: 2285-5785.





Magyar nyelvű konferencia közlemények (1)

13. Bódi, É., Gálné Remenyik, J., **Kun-Nemes, A.**, Homoki, J., Fekete, I., Kovács, B.: A szelénkezelés és az antioxidáns aktivitás közötti kapcsolat vizsgálata étkezési csírák esetén.
In: XIX. Ifjúsági Tudományos Fórum, [s.n.], [Keszthely], 1-6, 2013.

Magyar nyelvű absztrakt kiadványok (1)

14. Homoki, J., **Kun-Nemes, A.**, Hüse, C., Fári, M., Gálné Remenyik, J.: A cyanidin-3-O monoglükozid felhalmozódása a magyarországi meggy fajtákban.
In: XVII. Növénynevelési Tudományos Napok. Összefoglalók: Növényneveléssel kultúrnövényeink sokféleségéért. Szerk.: Óvári Judit, Gabonakutató Nonprofit Közhasznú Kft., Szeged, 68, 2011. ISBN: 978963081235

A közlő folyóiratok összesített impakt faktora: 12,135

**A közlő folyóiratok összesített impakt faktora (az értekezés alapjául szolgáló közleményekre):
7,606**

A DEENK a Jelölt által az IDEa Tudóstérbe feltöltött adatok bibliográfiai és tudásmetriai ellenőrzését a tudományos adatbázisok és a Journal Citation Reports Impact Factor lista alapján elvégezte.

Debrecen, 2020.10.22.



12. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Szeretnék köszönetet mondani mindazoknak, akik segítségemre voltak doktori munkám elkészítése és az odáig tartó út során.

Elsőként szeretném megköszönni témavezetőmnek, Gálné Dr. habil. Remenyik Juditnak az éveken át tartó mindennemű támogatást, segítséget, útmutatást, biztatást és odafigyelést, mellyel elősegítette céljaim elérését, és dolgozatom megszületését.

Szeretnék köszönetet mondani Dr. Stündl Lászlónak, aki a Debreceni Egyetem Mezőgazdaság-, Élelmiszertudományi és Környezetgazdálkodási Kar dékánja, valamint a DEMÉK Élelmiszertechnológiai Intézet vezetője, hogy helyet biztosított számomra a kísérleteim elvégzéséhez.

Köszönöm munkacsoportunk minden tagjának: Biróné Molnár Piroskának, Dr. Homoki Judit Ritának, Biró Atillának, Szabó Szabolcsnak, Szöllősi Erzsébetnek, Szarvas Mária Magdolnának, Pest-Asbóth Georginának, Szilágyi Endrének, Dr. Markovics Arnoldnak és végül, de nem utolsó sorban Dr. Fazekas Mónika Évának, hogy tapasztalataikkal és munkájukkal segítették a vizsgálatok kivitelezését és a dolgozat elkészülését, valamint azt, hogy mindig számíthattam rájuk bármit hozott is az élet.

Köszönöm Dr. habil. Gyémánt Gyöngyinek, Dr. Kiss Ritának és Dr. Cziáky Zoltánnak a kísérletek és a publikációk során nyújtott segítséget.

Végezetül pedig szeretném megköszönni a családomnak, hogy mindig mellettem álltak és bátorítottak. Külön köszönöm édesanyámnak, hogy annyi éven át taníttatott és támogatott.

13. NYILATKOZATOK

NYILATKOZAT

Ezen értekezést a Debreceni Egyetem Kerpely Kálmán Doktori Iskola keretében készítettem, a Debreceni Egyetem doktori (Ph.D.) fokozatának elnyerése céljából.

Debrecen, 20.....

.....

a jelölt aláírása

NYILATKOZAT

Tanúsítom, hogy Kun-Nemes Andrea doktorjelölt 2012-2021 között a fent megnevezett Doktori Iskola keretében irányításommal végezte munkáját. Az értekezésben foglalt eredményekhez a jelölt önálló alkotó tevékenységével meghatározóan hozzájárult, az értekezés a jelölt önálló munkája. Az értekezés elfogadását javaslom.

Debrecen, 20.....

.....

a témavezető aláírása

14. MELLÉKLETEK

1. melléklet. A meggyfajták FRAP és ACW módszerrel mért vízdékony antioxidáns kapacitásának és C-vitamin tartalmának statisztikai elemzése.

Initial Cluster Centers

	Cluster				
	1	2	3	4	5
FRAP_mgmg	0,26	0,39	0,14	0,31	0,24
ACW_mgmg	2,22	1,50	1,05	0,57	0,84
C_vitamin	0,03	0,07	0,02	0,18	0,16

Iteration History^a

Iteration	Change in Cluster Centers				
	1	2	3	4	5
1	0,000	0,170	0,118	0,000	0,053
2	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000

a. Convergence achieved due to no or small change in cluster centers. The maximum absolute coordinate change for any center is ,000. The current iteration is 2. The minimum distance between initial centers is ,269.

Cluster Membership

Meggyfajta	Cluster	Distance
Achat	3	0,118
Csengőd	2	0,170
Debrecen	3	0,118
Érdi bőtermő	4	0,000
Éva	5	0,053
Gerema	2	0,119
Jáde	2	0,127
Kántorj	5	0,125
Petri	5	0,112
Pisa	2	0,040
Pyramis	5	0,171
Újfehé	1	0,000

2. melléklet. A meggyfajták DPPH, TEAC és ACL módszerrel mért zsíroldékony antioxidáns kapacitásának és antocianin-tartalmának statisztikai elemzése.

Initial Cluster Centers

	Cluster				
	1	2	3	4	5
TEAC	1,10	1,24	0,85	1,91	1,08
DPPH	0,91	0,75	0,50	1,55	1,47
ACL	2,04	4,01	3,19	4,39	3,81
Antocianin	0,16	1,12	0,24	0,15	0,35

Iteration History^a

Iteration	Change in Cluster Centers				
	1	2	3	4	5
1	0,284	0,000	0,448	0,000	0,419
2	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000

a. Convergence achieved due to no or small change in cluster centers. The maximum absolute coordinate change for any center is ,000. The current iteration is 2. The minimum distance between initial centers is 1,029.

Cluster Membership

valami	Cluster	Distance
Achat	3	0,254
Csengőd	2	0,000
Debrecen	3	0,219
Érdi b	1	0,376
Éva	3	0,359
Gerema	3	0,448
Jáde	5	0,208
Kántorj	1	0,248
Petri	1	0,284
Pisa	5	0,288
Pyramis	5	0,419
Újfehé	4	0,000

3. melléklet. A meggykivonatok antioxidáns kapacitásának és összpolicifenol-tartalmának statisztikai elemzése.

Sample	1/AS+1/BS			2/AS+2/BS			1/AS			1/BS			2/AS			2/BS		
	Mean	Std. Error	P-value	Mean	Std. Error	P-value	Mean	Std. Error	P-value	Mean	Std. Error	P-value	Mean	Std. Error	P-value	Mean	Std. Error	P-value
ACL	0.239	0.006	b	0.232	0.004	b	0.151	0.001	a	0.030	0.002	a	0,105	0,002	a	0,052	0,001	b
TEAC	0.189	0.002	c	0.171	0.002	c	0.073	0.001	d	0.023	0.000	bc	0,061	0,004	bc	0,020	0,003	c
DPPH	0.168	0.004	d	0.118	0.007	d	0.075	0.001	d	0.015	0.001	de	0,059	0,006	c	0,028	0,000	c
ACW	0.268	0.005	a	0.294	0.007	a	0.097	0.001	c	0.026	0.003	ab	0,124	0,018	a	0,029	0,003	c
FRAP	0.185	0.005	cd	0.188	0.010	c	0.116	0.000	b	0.018	0.000	cd	0,098	0,008	ab	0,088	0,012	a
TPC	0.053	0.003	e	0.070	0.001	e	0.052	0.001	e	0.011	0.000	e	0,041	0,004	c	0,018	0,000	c

4. melléklet. A meggyrostból hidrolizált vegyületek antioxidáns kapacitásának és az összpolicifenol-tartalmának statisztikai elemzése.

Sample	1/RH			2/RH			1/RK			2/RK			1/RPR			1/RA		
	Mean	Std. Error	P-value	Mean	Std. Error	P-value	Mean	Std. Error	P-value	Mean	Std. Error	P-value	Mean	Std. Error	P-value	Mean	Std. Error	P-value
ACL	5,523924	0,206837	b	4,626273	0,089568	b	5,136208	0,281042	bc	3,376704	0,172545	b	0,329652	0,005146	a	0,297342	0,009064	c
TEAC	0,814408	0,01602	e	0,655186	0,024693	e	6,089197	0,087278	b	5,577601	0,081766	b	0,214855	0,129988	a	0,345807	0,005434	b
DPPH	8,414576	0,18805	a	8,14816	0,157792	a	250,02	2,510623	a	247,7094	4,743269	a	0,271361	0,003104	a	0,159186	0,012789	d
ACW	2,239381	0,024139	c	2,222443	0,028895	c							0,164468	0,001113	a	0,087363	0,002353	e
FRAP	1,302172	0,025742	d	0,404671	0,015198	e	1,287592	0,060399	c	1,22635	0,008982	b	0,222895	0,006201	a	0,14819	0,012164	d
TPC	2,17133	0,07447	c	1,412789	0,099435	d	3,126382	0,249972	bc	3,662156	0,250009	b	0,182549	0,000621	a	1,249431	0,015739	a

Sample	1/RL			2/RPR			2/RA			2/RL			1/RPE			2/RPE		
	Mean	Std. Error	P-value	Mean	Std. Error	P-value	Mean	Std. Error	P-value	Mean	Std. Error	P-value	Mean	Std. Error	P-value	Mean	Std. Error	P-value
ACL	0,296789	0,001204	d	0,223075	0,012261	a	0,188443	0,014859	a	0,381569	0,003655	d	0,300673	0,005271	a	0,298767	0,002766	a
TEAC	2,632729	0,034454	b	0,091801	0,001142	c	0,074066	0,002684	c	2,589332	0,014251	b	0,293242	0,009712	a	0,310956	0,004563	a

DPPH				0,146715	0,00561	b	0,092937	0,005971	bc				0,146153	0,005179	c	0,125941	0,001698	c
ACW	0,265097	0,001244	d	0,1426	0,001015	b	0,087396	0,000733	bc	0,336876	0,000551	d	0,105441	0,002593	d	0,109604	0,004282	d
FRAP	1,485204	0,015161	c	0,141947	0,003666	b	0,071692	0,000851	c	1,470293	0,006853	c	0,194373	0,002599	b	0,187999	0,00318	b
TPC	3,601912	0,042691	a	0,132874	0,002326	b	0,104849	0,001015	b	3,70971	0,037335	a	0,191527	0,00204	b	0,190108	0,004256	b