



Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem
Élelmiszertudományi és Technológiai Intézet
Élelmiszerkémia és Analitika Tanszék

**Különböző csersavtartalmú teák főzetének zsír- és fehérjeemészthetőséget
befolyásoló hatásának vizsgálata *in vitro* emésztésszimulációs modellben**

Gyivi Ildikó
Budapest
2024

Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem
Élelmiszertudományi és Technológiai Intézet

Szak neve: MSc Élelmiszerbiztonsági és -minőségi mérnök

Diplomadolgozat készítés helye: Élelmiszerkémia és Analitika Tanszék

Hallgató: Gyivi Ildikó (F9TEXI)

A diplomadolgozat címe: Különböző csersavtartalmú teák főzetének zsír- és fehérjeemészthetőséget befolyásoló hatásának vizsgálata *in vitro* emésztésszimulációs modellben

Témavezető: Tormási Judit egyetemi tanársegéd

Beadás dátuma: 2024. április 22.

diplomadolgozat készítés helyének vezetője

Dr. Abrankó László egyetemi docens

témavezető

Tormási Judit egyetemi tanársegéd

Mohácsiné dr. Farkas Csilla
szakfelelős

Tartalomjegyzék

1. BEVEZETÉS	1
2. CÉLKITŰZÉS	3
3. IRODALMI ÁTTEKINTÉS	4
3.1 Az emberi szervezet metabolizmusa.....	4
3.1.1 A zsírok emésztése.....	5
3.1.2 A fehérjék emésztése	7
3.2 Az <i>in vitro</i> emésztésszimulációs modell.....	8
3.3 Biológiaiilag hozzáférhető zsírsavtartalom meghatározása gázkromatográfiás módszerrel.....	10
3.4 Biológiaiilag hozzáférhető fehérjetartalom vizsgálata spektrofotometriás módszerrel.....	12
3.5 A tea (<i>Camellia sinensis</i>) általános jellemzői és élettani hatásai.....	14
3.6 A polifenolok és a teában levő flavanolok és csersavak bemutatása.....	16
3.7 A polifenolok és a tea csersavtartalmának hatása az emberi emésztésre és a tápanyagok hozzáférhetőségére	18
3.8 Mátrixok jellemzői.....	20
3.8.1 Tejszín	20
3.8.2 Marhahús	22
4. ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK	25
4.1 Felhasznált anyagok.....	25
4.1.1 Vizsgálatok során használt tea fajták és élelmiszer mátrixok.....	25
4.2 Módszerek.....	25
4.2.1 Tea kivonatok elkészítése	25
4.2.2 Marhahús előkészítése	26
4.2.3 <i>In vitro</i> emésztésszimulációs modell kivitelezése	26
4.2.4 Hozzáférhető zsírsavtartalom meghatározása.....	29
4.2.5 Általános módszer.....	30
4.2.6 Gyors módszer	31

4.2.7 Zsírsavösszetétel meghatározása gázkromatográfiás módszerrel	31
4.2.8 Hozzáférhető fehérjetartalom meghatározása	32
4.2.9 Hozzáférhető fehérjetartalom mérése OPA módszerrel	33
4.2.10 Hidrolízis módszer	34
4.2.11 Az eredmények értékelése során alkalmazott szoftverek és statisztikai módszerek	35
5. KÍSÉRLETI EREDMÉNYEK ÉS ÉRTÉKELESÜK	36
5.1 Tejszín hozzáférhető zsírsavtartalmának értékelése	38
5.2 A fekete tea kivonatok hatása a tejszín zsírsavtartalmának hozzáférhetőségére	41
5.3 A marhahús hozzáférhető zsírsavtartalmának értékelése	47
5.4 A fekete tea kivonatok hatása a marhahús hozzáférhető zsírsavtartalmára	49
5.5 A fekete tea kivonatok hatása a marhahús hozzáférhető fehérjetartalmára	54
6. ÖSSZEGZÉS	59
IRODALOMJEGYZÉK	61

ZSÍRSAVAK JEGYZÉKE

Zsírsvav jelölése	Zsírsvav elnevezése
C4:0	vajsav
C6:0	kapronsav
C8:0	kaprilsav
C10:0	kaprinsav
C11:0	undekánsav
C12:0	laurinsav
C13:0	tridekánsav
C14:0	mirisztinsav
C14:1n-5c	mirisztoleinsav cisz 9
C15:0	pentadekánsav
C15:1n-5c	pentadecénsav cisz 10
C16:0	palmitinsav
C16:1n-7c	palmitoleinsav cisz 9
C17:0	heptadekánsav
C17:1n-7c	heptadecénsav cisz 10
C18:0	sztearinsav
C18:1n-9t	elaidinsav transz 9
C18:1n-9c	olajsav cisz 9
C18:2n-6t	linolelaidinsav transz 9, 12
C18:2n-6c	linolsav cisz 9, 12
C18:3n-6c	γ -linolénsav cisz 6, 9, 12
C18:3n-3c	linolénsav cisz 9, 12, 15
C20:0	arachidsav
C20:1n-9c	eikozénsav cisz 11
C20:2n-6c	eikozatriénsav cisz 11, 14
C21:0	heneikozánsav
C20:3n-6c	eikozatriénsav cisz 8, 11, 14
C20:4n-6c	arachidonsav cisz 5, 8, 11, 14
C20:3n-3c	eikozatriénsav cisz 11, 14, 17
C22:0	behénsav
C22:1n-9c	erukasav cisz 13
C20:5n-3c	eikozapentaénsav cisz 5, 8, 11, 14, 17
C22:2n-6c	dokozadiénsav cisz 12, 16
C23:0	trikozánsav
C24:0	lignocerinsav
C24:1n-9c	nervonsav cisz 15
C22:6n-3c	dokozahexaénsav cisz 4, 7, 10, 13, 16, 19

1. BEVEZETÉS

„A táplálékod legyen az orvosságod, és az orvosságod a táplálékod legyen.” mondta ezt régen Hippokratész, amely mondása a mai napig helyén való. Évezredekkel ezelőtt a kínai orvoslásban gyógyító erőt tulajdonítottak a teának, és máig világszerte fogyasztják jótékony hatásai és élvezeti értéke miatt. A mai felgyorsult világban, bár próbálunk egészségesen étkezni, rengeteg feldolgozott, zsírban és szénhidrátban gazdag táplálékot és italt fogyasztunk. A nehéz ételek miatt kialakuló puffadással és teltségérzettel küzdők legtöbbször étrendkiegészítőket vagy gyógyszert alkalmaznak, pedig a panaszok csökkentését, vagy akár megelőzését, illetve az anyagcsere segítségét rendszeres teafogyasztással is támogatni lehetne. A teák jótékony hatását sok esetben tulajdonítják azok csersavtartalmának. A csersav növényekben fellelhető polifenol, mely antioxidáns tulajdonsága révén segíthet megelőzni a szabadgyökök okozta károsodást az emberi szervezetben, továbbá gyulladáscsökkentő hatással bír és hozzájárulhat a szív- és érrendszeri betegségek megelőzéséhez. Feltehetően a fekete tea rendelkezik a legmagasabb csersavtartalommal a teatípusok között, ami átlagosan 100-150 mg/g is lehet a tea változatától és a feldolgozástól függően. Emellett a tea elkészítési módja, az áztatás időtartama, illetve a tealevelek és a víz aránya befolyásolhatja az italban kioldódott csersav mennyiségét.

Az élelmiszerek emészthetőségét, azaz lebontásuk hatékonyságát, emésztésszimulációs módszerek alkalmazásával vizsgálhatjuk a legegyszerűbb módon, mely módszerek realisztikusan modellezik az emberi tápcsatorna működését. A szimuláció során keletkezett, a szervezet számára hozzáférhető tápanyagok mennyisége és minősége pedig reprezentálja az *in vivo* körülmények között létrejövő anyagokat. Az *in vitro* módszerek nemcsak élelmiszerek emészthetőségének meghatározására szolgálnak, hanem bioaktív komponenseket tartalmazó élelmiszerek vagy étrendkiegészítők hatását is lehet velük vizsgálni. Ezen módszerek közül kiemelendő az úgynevezett INFOGEST modell, mely egy nemzetközi konszenzuson alapuló *in vitro* emésztésszimulációs modell, mely kidolgozásának célja az volt, hogy a humán emésztési folyamatok vizsgálatára alkalmas módszereket harmonizálják, ezáltal egy egységes módszert hozzanak létre. Megjelenése óta számos területen alkalmazzák ezt a modellt, köztük a gyógyszerész-, az élelmiszer- és táplálkozástudomány.

Munkám során különböző csersavtartalmú fekete teák zsír- és fehérjeemésztésre gyakorolt hatását vizsgáltam, kétféle modell mátrixon; tejszín és sült marhahús. A teák főzetének hatását a zsírok emészthetőségére az *in vitro* emésztésszimulációt követően a szabad zsírsavtartalom meghatározásával vizsgáltam, majd a fehérjeemésztésre gyakorolt addicionális hatást a biológiai hozzáférhető fehérjetartalom mennyiségi analízisével fejeztem be.

2. CÉLKITŰZÉS

Munkám során különböző csersavtartalmú fekete teák emésztésre gyakorolt hatását vizsgáltam kétféle modell mátrixon. A vizsgálatokhoz két teszt mátrixot választottam, tejszínt (30% zsírtartalom) és sült marhahúst (16% zsírtartalom).

Részcéljaim:

- 1) A teszt mátrixok karakterizálása. A tejszín minta zsír-emészthetőségének és a marhahús minta zsír- és fehérje-emészthetőségének meghatározásával.
- 2) A tea adagolás dózis-hatás vizsgálata tejszín mátrixon. Együttemésztési vizsgálatok elvégzése tea főzet adagolásával három különböző összetételben (1:1; 1:2; 1:3 arányban a mintatömegre vonatkoztatva). A zsíremészthetőségre gyakorolt hatás megállapítása.
- 3) A tea főzet hatásának tesztelése sült marhahús mátrixon a kiválasztott elégséges dózisban. A kiválasztott elégséges dózis hatásának vizsgálata eltérő zsírtartalommal és -minőséggel rendelkező mátrixon együttemésztési kísérlet során.
- 4) A tea főzet addicionális hatásának és a sült marhahús mátrix fehérje-emészthetőségének meghatározása együttemésztési vizsgálatokkal.

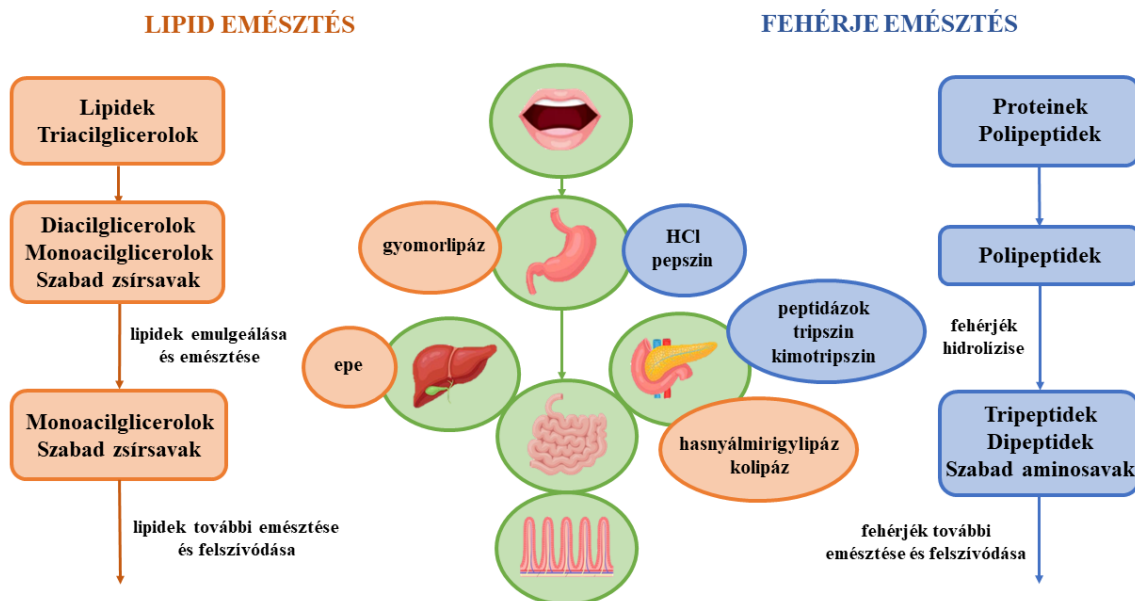
A mérések során az Infogest módszert alkalmaztam *in vitro* emésztésszimulációs modellként. Az emészthető zsírtartalmat a szabad zsírsavak mennyisége és minősége alapján határoztam meg GC-FID technikával, a hozzáférhető fehérjetartalmat pedig a megfelelő izolálást követően a szabad amino-csoportok mennyisége alapján OPA módszerrel, spektrofotometriás méréssel kvantifikáltam.

3. IRODALMI ÁTTEKINTÉS

3.1 Az emberi szervezet metabolizmusa

Az emberi emésztés egy rendkívül bonyolult és összetett folyamat. A táplálkozás révén bevitt táplálék hosszú és komplex folyamatokon megy keresztül, mire lebomlik, majd felszívódás révén a vér- és nyirokkeringésbe kerül. A táplálék útja a tápcsatornán keresztül halad, mely három szakaszból tevődik össze, az elő-, közép- és utóbélből. Az előbél felelős a táplálék felvételéért, aprításáért és az emésztés megkezdéséért. Ez a szakasz a szájüregtől a gyomorig terjed. A nyálban alfa-amiláz található, ami a táplálékban levő keményítő bontásáért felelős. Ezt követően a garaton, majd a nyelőcsővön keresztül a táplálék a gyomorba kerül, ahol a tápanyagok bontása folytatódik. A gyomornedv többek között tartalmaz pepszint, amely a fehérjebontásért felelős, és kisebb mennyiségben gyomor lipázt, ami a lipidek bontásában játszik fontos szerepet. A középbél szakaszában, azaz a vékonybélben, a táplálék emésztése és felszívása zajlik. Ebben a szakaszban a vékonybélnedv mellett a hasnyálmirigy által kiválasztott, és vékonybélbe juttatott hasnyál, és a máj révén termelt, majd a vékonybélbe továbbított epe felelősek a tápanyagok líziséért. A hasnyál többféle proenzimet és aktív enzimet tartalmaz, mint a tripszin, kimotripszin, alfa-amiláz, ribonukleáz és dezoxiribonukleáz, lipáz és egyéb észterázok, ezáltal a fehérjéket, a szénhidrátokat, a nukleinsavakat és a zsírokat egyaránt bontja. Az epe szerepe a zsírok apró cseppekké alakításában és ezek burkolásában van, ezzel segítve az enzimek további munkáját (Fonyó, 2011). Ezt követi az utóbél szakasza, ami a vastagbél régióját jelenti. A béltartalom itt még órákig tárolódik, ezalatt víz és ásványi anyagok szívódnak fel a bélfalon keresztül, ezt követően pedig a fel nem szívódott és emészthetetlen anyagok a végbélnyíláson át ürülnek.

Vizsgálataim során a fekete teák zsíremésztésre és fehérjeemésztésre kifejtett hatását vizsgáltam. Ebből kifolyólag a továbbiakban a zsírok és fehérjék emészthetőségét tárgyalom, melyet a 1. ábrán szemléltetek.



1. ábra: Zsírok és fehérjék emésztése (saját ábra)

3.1.1 A zsírok emésztése

A zsírok a szervezet fontos energiaforrásai, a szénhidrátok mellett. Fontos szerepük van a szervezet hőháztartásában és a zsírban oldódó A, D, E, K-vitaminok raktározásában és szállításában. A zsírok vízben oldhatatlan vegyületek, melyek zsírsavak és glicerinnel kapcsolódása révén jönnek létre. Attól függően, hogy hány zsírsav kapcsolódik a glicerinnel a molekulához, úgy keletkezik mono-, di- és triacilglicerol. A triacilglicerolok, másnéven a neutrális zsírok esetében a glicerinnel mindhárom alkoholos hidroxilcsoportjához kapcsolódik egy-egy zsírsav. Attól függően, hogy azonosak vagy eltérőek ezek a zsírsavak, úgy lehetnek homo-, vagy hetero-triacilglicerolok. A legtöbb természetes zsír és olaj kevert, azaz háromféle zsírsavat tartalmaz (Nyitrai és Pál, 2013). Fizikai tulajdonságaik a zsírsavláncok hosszából és a telítettségéből adódnak. Lehetnek rövid (Short Chain Fatty Acid SCFA; $C \leq 7$), közepes (Medium Chain Fatty Acid MCFA; $C8-C14$) és hosszú szénláncú (Long Chain Fatty Acid LCFA; $C \geq 16$) zsírsavak a szénatomok számától függően (Beermann et al., 2003). Telítettségüket pedig a molekulán belüli kötések határozzák meg. A telített triacilglicerolok esetében kizárólag egyszeres kötések vannak jelen, míg a telítetlen molekulában kettős kötés vagy kötések fordulnak elő. Emésztésük során a felszívódást megelőzően szükséges a hidrolitikus bontásuk, mely során szabad zsírsavak, monoacilglicerolok, lizofoszfátidok és

szabad koleszterin keletkezik (Fonyó, 2011). Emésztésük első sorban a gyomorban indul meg a gyomor lipáz enzim által, ami a közepes szénláncú triacilglicerolokat nagyobb hatékonysággal hidrolizálja, mint a hosszú szénláncú zsírsavakat. Ennek során többségében diacilglicerolok és szabad zsírsavak keletkeznek. Ez az enzim az elfogyasztott zsírok 10-30%-át képes bontani (Singh et al., 2009). A lipidek hidrolízisének mértéke jelentősen függ a zsírok forrásától és diszpergáltságától, illetve az élelmiszermatrix stabilitásától és összetettségétől (Brodkorb et al., 2019). Tovább haladva a tápcsatornában, túlnyomórészt a vékonybélben zajlik a lipidek emésztése. Ennek során a máj által termelt epe a zsírok aprózását végzi, illetve emulzifikáló anyagként van jelen, vagyis beburkolja és stabilizálja az apró lipidcseppeket, ezzel segítve a micellaképződést és a későbbi felszívódásukat. A zsírok bontását legnagyobb részben a hasnyálmirigy által termelt enzimek végzik: a hasnyálmirigy lipáz és a kolipáz. Ezek közül a hasnyálmirigy lipáz a triacilglicerol molekuláról két zsírsavat bont le, ekképpen 2-monoacilglicerolt és két szabad zsírsavat képez. A kolipáz a lipázzal komplexet képezve növeli a lipázaktivitást, a lipidcsepp felszínéhez köti, ezzel hozzáférhetővé téve számára a triacilglicerolokat. További lipidbontást végez a koleszterinészter-hidroláz, mely koleszterinésztereket és triacilglicerolokat bont, és a foszfolipáz A2 enzim, ami a nevéből adódóan a foszfolipideket bontja. Ezt követően a lipid alkotórészek felszívódása a bélfal vizes fázisú felületén, az epesavas sókkal és foszfolipidekkel képzett micellák útján lehetséges (Fonyó, 2011).

Megfigyelhető, hogy a lipidek emésztése rendkívül összetett folyamat. Ennek megértése az *in vitro* modellek fejlődése révén a közelmúltban sokat haladt előre (Golding és Wooster, 2010). Azzal kapcsolatosan végeznek kutatásokat, hogy a jövőben stabil élelmiszer emulziók tervezésével jótékonyan befolyásolni tudják a lipidemésztést, ami egyedi élettani előnyökkel járna, mint például a fokozott jóllakottságérzés és a csökkent éhségérzet (Golding és Wooster, 2010; McClements és Li, 2010). Mindemellett ezek a kutatások akár segíthetik olyan funkcionális élelmiszerek megalkotását is, melyek fokozhatják vagy csökkenthetik a zsírsavak biológiai hozzáférhetőségét. Ez hatalmas változást eredményezne az emberek számára, mivel a csökkentett biológiai hozzáférhetőségű zsírsavakat tartalmazó funkcionális élelmiszerek alkalmasak lennének olyan problémák megoldására, mint a magas vérzsírszint, a szív- és érrendszeri betegségek vagy az elhízás (Singh et al., 2009).

3.1.2 A fehérjék emésztése

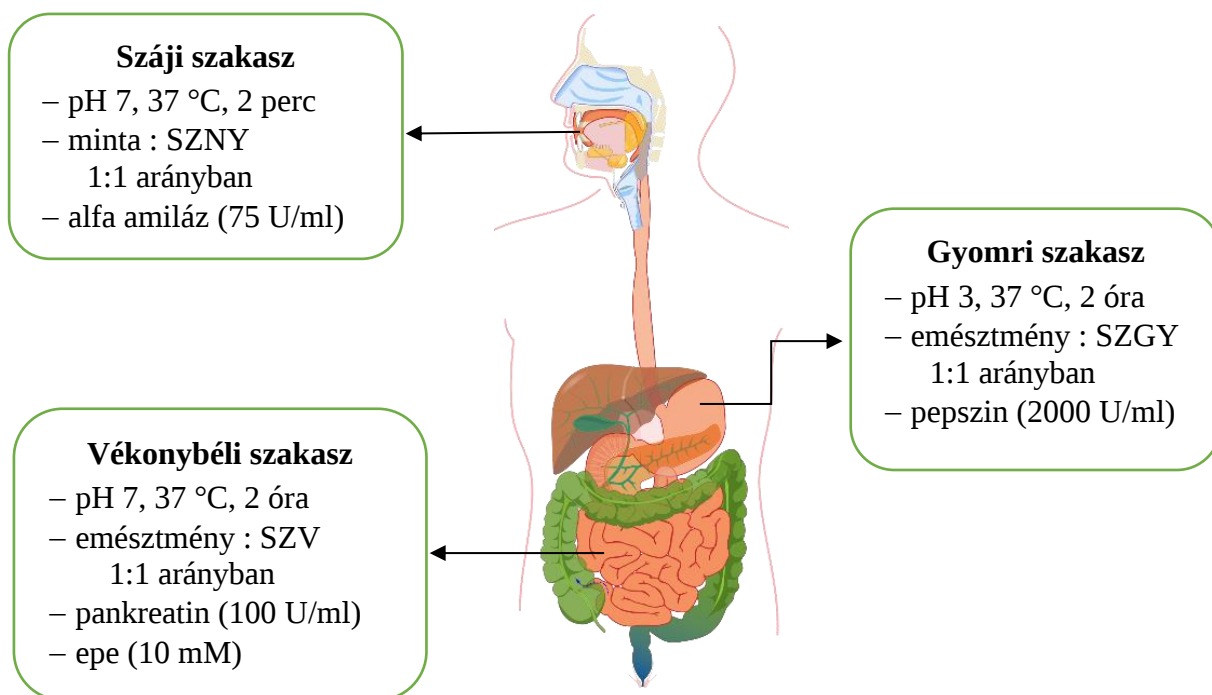
A fehérjék aminosavakból épülnek fel, melyek peptidkötésekkel összekapcsolódva alkotják a fehérjemolekulákat. Ezek az emberi szervezet építőanyagai, működéséhez nélkülözhetetlenek, emellett az anyagcsere és az enzimatikus folyamatok tekintetében töltenek be fontos szerepet. Léteznek nem esszenciális, félig esszenciális és esszenciális aminosavak. A nem esszenciális aminosavakat az emberi szervezet képes maga szintetizálni, azonban a félig esszenciális aminosavak kizárólag esszenciális aminosavból szintetizálódhatnak. Az esszenciális aminosavak, nevükből adódóan létfontosságúak. Az emberi szervezet nem tudja előállítani, így bevitelüket a táplálkozás révén biztosíthatjuk. Továbbá a zsírral ellentétben a szervezet a fehérjét nem képes raktározni. Emésztésük során, hasonlóan a lipidekhez, a felszívódásuk előtt szükséges, hogy a szervezet kisebb alegységeire bontsa ezeket, mely során aminosavak, di- és tripeptidek keletkeznek. Az emberi törzsfejlődés során, a fehérjék emésztésének folyamata kétlépcsőssé vált. Először az emésztőcsatorna endopeptidáz enzimei a polipeptidlánc belsejében levő meghatározott peptidkötéseket bontják, ezt követően pedig a hasnyálmirigy exopeptidáz enzimei végzik a láncvégi hasításokat. Az eddig le nem bomlott peptideket pedig a bélhámsejtek felszínén kötődő enzimek hasítják monomerekre (Fonyó, 2011). A gyomorban a pepszin hasítja a fehérjék belső peptidkötéseit, ezt követően pedig a vékonybélben a hasnyálmirigy által elválasztott tripszin, kimotripszin és elasztáz endopeptidáz enzimek a polipeptidlánc további belső peptidkötéseit képesek bontani. A hasnyál további enzimei, az exopeptidáz tulajdonságú karboxipeptidáz A és B a fehérjemolekulák C-terminális végéről képesek lehasítani aminosavakat. Így a fehérjék kisebb mennyiségben szabad aminosavakra és nagyobb mennyiségben rövid peptidekre bomlanak. Ezt követően a vékonybél bélbolyhaiban levő peptidázok bontják tovább a peptideket. Az amino- és dipeptidázok szabad aminosavakat, a dipeptidil-aminopeptidáz enzim pedig dipeptideket hasítanak le a peptidekről. A folyamat végén 3/4 részben szabad aminosavak és 1/4 részben di- és tripeptidek kerülnek ki, melyek már átjutnak a vékonybél hámsejtjein (Fonyó, 2011).

A fehérjék emésztését befolyásoló tényezőkről ismert eddigi tudásunk sokat gyarapodott, de még mindig vannak hiányosságok e területen. A fehérjék *in vitro* módszerrel történő vizsgálata hasznos információkkal szolgálhat olyan területeken, mint a fehérje eredetű allergének és a növényi alapú fehérjeforrások fogyasztása, melyre napjainkban a trendek, az egészségtudatosság és a fenntarthatóság miatt egyre nagyobb igény van (Mackie, 2020). Emellett számos kutató végzett kísérleteket a makroelemek, köztük a fehérjék *in vitro* emészthetőségével kapcsolatosan (Egger et al., 2019; Sousa et al., 2020;

Santos-Hernández et al., 2020). Köztük Bohn és munkatársai (2018), akik összevetették az *in vivo* és *in vitro* módszerek eredményeit, minek következtében megállapították, hogy az *in vitro* modell alkalmas a bioaktív peptidek gasztrointesztinális rendszerben történő felszabadulásának előrejelzésére és a különböző fehérjeforrások emészthetőségének becsléséhez és rangsorolásához is. Ez a módszer rengeteg új lehetőséget jelenthet mind a kutatók, mind pedig az élelmiszeripar résztvevői számára.

3.2 Az *in vitro* emésztésszimulációs modell

Az *in vitro* emésztésszimulációs módszerrel az emberi tápcsatorna összes vagy bizonyos szakaszainak modellezésére van lehetőség. Többféle összetételben lehetséges vizsgálni a humán emésztést, melyekben mind a száji, a gyomri, a vékonybéli és a vastagbéli szakasz modellezhető. Az úgy nevezett INFOGEST módszerrel az emberi tápcsatorna három szakaszának, a szájüregben, a gyomorban és a vékonybélben zajló emésztésnek a modellezése történik (2. ábra).



2. ábra: Az INFOGEST *in vitro* emésztésmodell szakaszai és azok paraméterei, ahol SZNY, SZGY és SZV a szervesetlen nyál szimuláns, szervesetlen gyomornedv szimuláns és szervesetlen vékonybélnedv szimuláns. Minekus és munkatársai (2014) publikációja alapján (saját ábra).

Ez az *in vitro* emésztésszimulációs módszer egy nemzetközi szinten elfogadott eljárás, mellyel számos kutató végzett már kísérletet. Közülük Minekus és munkatársai (2014) alkalmazták az INFOGEST v1.0 verzióját, melynek paramétereit részletesen leírták publikációjukban. Az 2. ábrán szemléltettem a pH, hőmérséklet, idő, ionkoncentráció és enzimaktivitás meghatározott értékeit, melyeket a kutatók dolgoztak ki munkájuk során. A kísérlet elvégzése előtt a modell során alkalmazott szimuláns emésztőfolyadékok elkészítése elengedhetetlen. Ezek a szervetlen nyál szimuláns (SZNY), a szervetlen gyomornedv szimuláns (SZGY) és a szervetlen vékonybélnedv szimuláns (SZV) oldatok. Az emésztőfolyadékokhoz a $\text{CaCl}_2(\text{H}_2\text{O})_2$ a kicsapódás lehetőségének fennállása miatt nem adható, ehelyett az emésztményhez szükséges adni az emésztés szakaszainak során. Továbbá az emésztés megfelelő fázisaiban hozzáadandó enzimek előkészítése is nélkülözhetetlen. Ezt követően végezhető el az emésztésszimuláció. A modell szakaszainak pH beállítása 1 M-os NaOH és 6 M-os HCl oldattal történik. Az emésztés előtt javasolt a pH ellenőrzése egy próbakísérletben, ami gyorsabb sav-bázis adagolást tesz lehetővé a tényleges kísérlet során.

Emellett fontos megemlíteni a módszer továbbfejlesztett verzióját (Brodkorb et al., 2019; INFOGEST v2.0), ahol javasolják a gyomri szakaszban a gyomor lipáz enzim (60 U/ml) alkalmazását.

Táplálkozás során célunk biztosítani a szervezet számára az összes működéshez szükséges anyagot, azonban keveset tudunk arról, hogy a bevitt táplálék valójában milyen mértékben és hogyan hasznosul az emésztés folyamán. Minden elfogyasztott élelmiszer, a tápanyagok, makro- és mikrokomponensek, vitaminok vagy akár a gyógyszerek hozzáférhetősége többek között azon múlik, hogy milyen formában jutnak az emberi szervezetbe, milyen változásokon mennek keresztül az emésztési folyamat során, illetve, hogy a megemésztett anyagok mekkora hányada képes felszívódni a szervezetben. Az Infogest modell végén kapott emésztményből számos fontos információ nyerhető a tápanyagok biológiai hozzáférhetőségével kapcsolatban. A modell segítségével mérhetővé válnak az élelmiszerben levő komponensek azon részei, melyek felszívódásra alkalmas állapotba kerültek az emésztésszimulációs folyamat során (Caballero, 2005), ezzel pedig a későbbiekben nagyban hozzájárulhat az eddigi ismereteink bővítéséhez a humán emésztés kapcsán. Emellett azonban fontos megjegyezni, hogy az emberi emésztés felettébb komplex rendszer, melyet nevéből adódóan az emésztésszimulációs módszerek kizárólag modellezni képesek. Bizonyos esetekben jelenleg teljes mértékben még nem képesek helyettesíteni az élő szervezetekben elvégzett, úgynevezett *in vivo* kísérleteket és a humán klinikai vizsgálatokat.

3.3 Biológiaiailag hozzáférhető zsírsavtartalom meghatározása gázkromatográfiás módszerrel

A zsíremészthetőség zsírsav-specifikus elemzését a tanszéken kialakított módszer segítségével végeztem (Tormási és Abrankó, 2021), melyet itt részletesen tárgyalok. A módszer három fő lépésből áll: i) zsírkivonás a vékonybél emésztményből, ii) származékképzés, iii) analízis és kalkuláció.

Az *in vitro* emésztésszimulációt követően az emésztményben lévő zsírsavak kizárólag kivonaton keresztül válnak elemezhetővé. Az erre a célra alkalmas extrakciós folyamatot Bligh és Dyer (1959) dolgozták ki, ami egy egyszerű és gyors módszer, mellyel lipidek extrakcióját és tisztítását végezték a mintában levő egyéb biológiai anyagoktól. Ennek során a rendszerhez megfelelő mennyiségű metanol és kloroform hozzáadását követően homogenizálták a mintát, így egy egyfázisú keveréket kaptak. További megadott mennyiségű kloroformmal és vízzel való hígítást követően kialakult a kétfázisú rendszer, melynek kloroformos rétege tartalmazta a lipideket, a metanol-víz réteg pedig a nem lipid komponenseket. A kloroform:metanol:víz rendszer arányai 2:2:1,8 térfogat arány szerint (Sündermann et al., 2016).

A kivonást követően a zsírok és olajok közvetlenül nem alkalmasak gázkromatográfiás mérésre, így illékony származékot szükséges képezni ezekből, ezáltal a műszer képes lesz analizálni a komponenseket. Általában a GC analízishez zsírsav-metil-észtereket (FAME, Fatty Acid Methyl Ester) képeznek belőlük. A FAME képzés egy lúg- és/vagy savkatalizált átmetilizációs folyamat metanol felesleg mellett. A FAME-k előállítása három féle módon lehetséges az MSZ EN ISO 12966-2:2017 számú „Zsírsav-metil-észterek gázkromatográfiás meghatározása” szabvány leírata alapján. Ezek közül kettőt fejtek ki részletesebben. A „gyors” átmetilizációs módszer lúgkatalizált körülmények között megvalósuló észterezési folyamat, mely során a mintában levő zsírsav-észterek átészterezése valósul meg. Ezzel a módszerrel a minta észteresített formában jelenlévő zsírsavainak (EFA, Esterified Fatty Acid) analízise lehetséges. Az eljárás során a szabad zsírsavak (FFA, Free Fatty Acid) elszappanosodnak, ebből adódóan a meghatározásuk nem lehetséges a „gyors” módszerrel, mivel nem alakulnak át (ISO 12966-2:2017). Az „általános módszer” viszont a mintában levő FFA-kat, és a glicerinésztereket egyaránt átalakítja, ezáltal a mintában levő összes zsírsavtartalom (TFA, Total Fatty Acid) mérhetővé válik. A módszer során lúg- és savkatalizált körülmények között történik a zsírsavak metilizése. A lúg alkalmazása a glicerinészterek átészterezését

eredményezi, mely során FAME-k képződnek, továbbá a FFA-kat elszappanosítja, amelyek pedig savkatalizált reakcióval FAME-ké alakíthatóak (ISO 12966-2:2017).

Az emésztés során felszabadult zsírtartalmat az adott szabad zsírsavak és az összes zsírsav mennyiségének a hányadából, a következő képlet segítségével számítható ki:

$$FFA = TFA - EFA [-];$$

$$\text{Hozzáférhető zsírtartalom} = \frac{\sum FFA}{\sum TFA} * 100 [\%]$$

1-2. egyenlet: Hozzáférhető zsírtartalom számításának alap képletei, ahol az FFA (Free Fatty Acid) szabad zsírsavtartalom, a TFA (Total Fatty Acid) összes zsírsavtartalom és az EFA (Esterified Fatty Acid) észterezett zsírsavtartalom.

Emellett megadható a zsírsavak felszabadulási aránya, melynek értéke az egyes zsírsavak szabad zsírsavként való megjelenésének arányát adja meg.

$$RR = \frac{FFA}{TFA} [-]$$

3. egyenlet: Egyedi zsírsavak felszabadulási arányának számítása, ahol RR (Release Ratio) felszabadulási arány, FFA (Free Fatty Acid) szabad zsírsavtartalom és TFA (Total Fatty Acid) összes zsírsavtartalom.

Zhu és munkatársai (2013) különböző, köztük tejzsírral készített emulziókból hasnyálmirigy lipázzal végzett *in vitro* emésztést követően a mintákból felszabadult szabad zsírsavakat követték nyomon gázkromatográfiásan. Kutatásuk során arra a következtetésre jutottak, hogy a telített (C16:0 és C18:0), illetve a rövidebb szénláncú zsírsavak gyorsabban szabadulnak fel, mint a telítetlen (C18:1n-9, C18:2n-6 és C18:3n-3) és hosszú szénláncú zsírsavak. Emellett a többszörösen telítetlen zsírsavak lassabb felszabadulását tapasztalták munkájuk során. Megállapították, hogy a rövid szénláncú zsírsavakból álló lipidek emésztése gyorsabban és nagyobb mértékben zajlik, összevetve azokkal a lipidekkel, melyeket hosszabb szénláncú zsírsavak alkotnak.

3.4 Biológiaiailag hozzáférhető fehérjetartalom vizsgálata spektrofotometriás módszerrel

Az emésztésmóddal által kapott emésztmény fehérjetartalma közvetlenül nem mérhető, hiszen számos egyéb, a mérés szempontjából zavaró komponens tartalmaz az elegy. Ahhoz, hogy analizálni lehessen, el kell választani a mérendő, emésztett peptideket és aminosavakat. Az izolációs módszert Polson és munkatársai (2003) dolgozták ki. Munkájuk során többféle fehérje kicsapásához alkalmazott szerrel dolgoztak, savakkal, fémionnal, szerves oldószerekkel és só vegyületekkel. Köztük TCA-val (triklórecetsav), metafoszforsavval, cink-szulfáttal, acetonitrillel, etanollal, metanollal, alumínium-kloriddal és ammónium-szulfáttal. Ezeket különböző arányokban vérplazmához adták, és a kicsapás mértékét statisztikailag elemezve megállapították, hogy acetonitril vagy metanol 4:1 arányú hozzáadásával, 98% feletti kicsapási arány érhető el, így ezeket vélték megfelelőnek a módszerhez. Az így kapott oldószer által kicsapott emésztmény fehérjetartalmának mérésére több módszer ideális lehet, melyeket Sousa és munkatársai (2023) elvégeztek és összevetettek. Az összes nitrogén alapú Kjeldahl módszer; a savas hidrolízist követő, HPLC-vel történő egyedi aminosav meghatározás és az összes szabad primer aminok ($R-NH_2$) meghatározása OPA módszerrel, ugyancsak savas hidrolízis után. A három módszer között szignifikáns különbséget nem találtak. Az utóbbi, úgynevezett OPA (orto-ftáldaldehyd) módszert Nielsen és munkatársai (2001) dolgozták ki az összes amino-csoport mennyiségi meghatározásának céljából. Előnyei, hogy végrehajtása egyszerű, spektrofotometriásan mérhető, könnyen értékelhető, továbbá nem igényel bonyolult és hosszadalmas mintaelőkészítést, összevetve a Kjeldahl vagy az aminosav alapú módszerekkel. Hátránya viszont, hogy a vizsgált minta aminosavairól kvalitatív információt nem szolgáltat. A módszer azon alapul, hogy a fehérjék amino-csoportjai, a DTT (ditiotritol) szulfanil csoportja és az orto-ftáldaldehyd között zajló reakció színes vegyületet képez, mely spektrofotometriásan kimutatható. A spektrofotometriás mérés során kapott abszorbancia értékek segítségével számszerűsíthető a mért minta emészthető fehérjetartalma.

Az előbbieken tárgyalt OPA módszerrel a minta összes szabad aminosavtartalma és a benne levő, de fel nem bomlott di- és tripeptidek mennyisége határozható meg. Fontos azonban megemlíteni, hogy a metanolos fehérje izolátum további savas hidrolízis alá vetve alkalmas a mintában levő összes aminosav mennyiségének meghatározásához. Ennek végrehajtásához a

mintát savas hidrolízis alá vetve, a benne levő di- és tripeptidek felbomlanak, ezáltal mérhetővé válnak. Ezt követően az aminosavak mennyisége az OPA módszer szerint határozható meg.

A számított eredmények révén a fehérjék emészthetősége a következő képlet segítségével határozható meg:

$$IVPD\% = \frac{\text{emésztményből mért fehérjetartalom}}{\text{minta kiindulási fehérjetartalma}} * 100 [\%]$$

4. egyenlet: IVPD% (*In Vitro* Protein Digestibility) az emészthető fehérjetartalom számolása.

Kopf-Bolanz és munkatársai (2012) tejtermék *in vitro* emésztését követően a vizsgált mintából több élelmiszerkomponenst mértek, köztük a felszabaduló fehérjéket mérték OPA módszerrel, majd HPLC-vel elemezték az egyedi aminosav mennyiségeket. A kutatásuk során megállapították, hogy az általuk végzett módszerekkel a fehérjék körülbelül 54%-a di- és tripeptidekre, ennek 10%-a pedig szabad aminosavakra bomlott le.

Ugyancsak *in vitro* emésztésszimulációs kísérlettel, azonban marhahús, illetve marhahúst helyettesítő növényi alapú készítmény összehasonlításával vizsgálták Zhou és munkatársai (2021) ezen termékek szerkezetének, fizikai, kémiai tulajdonságainak, lipidemésztésének és fehérjeemésztésének alakulását. Az Infogest modellel emésztett minták fehérjeemésztését OPA módszerrel elemezték, mely során azt az eredményt kapták, hogy a marhahús fehérjéinek összesen mintegy 85,2%-a emésztődött meg a gyomor és vékonybél fázisaiban. Továbbá megállapították, hogy a növényi alapú termék összetételéből, illetve a rostok jelenlétéből adódóan a gyomri szakaszban gyorsabban, a vékonybéli szakaszban azonban lassabban emésztődtek a készítményben levő fehérjék. A kutatók szerint megfelelőnek bizonyult az OPA módszer az emésztésszimuláció során a fehérje-hidrolízis kvantitatív meghatározására. Az ilyen típusú kutatások hasznosak lehetnek a későbbiekben a növényi alapú hústermékek és más élelmiszerek fejlesztése szempontjából.

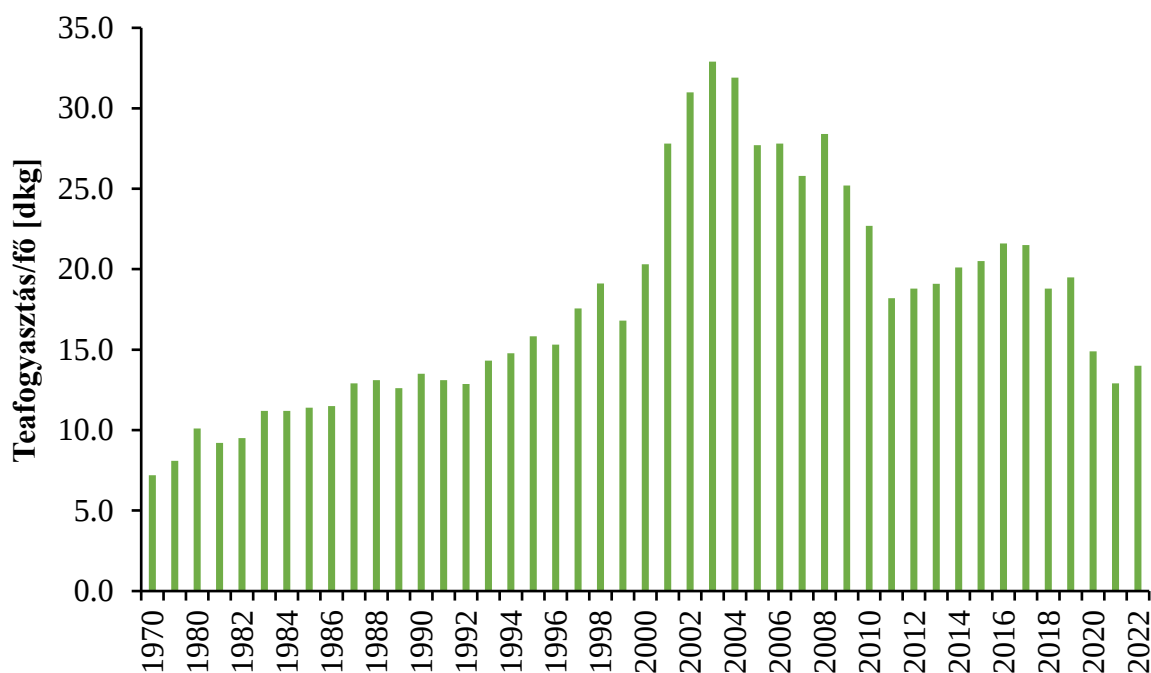
3.5 A tea (*Camellia sinensis*) általános jellemzői és élettani hatásai

A tea eredetéről számos történet olvasható, a legrégebbi az időszámításunk előtti 2700-as évekig nyúlik vissza, azaz közel 5000 éve ismeri a teát az emberiség. Európába feltehetőleg már a 16. század óta érkeztek teaszállítmányok, azonban ismertté és közkedvelté csak a következő évszázadban vált. A tea a világ második legnépszerűbb itala az ivóvizet követően (Saber, 2010). A teacserje szárított leveleiből vagy rügyeiből készült italt a világ minden táján eltérő módon készítik és fogyasztják. Ahány ország és eltérő kultúra, annyi féle elkészítési móddal találkozhatunk.

A világ vezető teatermelői Kína, India, Kenya és Sri Lanka (Babu et al., 2023). Az általunk ismert teák mindegyike egy faj, a *Camellia sinensis* növényi részeiből készül. Különbözőségeik a növényi részek feldolgozásából adódnak. A tea előállításának folyamata valójában több, mint a levelek szedése és szárítása. Számos lépésből állhat egy-egy tea feldolgozása, mint a szedés, fonnyasztás, sodrás, oxidálás, fermentálás, szárítás, válogatás és a zúzás, őrlés. Attól függően, hogy milyen feldolgozási folyamatokon megy keresztül a tea, úgy különböztethetünk meg többféle tea típust, mint például a fekete, zöld, fehér, matcha, sencha, pu'er, oolong és még sok más fajtát (Gaylard, 2015). Példaképp a zöld tea készítésekor a frissen szedett fiatal hajtásokat fonnyasztást követően gőzölik, vagy serpenyőben sűtik, ezzel megakadályozva az enzimatisz folyamatokat és az oxidációt. A fekete tea előállítása során pedig, a frissen szedett, azonban már érettebb tealeveleket célzottan hagyják oxidálódni, mely során kialakul a levelek mélybarna színe és íze intenzívebbé, karakteresebbé válik (Khan és Mukhtar, 2013). A tealeveleket fonnyasztást követően minden esetben sodorják, ezzel elősegítve a további oxidációs folyamatokat. A világszerte termelt tea 78%-a fekete tea, melyet főként a nyugati országokban fogyasztanak, 20%-a zöld tea, melyet az ázsiai országokban kedvelnek és 2%-a oolong tea, mely egy részlegesen fermentált fajta, amit főképpen Dél-Kínában készítenek (Khan és Mukhtar, 2007).

Egy 2016-os statisztika szerint, melyben a nemzetközi teafogyasztást mérték fel, Törökországban fogyasztottak legnagyobb mennyiségben teát, 3,16 kg-ot fejenként. Őket követte Írország és az Egyesült Királyság közel 2-2 kg-nyi mennyiséggel (Internet 1). Ezt megerősítette egy, a FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations) által készített 2020-as évben készült felmérés, amely szerint az egy főre jutó éves fogyasztás első és második helyén Törökország és Írország áll, őket viszont Marokkó és Kína követi (FAO, 2022). Ezek mellett a fogyasztási mennyiségek mellett hazánk lakosságának fogyasztása eltörpül.

A Központi Statisztikai Hivatal felmérése alapján a 3. ábrán mutatom be a magyarországi tea fogyasztás alakulását a rendelkezésre álló elmúlt 52 évre vonatkoztatva. Jól látható, ahogy a globalizáció hatására a múlt század második felében évről évre növekvő tendenciát mutatott a fogyasztás mértéke, azonban ez a növekedés a 2000-es évek elején megtorpant. Az ezt követő 22 évben hullámzó tendenciát mutatott a fogyasztás. Ebben az időszakban átlagosan 22,7 dkg mennyiségű teát fogyasztottunk fejenként.



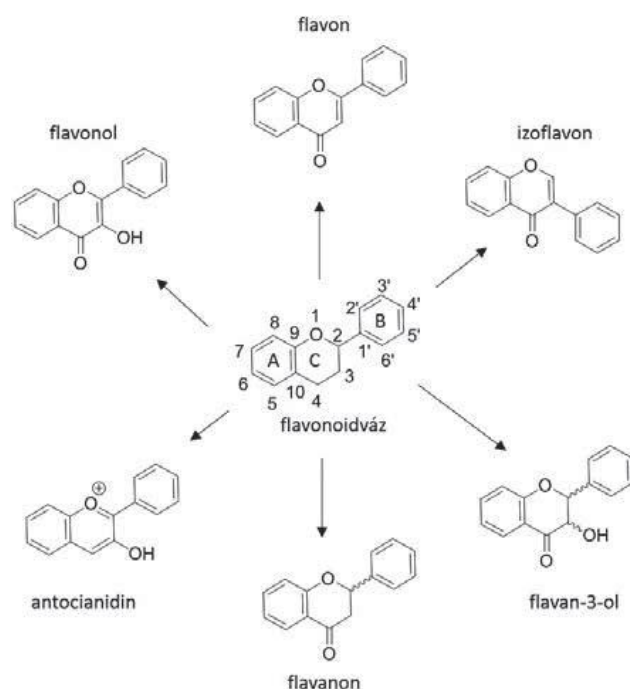
3. ábra: Az egy főre jutó teafogyasztás alakulása Magyarországon (1970-2022) (KSH, 2024)

A tea rengeteg jótékony hatású összetevőt tartalmaz, ilyenek az antioxidánsok, polifenolok, L-teanin és katechinek, melyek elősegítik az immunrendszer erősítését (Gaylard, 2015). Több kutató a teák polifenol tartalmával hozta összefüggésbe az ital jótékony hatásait (Khan és Mukhtar, 2007; Khan és Mukhtar, 2018; Zhang et al., 2019; Yan et al., 2020), hiszen ezek antioxidáns hatással bírnak. A polifenolok általánosságban gyümölcsökben, zöldségekben és más növényekben fellelhető fitokémiai anyagok egyedülálló csoportja. Aktivitásuk a funkcionális csoportjaiknak tulajdonítható, hiszen ezek képesek felvenni a szabad gyökök negatív töltését (Watson et al., 2014). Fogyasztásuk egészségre gyakorolt hatását sok területen kutatják, köztük a szív- és érrendszeri betegségek, a magas vérnyomás, a cukorbetegség, a metabolikus szindróma, az elhízás és a rák kapcsán (Durazzo et al., 2019).

3.6 A polifenolok és a teában levő flavanolok és csersavak bemutatása

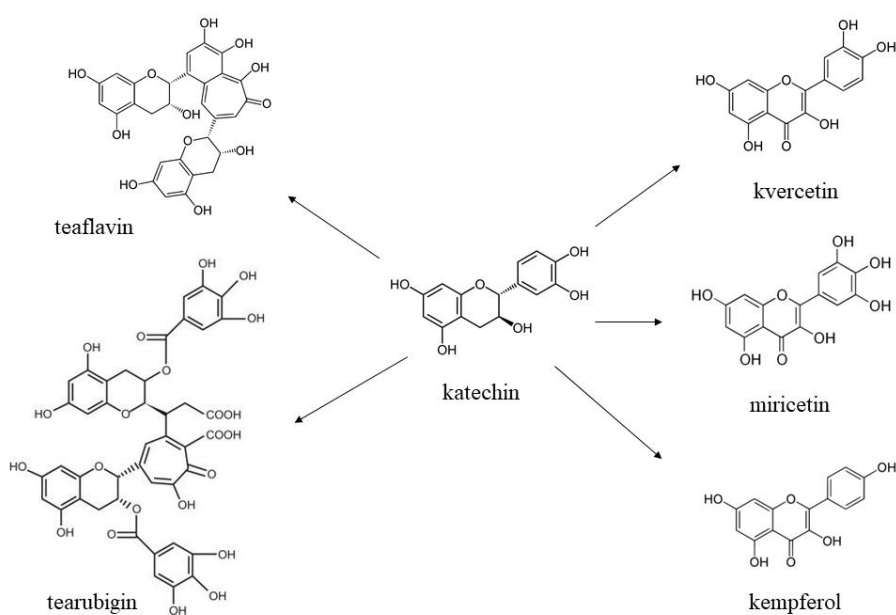
A polifenolok a növények másodlagos anyagcseretermékei. Megtalálhatóak többek között zöldségekben, gyümölcsökben, teljes kiőrlésű gabonákban, csokoládében, teában, kávéban és borokban (Tsao, 2010). A polifenolokban gazdag étrend segíthet megőrizni egészségünket, hiszen számos jótékony hatásuk bizonyított. Erős antioxidáns és gyulladáscsökkentő tulajdonsággal rendelkeznek és segítenek a szív- és érrendszeri betegségek megelőzésében (Potì et al., 2019).

Jelenleg több, mint 8000 fenolos vegyületet különböztetünk meg, melyek közül több, mint 4000 flavonoidot már azonosítottak. Kollektívan mindegyik tartalmaz legalább egy aromás gyűrűt, melyhez egy, vagy több hidroxilcsoport kapcsolódik. A polifenolok legtöbbször cukorszármazékként fordulnak elő a növényekben. Ez a glikoziláció teszi lehetővé, hogy ebben az állapotban elraktározzák sejtjeikben a növények. Sokféleségük és a növényekben való széles körű elterjedésük azonban megnehezíti a kategorizálásukat. Csoportosításuk eredetük, kémiai szerkezetük és biológiai funkciójuk szerint történik (Tsao, 2010). Fenol egységeik és kötéseik alapján flavonoidokat és fenolsavakat különítenek el. Ezenfelül a flavonoidok további hat alosztályba sorolhatók: flavanonok, flavanolok, flavonolok, izo-flavonok, flavonok és antocianidinek. A flavonoidok és a hat alosztály alap kémiai szerkezete az 4. ábrán látható.



4. ábra: A flavonoid alapváz és a hat alosztály alapváza (Abrankó, 2018)

Ezek közül a tea polifenolok főként a flavanolok alosztályába tartoznak, melyeket szokás flavan-3-oloknak is nevezni. A zöld és fekete teák polifenol tartalma hasonló, azonban a részben eltérő feldolgozás miatt különféle flavonoidokat tartalmaznak. A zöld tea legjelentősebb polifenolja a katechin, a fekete teában pedig fellelhető katechin, teaflavin, tearubigin, kvercetin, miricetin és kempferol (Dai, 2022), melyeket a 5. ábrán szemléltetnek. A fekete tea annak következtében rendelkezik heterogén polifenolokkal, ugyanis a tealevelek oxidációja során a zöld teában levő bizonyos katechinek a polifenol-oxidáz enzim hatására komplex vegyületekké módosulnak. Teaflavinokká, illetve tearubiginekké alakulnak át, melyek a fekete tea keserű ízeért és sötét színéért felelősek (Khan és Mukhtar, 2013).



5. ábra: A zöld teában található katechin és az oxidáció során ebből keletkező, fekete teában fellelhető flavanolok. A nyilak az oxidáció folyamatát és az átalakulást jelölik (saját ábra).

A csersavak, másnéven tanninok, a polifenolok közé tartoznak, melyeket további két csoportra különítenek el, a kondenzált és a hidrolizálható tanninok. A kondenzált tanninok, melyeket proantocianidineknek is neveznek, két vagy több flavan-3-ol, általában katechin és epikatechin oligomerjei vagy polimerjeiként fordulnak elő, ebből adódóan rendkívül összetett komponensek (Barbehenn, 2011). A tanninok felelősek a magas csersavtartalommal rendelkező ételek és italok fanyarságáért és a szájüreget érintő összehúzó hatásért, amit azzal okoznak, hogy a nyálban levő fehérjékkel, például a mucinnal, kölcsönhatásba lépnek és komplexet képeznek (Gombau et al., 2019).

További kérdést vet fel, hogy elbomlanak-e az emésztés során a polifenolok. Valójában biohasznosulásuk alacsony, ami azzal magyarázható, hogy a természetben és az élelmiszerekben főképp glikozilált vegyületeként jelennek meg, melyeknek korlátozott a tápcsatorna felső szakaszában való felszívódása. A középső és alsó szakaszban, a vékonybélbe és főképp a vastagbélbe kerülve azonban a mikrobióta enzimatis folyamatok révén a polifenol glikán egysége lehasad, úgynevezett aglikán szabadul fel, amely akár felszívódhat vagy további metabolizmuson mehet keresztül (Marín, 2015; Potì et al., 2019).

3.7 A polifenolok és a tea cersavtartalmának hatása az emberi emésztésre és a tápanyagok hozzáférhetőségére

A polifenolok szinergikus vagy antagonisztikus hatással rendelkezhetnek, példaképpen hatással lehetnek a tápanyagok biológiai hozzáférhetőségére és felszívódására pozitív, illetve negatív irányba is. Annak ismerete, hogy ezeket milyen mértékben befolyásolják, hasznos lehet az egészséges étrend kialakításában és a tápanyagok felszívódásához szükséges megfelelő feltételek biztosításában. Ezen felül, az élelmiszerkomponensek hozzáférhetőségének és biohasznosulásának alaposabb ismerete lehetővé tenné az emberek számára, hogy adott tápanyagokat olyan formában vagy kombinációban vigyenek be a szervezetükbe, hogy a lehető legmagasabb felszívódást lehessen elérni. Például a tea polifenol tartalma gátolhatja a vas felszívódását a szervezetben a közöttük kialakuló kölcsönhatás következtében, ezért nem javasolt a vasban gazdag ételeket teával együtt fogyasztani (Alexandropoulou et al., 2006). Ellenben a teában levő polifenolok szinergikus hatásúak lehetnek bizonyos antioxidáns tulajdonságú anyagokkal, például az E és C vitaminnal, ebből adódóan fokozhatják egymás hozzáférhetőségét, felszívódását és hasznosulását, azáltal, hogy segítik a regenerálódást és a stabilitás megőrzését az emésztés során (Dai et al., 2008; Peters et al., 2010).

Összességében a polifenolok fontos szerepet töltenek be az emberi egészség megőrzésében, azonban az emésztőrendszerre gyakorolt hatása tudományos körökben vitatott, ezért további kutatások segíthetnek megérteni, hogyan képesek befolyásolni az emberi életfolyamatokat.

Több kutató foglalkozott már azzal, hogy a teában fellelhető polifenolok rengeteg jótékony tulajdonsággal rendelkeznek és azt, hogyan befolyásolják az emésztőenzimeket, köztük a hasnyálmirigy lipáz működését (Nakai et al., 2005; Glisan et al., 2017), illetve a zsírok emészthetőségét (Koo és Noh, 2007; Gondoin et al., 2010). Példaképp Griffiths (1986) kutatása szerint a természetben előforduló polifenolok, főképpen a növényekből izolált cersavak

in vitro körülmények között bizonyítottan gátolják számos emésztőenzim, köztük az alfa-amiláz, a tripszin és a hasnyálmirigy lipáz működését.

Juhel és munkatársai (2000) kutatásuk során a zsírsavak emészthetőségét tanulmányozták. Rövid, illetve hosszú szénláncú zsírsavak szubsztrátjaival kísérleteztek, mely során az általuk használt 25% katechineket tartalmazó zöldtea kivonat hatását vizsgálták az emésztőenzimre. Be is bizonyították, hogy a tea kivonat gátló hatást fejt ki mind a gyomor, illetve a hasnyálmirigy lipázra, ami arra engedte őket következtetni, hogy a tea polifenol tartalma jelentősen csökkentheti a zsíremészthetőséget a metabolizmus során. Továbbá nem zárták ki azt sem, hogy a tea kivonat más összetevői is részt vehetnek a gátló hatás kialakításában.

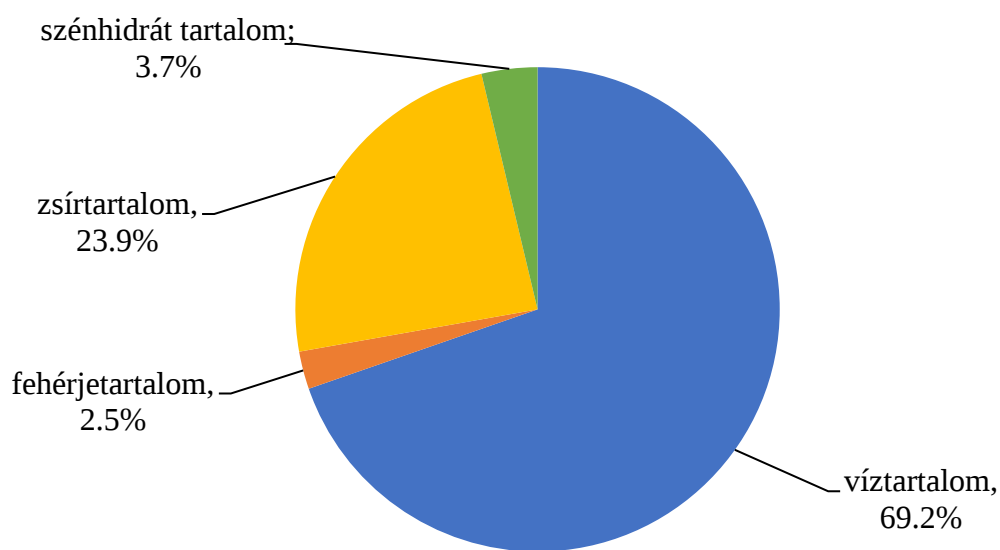
Azonban, míg az energiadús élelmiszerkomponensek, mint a szacharidok és lipidek emésztésére kifejtett gátló hatásuk előnyösnek tekinthető egy diéta vagy étrend során, addig a fehérjék emésztésére gyakorolt gátlásuk a legtöbb esetben kedvezőtlen, mert ezáltal csökken az aminosavak hasznosulásának mértéke (Cirkovic Velickovic és Stanic-Vucinic, 2018). Qie és munkatársai (2021) ezzel kapcsolatosan végeztek egy kutatást. *In vitro* emésztésszimulációs modellben vizsgálták a tea polifenolok, főképpen a katechinek, a tejfehérjék és az emésztésszimuláció során alkalmazott emésztőenzimek között fellépő kölcsönhatásokat. Beigazolódott a feltevésük, hogy a tea katechinek gátló hatást fejtenek ki a fehérjebontó pepszin és tripszin enzimekre. Minden bizonnyal ez okozhatja a proteázok aktivitásának csökkenését, ami pedig a fehérjeemészthetőség redukálódásához vezet. Ennek következtében fontos és hasznos az *in vitro* emésztésszimulációs kísérletek végzése, hiszen számos új információval gazdagodhatunk azon téren, hogy az élelmiszerek és más komponensek közötti kölcsönhatások hogyan befolyásolják a tápanyagok emészthetőségét és felszívódását az emberi szervezetben. Ez a modell segíthet definiálni olyan élelmiszereket, összetevőket, komponenseket, melyek együttesen jótékony, avagy kedvezőtlen hatással lehetnek a tápanyagok biohasznosulására.

3.8 Mátrixok jellemzői

Munkám során kétféle modell mátrixon, tejszín és sült marhahús mintákon vizsgáltam különböző cseszavtartalmú fekete teák zsír- és fehérjeemésztésre kifejtett hatását. *In vitro* emésztésszimulációt követően a tejszínben és sült marhahúsban levő zsírok emészthetőségét szabad zsírsavtartalom meghatározásával vizsgáltam, majd a sült marhahús fehérjéinek emészthetőségét a hozzáférhető fehérjetartalom kvantitatív vizsgálatával végeztem. Ebből kifolyólag a két élelmiszer mátrixot részletesebben bemutatom.

3.8.1 Tejszín

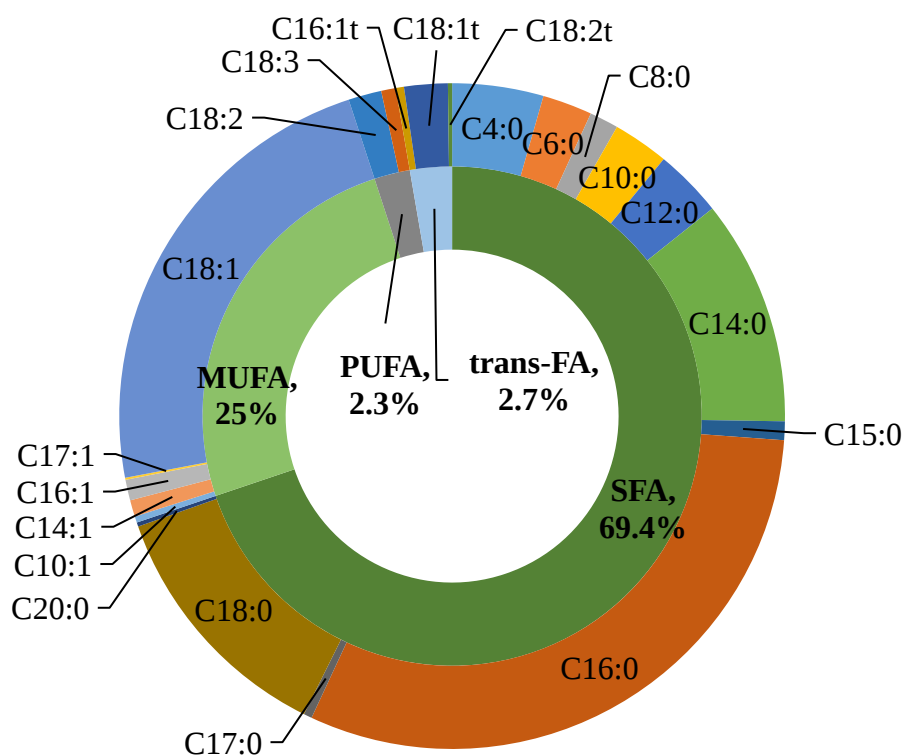
A tejszín „zsír a vízben” típusú emulzió (6. ábra), melyet tejből fölözéssel vagy más koncentrálnálási eljárással készítenek és szükség szerint homogenizálnak. Különböző zsírtartalommal gyártják ezeket a termékeket, ez szabja meg, hogy a készítmény félzsíros, hagyományos vagy zsírdús tejszínként, habtejszínként vagy tejszínhabként kerülhet a boltok polcaira, melyet a Magyar Élelmiszerkönyv 1-3/19-1 számú előírása a tejtermékekről rendeletben fogalmaztak meg (Magyar Élelmiszerkönyv, 2021).



6. ábra: A tejszín átlagos összetétele 100 g termékre vonatkoztatva (McCance és Widdowson, 2014)

Munkám során a fekete tea kivonatok hatását a tejszín esetében a minta zsíremészhetőségére vonatkozóan vizsgáltam. Ebből adódóan a továbbiakban a tejben található zsírok sajátosságait fogom jellemezni.

A tejben levő zsír a természetes zsírok között az egyik legösszetettebb, melyet a 7. ábrán szemléltetnek. Körülbelül 400 eltérő zsírsavat tartalmaz, ami közel 70%-ban telített zsírsavakból tevődik össze, melyek 11%-a rövid szénláncú glicerol, ezeknek pedig közel fele vajsav. A tejszír további alkotói 25%-ban egyszeresen telítetlen, 2,3%-ban pedig többszörösen telítetlen zsírsavakból állnak. A benne levő transzzsírsavak aránya körülbelül 2,7% (Lindmark Månsson, 2008). Ezek aránya nagyon eltérő lehet és rengeteg tényezőtől függhet, például a tehén fajtája, a tenyésztés, a tartási körülmények, a takarmányozás, a laktációs időszak vagy akár az évszak is befolyással lehet a tej zsírsav összetételére.

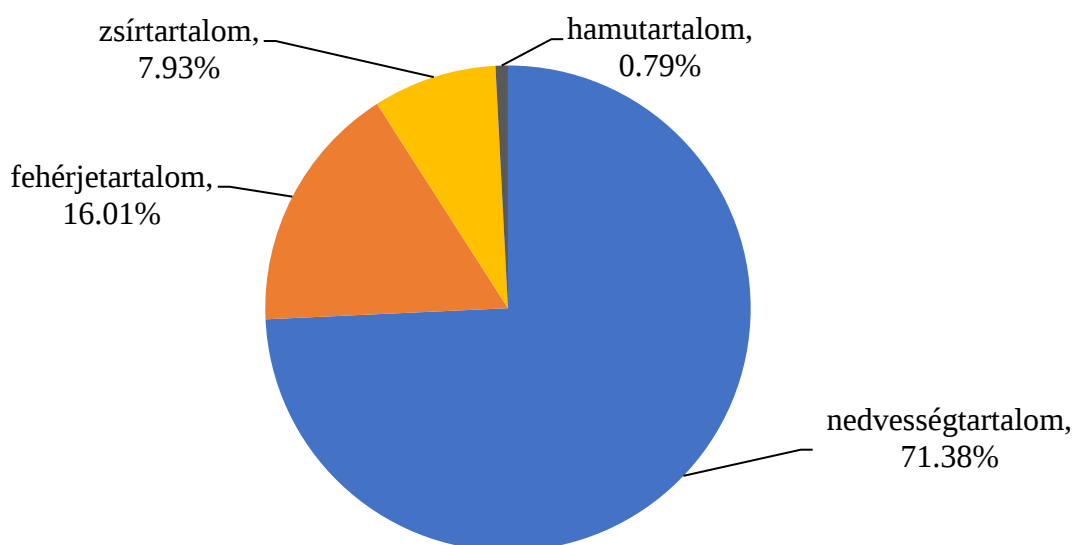


7. ábra: A tej átlagos zsírsav összetétele Lindmark Månsson (2008) svéd kutató munkája alapján, ahol SFA (Saturated Fatty Acid) a telített zsírsavakat, MUFA (Monounsaturated Fatty Acid) az egyszeresen telítetlen zsírsavakat, PUFA (Polyunsaturated Fatty Acid) a többszörösen telítetlen zsírsavakat és trans-FA (Trans Fatty Acid) a trans-zsírsavakat jelöli.

Az előbbiekben említett, tejben megtalálható zsírsavak általában nem különálló molekulaként vannak jelen, hanem triacilglicerolok formájában, melyeket egy molekula glicerín és három molekula zsírsav észtere alkot. Ezek általában zsírgolyócskák, másnéven micellák formájában vannak jelen a tejben.

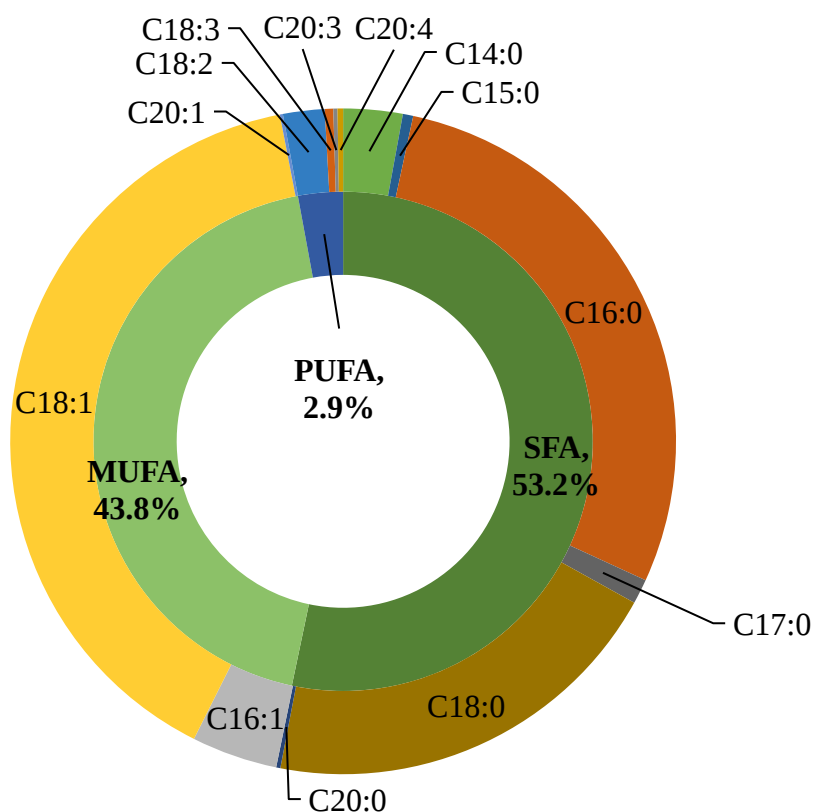
3.8.2 Marhahús

Az általam vizsgált másik mátrix a sült marhahús volt, melynek első sorban zsíremészhetőségét, továbbá fehérje-emészhetőségét vizsgáltam, így néhány mondatban ismertetem. Az Európai Parlament és Tanács 853/2004/EK rendelete (EP, 2004) szerint húsnak a szarvasmarhafélék, sertés, juh- és kecskefélék, baromfik, nyúlfélék és vadon élő állatok ételmezési célra alkalmas részei számítanak. A húsok tekintetében elkülöníthetünk fehér és vörös húsokat, melyek közül a marhahús a vörös húsok közé sorolandó. A vörös húsok fehérjetartalma alacsonyabb, zsírtartalmuk magasabb, azonban fontos forrásai olyan ásványi anyagoknak és vitaminoknak, mint például a vas, cink, szelén, A vitamin és B vitaminok, főképpen a B12 vitamin (McAfee, 2010). A marhahús átlagos összetételét a 8. ábrán mutatom be.



8. ábra: A marhahús átlagos összetétele százalékban kifejezve (Hammad et al., 2019)

A húsban található zsír két módon jelenhet meg, felületi zsiradék, illetve intramuszkuláris zsír formájában, amely a hús márványozottságát adja (Zsarnóczy, 2009). A marhahús izomszöveten belüli zsírsavainak közel 50%-a telítetlen zsírsav, köztük egyszeresen telítetlen zsírsavak, főképpen olajsav, és körülbelül 4%-ban többszörösen telítetlen zsírsavak, mint a linolsav és az alfa-linolénsav, melyek esszenciális zsírsavak, azaz a szervezetünk nem képes előállítani ezeket, ebből adódóan a bevitelüket megfelelő táplálkozással szükséges fedezni (McAfee, 2010; Caballero, 2005). Ezenkívül ez esetben is fontos megjegyezni, hogy adott hús zsírsavösszetétele több változótól függhet, például az állat kora, neme, fajtája, a tartási körülmények vagy a takarmány típusa hatással lehet rá. Példaként Holló és munkatársai (2000) a fajta és az élősúly hatását vizsgálták tehenek húsának zsírsav- és aminosav-összetételére, illetve a fehérje biológiai értékére. Munkájuk során összesen 38 állat, 21 magyar tarka és 17 holstein fríz fajtájú szarvasmarha húsát elemezték. Ennek kapcsán vizsgálták az állatok húsának zsírsavösszetételét, melyet a 9. ábrán mutatok be.



9. ábra: Marhahús átlagos zsírsav összetétele magyar kutatók munkája alapján (Holló et al., 2000), ahol SFA (Saturated Fatty Acid) a telített zsírsavakat, MUFA (Monounsaturated Fatty Acid) az egyszeresen telítetlen zsírsavakat, PUFA (Polyunsaturated Fatty Acid) a többszörösen telítetlen zsírsavakat és trans-FA (Trans Fatty Acid) a trans-zsírsavakat jelöli.

A marhahús esetében fontos megemlíteni, hogy húsának a nedvességtartalmán kívül jelentős hányadát, 16%-át teszi ki fehérjetartalma (8. ábra), ebből adódóan a zsíremészthetőség mérését követően a minta fehérjeemészthetőségének vizsgálatát is elvégeztem. Fontos megemlíteni, hogy a tej a húsok mellett ugyancsak kiváló fehérjeforrás, azonban 2,5%-os fehérjetartalma (6. ábra) miatt ezt a mintát nem véltem alkalmasnak a fehérjeemészthetőség vizsgálatára.

Az emberi táplálkozásban a húsok és az állati eredetű fehérjék tekinthetők a legfontosabb fehérjeforrásoknak. A növényekkel ellentétben a húsok, a halak, a tej és a tojás megfelelő arányban és mennyiségben tartalmazzák a szervezet számára létfontosságú esszenciális aminosavakat, ebből adódóan nevezzük ezeket teljes értékű fehérjéknek. Emellett az állati eredetű fehérjék biológiai értéke is jóval magasabb összehasonlítva a növényi eredetű fehérjék adataival. A biológiai érték azt mutatja meg, hogy 100 g élelmiszer eredetű fehérjét elfogyasztva, hány gramm marad meg és képes beépülni a szervezetbe (Njaa, 1963). Példaként míg a tojás biológiai értéke 100, a marhahúsé 88-92, a sertéshúsé 84, a baromfihúsé 82, addig a burgonyáé 73, a hüvelyeseké általánosságban 56-72, a rizsé pedig 63-67 között van (Rodler, 2005). Fontos megjegyezni, hogy ezeket az értékeket *in vivo* kísérletek során határozták meg, így az *in vitro* adatokkal egyáltalán nem hasonlíthatóak össze. A biológiai érték a fehérjeminőség leírásának az egyik legátfogóbb mutatója, amelyet *in vitro* vizsgálattal nem lehet meghatározni.

4. ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK

4.1 Felhasznált anyagok

4.1.1 Vizsgálatok során használt tea fajták és élelmiszermatrixok

Hat eltérő fekete teafajtával végeztem a vizsgálatokat, melyek előzetesen a csersavtartalom alapján kerültek kiválasztásra. A kiválasztott fekete teák csersavtartalmának mérése a Magyar Szabványügyi Testület MSZ 20685:1980 Tea Fizikai És Kémiai Vizsgálata (Physico-Chemical Evaluation of Tea) 1980 szabványos módszer alapján történt meg. A teafajtákat, sorszámukat, származási helyüket, csersavtartalmuk mértékét és értékét az 1. táblázatban adtam meg.

1. táblázat: A vizsgálatok során használt fekete teafajták és csersavtartalmuk

Minta sorszám	Teafajta	Származási hely	Csersavtartalom	Értéke [mg/g]
8	Himalayan Spring FF	Nepál	magas	166,3
56	644 Himalayan Amber FF 2020	Nepál	magas	161,3
2	Assam TGFOP1	India	közepes	127,7
53	620/2019 Himalayan Royal Handcrafted Tips	Nepál	közepes	130,2
4	Yunnan Black Premium	Kína	alacsony	102,4
11	Benifuki	Japán	alacsony	87,7

A vizsgálatokat Tolle 30% zsírtartalmú habtejszínnel és 20% zsírtartalmú marhahússal végeztem.

4.2 Módszerek

4.2.1 Tea kivonatok elkészítése

A tea kivonat elkészítéséhez 0,2000 g teamintát bemérő csónakba mértem Ohaus Adventurer Pro analitikai mérlegen, és körülbelül 30 ml desztillált vízzel maradék nélkül egy 50 ml-es gömblombikba mostam. A lombikot homokfürdőn forraltam visszafolyós hűtővel összeszerelve, hogy a távozó gőz visszakondenzálódjon. A forrástól számított 1 óráig extraháltam a mintát, majd megvártam, míg lehűlt. Ezt követően egy 50 ml-es centrifugacsőbe

szűrtem szűrőpapíron keresztül, majd a szűrletet jelre töltöttem desztillált vízzel. Az elkészült mintákat a mérések elvégzéséig - 80 °C-on tároltam, a mérések előtt pedig szobahőmérsékletre helyeztem és vártam, míg kiolvadt a mérendő minta.

4.2.2 Marhahús előkészítése

A kereskedelmi forgalomban vásárolt 20% zsírtartalommal rendelkező darált marhahúst fogyasztáskész állapotban vizsgáltuk. A nyers marhahúsból pogácsákat formáztam, majd 200 °C-on 20 percig sütöttem. A pogácsákat kihűlés után húsdarálóval homogenizáltam. Az elkészült mintákat a mérések elvégzéséig – 80 °C-on tároltam, a mérések előtt pedig szobahőmérsékletre helyeztem és vártam, míg kiolvadt a mérendő minta.

4.2.3 *In vitro* emésztésszimulációs modell kivitelezése

4.2.3.1 Előkészületek

Az emésztésszimulációs modell (Minekus et al., 2014) kivitelezéséhez elsősorban elkészítettem az emésztő folyadékokat, a szervetlen nyál-, gyomornedv- és vékonybélnedv szimulánsokat, amelyek hozzáadásával az emberi emésztés egyes folyamatait tudtam modellezni. A szervetlen szimuláns oldatok elkészítéséhez szükséges anyagokat és az oldatok szükséges végső koncentráció értékeit a 2. táblázatban foglaltam össze. Ez alapján elkészítettem az oldatokat, ioncserélt vízzel kiegészítettem a megfelelő térfogatra, homogenizáltam, és pH értékeiket 6 M-os HCl oldattal a megfelelő értékre állítottam. Felhasználásig hűtőben tároltam az oldatokat.

2. táblázat: Az emésztés során alkalmazott szervetlen szimuláns oldatok összetétele

Szervetlen oldatok	Szervetlen nyál szimuláns oldat (SZNY) pH 7	Szervetlen gyomornedv szimuláns oldat (SZGY) pH 3	Szervetlen vékonybélnedv szimuláns oldat (SZV) pH 7
végső koncentráció az oldatban [mM]			
0,5 M KCl	15,09	6,90	6,80
0,5 M KH ₂ PO ₄	3,70	0,90	0,80
1 M NaHCO ₃	13,68	25,00	85,00
2 M NaCl	-	47,20	38,40
0,15 M MgCl ₂ (H ₂ O) ₆	0,15	0,12	0,33
0,5 M NH ₄ (CO ₃) ₂	0,06	0,50	-
6 M HCl	1,10	15,6	8,40

Az emésztőnedv szimulánsokat az emésztési folyamat előtt 37 °C-ra szükséges felmelegíteni, ezzel szimulálva az emberi emésztés hőmérsékletét.

Az emésztési folyamat megkezdése előtt minden esetben pH tesztet végeztem, ami egy enzimmentes környezetben végrehajtott emésztés. Ezzel az egyes emésztési szakaszokra jellemző, állandó pH érték beállításához szükséges 6 M-os HCl és 1 M-os NaOH oldatok megfelelő mennyiségét határoztam meg, így biztosítva az enzimek működéséhez optimális pH értéket. A pH méréseket Hanna Instruments pH 212 Microprocessor pH mérő készülékkel végeztem.

A szervesetlen szimuláns oldatokon kívül szükséges az emésztőenzimek elkészítése. Ezek az enzimek a nyál amiláz enzim (sertés hasnyálmirigyből kivont alfa-amiláz, 1500 U/ml aktivitású, SZNY-ban oldva, Sigma-Aldrich), a pepszin (sertés gyomor nyálkahártyából kivont, 25000 U/ml aktivitású, SZGY-ban oldva, Sigma-Aldrich), a pankreatin (sertés hasnyálmirigyből kivont, 800 U/ml aktivitású, SZV-ban oldva, Sigma-Aldrich) és az epe (sertés epéből, 160 mM koncentrációjú, SZV-ban oldva, Sigma-Aldrich). A három enzimet az emésztés során a megfelelő szakaszban szükséges a rendszerhez adni. Az enzimek aktivitását előzetesen Brodkorb et al. (2019) szerint határoztuk meg. A nyálamiláz és a pankreatin enzimkészítmények rossz oldódása miatt ezeket kivonat formájában készítettem el. A bemért enzimport a megfelelő mennyiségű szervesetlen szimulánssal 10 másodpercig kevertettem vortex (Labinco L46 típusú vortex) segítségével, majd 5 percig ultrahangos vízfürdővel szonikáltattam, végül a ki nem oldódott enzimport Hettich Mikro 22R típusú centrifugával (6000 rpm, 4 °C, 5 perc) elválasztottam. A felülúszót leöntöttem egy tiszta centrifugacsőbe, és azt használtam a mérésekhez, mint enzim kivonat. Az enzim oldatokat mindig a mérés előtt szükséges elkészíteni és használatukig hűtőben tárolni.

Minden emésztési kísérletet három párhuzamosban végeztem. Emellett a hozzáférhető zsír- és fehérjetartalom meghatározása céljából két különböző vak minta szükséges (desztillált víz és fehérjementes keksz minta), melyeket minden emésztési ciklus során egy-egy mintaként kezeltem.

4.2.3.2 Kísérleti beállítás

A mérések során két eltérő modell mátrixot alkalmaztam. Az első mérésorozathoz 30% zsírtartalmú Tolle habtejszínt használtam, melyhez különböző arányban adagoltam az egyes tea kivonatokat. Ehhez, ismert tömegű 50 ml-es centrifugacsővekbe 0,5 g tejszín mintát mértem be. A tea kivonatokat három összetételben adtam a tejszín mintához: 1:1 (0,5000 g tea

kivonat), 1:2 (1,0000 g tea kivonat) és 1:3 (1,5000 g tea kivonat). Ezt követően minden centrifugacső tartalmát 5 g-ra egészítettem ki desztillált vízzel. A második méréssorozathoz 16% zsírtartalmú sült marhahús mintát alkalmaztam mátrixként. Ebben az esetben minden ismert tömegű centrifugacsőbe 0,9000 g marhahús mintát mértem be, azonban a tea kivonatot egy összetételben (0,5000 g) adtam hozzájuk. Ezesetben is a centrifugacsövek tartalmához desztillált vizet adtam az 5 g össztömeg elérése céljából. Vakmintaként a zsírméréshez 5 ml desztillált vizet pipettáztam a centrifugacsőbe, a fehérjemérés vakmintájaként pedig 5 g fehérjementes kekszmintát mértem a centrifugacsőbe. A minták a 10. ábrán láthatók.



10. ábra: A mérések során alkalmazott vak keksz, tejszín és sült marhahús minták (saját kép)

4.2.3.3 Enzimes emésztés kivitelezése

Az előkészített mintákhoz 3,5 ml szervesetlen nyál szimuláns oldatot, 25 µl 0,3 M-os $\text{CaCl}_2(\text{H}_2\text{O})_2$ oldatot és 0,5 ml amiláz enzimet adtam, desztillált vízzel 10 ml-re egészítettem ki és alaposan összekevertem, majd a 37 °C-ra előmelegített szárítószekrényben átfordulós rázóval (Heidolph Reax 2) 2 percig kevertettem, ezzel szimulálva az emésztési folyamat száji szakaszát. A 2 perc letelte után az emésztményekhez 6,4 ml szervesetlen gyomornedv szimuláns oldatot, 5 µl 0,3 M-os $\text{CaCl}_2(\text{H}_2\text{O})_2$ oldatot, 1,6 ml pepszin enzimoldatot és az adott összetételhez a megfelelő pH beállításához (pH 3) szükséges előzőleg megállapított 6 M-os HCl és 1 M-os NaOH oldatot adtam. Desztillált vízzel 20 ml-re egészítettem ki, majd homogenizáltam a csövek tartalmát, ezt követően pedig 2 órára visszatettem a 37 °C-os szárítószekrénybe, ezzel szimulálva a gyomri szakasz emésztési ciklusát (11. ábra). Az inkubációs idő letelte után az emésztést folytattam a vékonybéli szakasszal. Az emésztményekhez 8,5 ml szervesetlen vékonybélstimuláns oldatot, 40 µl $\text{CaCl}_2(\text{H}_2\text{O})_2$ oldatot, 2,5 ml epe oldatot, 5 ml pankreatin oldatot és az előzetesen a pH állítás során

megállapított szükséges 6 M-os HCl és 1 M-os NaOH mennyiséget adtam. Ennél a szakasznál a pH 7 a megfelelő kémhatás. A centrifugacsöveket 40 ml-re kiegészítettem desztillált vízzel, majd újabb 2 órára a 37 °C-os előmelegített kamrába helyeztem és az idő letelte után az emésztésmóddal véget ért. A centrifugacsövek végső tömegét feljegyeztem.



11. ábra: Az emésztésszimuláció kivitelezése szárítószekrényben, átfordulós rázó berendezéssel (saját kép)

4.2.4 Hozzáférhető zsírsavtartalom meghatározása

A hozzáférhető zsírsavtartalom meghatározása négy lépésből áll: i) mintavétel, ii) zsírkivonás Bligh és Dyer (1959) módszere szerint, iii) zsírsav-metil-észterek (FAME) képzése az MSZ EN ISO 12966:2-2017 szabvány szerinti általános és gyors módszerek alapján (ISO, 2017), iv) az így előkészített mintákban jelenlevő FAME-k gázkromatográfiás elválasztása, lángionizációs detektort alkalmazva a minőségi és mennyiségi meghatározása és számolás.

A vizsgálatokhoz használt oldószerek és oldatok a következők: C19TAG standard (nonadekánsav triacilglicerolja, 1 mg/ml koncentrációban kloroformban oldva, Sigma-Aldrich), kloroform (Fisher Chemical), metanol (Honeywell) és izooktán (Fisher Chemical).

A mintavétel során a homogenizált emésztményekből két-két mintát vettem. Ehhez ismert tömegű 50 ml-es centrifugacsövekbe a felkevert emésztményekből 5-5 ml mennyiséget

pipettáztam, és a vett minták tömegét feljegyeztem. Az extrakció során a mintákhoz adtam 6 ml kloroformot, 250 μ l kloroformban oldott 1 mg/ml koncentrációjú C19TAG belső standard oldatot és 12,5 ml metanolt, és Benchmark Benchmixer Multi-Tube vortexer több csöves keverővel 2 percig kevertettem. Ez idő letelte után hozzáadtam 6,25 ml kloroformot a mintákhoz, és újra kevertettem 30 másodpercig. Ezt követően 6,25 ml desztillált vizet adtam a rendszerhez, és újabb 30 másodpercig kevertettem, ekkor már elvált a felső poláros és az alsó apoláros fázis, a két fázis között pedig látható egy hártya, ezek a nem extrahálható részek. A kifinomultabb szétválás érdekében 20 percig 6000 rpm fordulaton Hettich Mikro 22R készülékkel centrifugáltam a mintákat (12. ábra). Az így kapott 12,5 ml kloroformos fázisból vett részleteket mindkét metilezési módszerrel reagáltattam, ezáltal ugyanarra a mintára megkapva az összes zsírtartalmat az általános módszerrel és az észteresített zsírtartalmat a gyors módszer által, a kettő érték különbsége pedig az adott minta szabad zsírsavtartalmát adja meg.



12. ábra: Az emésztmény Bligh és Dyer (1959) zsírextrakciós módszer szerinti előkészítésének centrifugálási lépésének fázisai. A centrifugacsövekben a centrifugálás hatására a fázisok elkülönülnek egymástól. A jobb csőben a zsírkivonás utáni, a bal csőben pedig a centrifugálást követő állapot látható. (saját kép)

4.2.5 Általános módszer

Az általános módszer során az extrahált minták alsó fázisából pipettáztam 5 ml-t egy 50 ml-es gömblombikba és Heidolph Laborta 4000 efficient vákuumbepárlóval elpároltam róla az illékony oldószert. Ezt követően a visszamaradt mintához 2 ml 0,2 M-os metanolban oldott NaOH oldatot adtam, és forrkő hozzáadása mellett 20 percig homokfürdőn forraltam

visszafolyós hűtéssel összeépítve. Az idő letelte után a gömblombik tartalmát fenolftalein indikátor mellett 1 M-os H_2SO_4 -metanol elegyével 100 μl mennyiségenként titráltam, míg elszíntelenedett, majd feleslegben további 200 μl -t adtam hozzá. További 5 percig forraltam, majd folyóvíz alatt lehűtöttem a lombikot. Az így kapott mintát egy 15 ml-es centrifugacsőbe pipettáztam, majd a lombikot 4 ml NaCl-oldattal (40 g NaCl/100 ml desztillált víz) átmostam, és ezt is a centrifugacsőbe pipettáztam. Ehhez hozzáadtam 1 ml izooktánt, 15 másodpercig kevertettem, ez alatt történt meg a létrehozott FAME-k extrakciója. Ezután a mintát centrifugáltam (10 perc, 6000 rpm, Benchmark Benchmixer Multi-Tube vortexer), hogy elváljanak a fázisok, majd a felső fázist – FAME-k izooktánban oldva – GC fiolába pipettáztam. A fiolákban levő minták zsírsavösszetételét gázkromatográfiás módszerrel mértem.

4.2.6 Gyors módszer

A gyors módszer esetén a minta előkészítése az 5 ml, gömblombikba pipettázott kloroformos, alsó fázis vákuumbepárlásáig azonos az általános módszer előkészítési folyamatával. Ezt követően a visszamaradt zsiradékot 1 ml izooktánnal átmostam egy 15 ml-es centrifugacsőbe. Ehhez hozzáadtam 100 μl 2 M-os metanolban oldott KOH-ot, 1 percig kevertettem, majd 2 percig állni hagytam, ami alatt a minta kitisztult, fázisaira vált. Ezután hozzáadtam 4 ml tömény NaCl-oldatot (40 g NaCl/100 ml desztillált víz), és a fázisok jobb elválásának érdekében 10 percig centrifugáltam 6000 fordulaton. Ezalatt az idő alatt előkészítettem körülbelül 0,5 g Na_2SO_4 sót mikrocentrifuga csövekbe, majd erre pipettáztam a centrifugált minták izooktános felülúszóját. Összekevertem a csövek tartalmát, így a só elvonta az esetlegesen mintában maradt vizet. A só kiülepedéséhez 5 percig állni hagytam, majd a folyadékfázist egy mikrobetétellátott kromatográfiás fiolába pipettáztam. Az így elkészült minták zsírsavösszetételét gázkromatográfiás módszerrel mértem.

4.2.7 Zsírsavösszetétel meghatározása gázkromatográfiás módszerrel

A méréseket Agilent 6890 GC-FID kapcsolt rendszerrel végeztem. A mintaadagolás Agilent 7683 automatikus mintavevővel történt. Az elválasztás Phenomenex Zebron ZB-FAME (60 m hosszúsággal, 0,25 mm átmérővel, 0,20 μm filmvastagsággal rendelkező) oszlopon ment végbe, cianopropil állófázissal és hidrogéngáz mozgófázissal (1,2 ml/perc áramlási sebességgel). A bemeneti hőmérséklet 250 °C, a detektor hőmérséklete 260 °C volt. A split arány 50:1, az injektált mennyiség 1 μl volt. A hőmérsékletprogram 100 °C-ról indult, amit 3 percig állandó értéken kellett tartani. Ezt követően az oszlopot 20 °C/perc sebességgel

166 °C-ra melegítettem és 5 percig ezen a hőmérsékleten tartottam. Ezután 1 °C-kal percenként 180 °C-ra, végül 10 °C/perccel 240 °C hőmérsékletűre fűtöttem, itt pedig 3 percig kellett tartani a hőt. A kalibrációt Supelco 37 komponensű „FAME Mix” referenciaanyag segítségével végeztem. Négy pontos kalibrációt végeztem, ahol a névleges koncentráció egyes zsírsavak esetében eltérő tényleges koncentrációt jelentett; azaz a C16:0 esetében 0, 30, 60, 120 µg/ml; a C4:0, C6:0, C8:0, C10:0, C12:0, C14:0, C18:0, C18:1n-9c, C18:3n-6c, C18:3n-3c, C20:0, C20:3n-6c, C20:4n-6c, C20:5n-3c és a C22:0 esetében 0, 20, 40, 80 µg/ml; a C11:0, C13:0, C14:1n-5c, C15:0, C15:1n-5c, C16:1n-7c, C17:0, C17:1n-7c, C18:1n-9t, C18:2n-6t, C18:2n-6c, C20:1n-9c, C20:2n-6c, C21:0, C22:1n-9c, C20:5n-3c, C22:2n-6c, C23:0, C24:0, C24:1n-9c és a C22:6n-3c esetében 0, 10, 20, 40 µg/ml voltak az alkalmazott tényleges koncentráció szintek. A C4:0 zsírsavat ki kellett zárni az analízishalmazból, az oldószercsúccsal való átfedés miatt. A kalibrációs belső standardként a nonadekánsav metilészterét (C19ME) használtam 1 mg/ml koncentrációban izooktánban oldva, míg a mintaelőkészítés során a belső standardként a már említett, nonadekánsav triacilglicerolt (C19TAG) adtam a mintákhoz, melyet 1 mg/ml koncentrációban kloroformban oldottam. A mintaelőkészítés során már az extrakciós folyamat kezdetén hozzáadtam a belső standardet, ezáltal a módszerrel a mintaelőkészítés, és a származékképzés folyamata is korrigálható.

4.2.8 Hozzáférhető fehérjetartalom meghatározása

A hozzáférhető fehérjetartalom meghatározás előtti mintaelőkészítés, hasonlóan a zsírtartalom meghatározásnál, szintén több lépésből áll: i) mintavétel, ii) intakt fehérjék kicsapása, és a hozzáférhető frakció elválasztása, iii) hozzáférhető frakció hidrolízise, vagyis a jelenlevő kisebb peptidek aminosavakká bontása.

Az OPA módszerrel a minta összes szabad aminosavtartalma és a benne levő, de fel nem bomlott di- és tripeptidok mennyisége határozható meg. Ezenfelül a metanolos fehérje izolátum további savas hidrolízis alá vetve alkalmas a mintában levő összes aminosav mennyiségének meghatározásához is. Ennek végrehajtásához a mintán savas hidrolízist szükséges elvégezni, ezáltal a benne levő di- és tripeptidok felbomlanak és mérhetővé válnak. Ezt követően az aminosavak mennyisége az OPA módszer szerint határozható meg.

A vizsgálatokhoz használt oldószerek és oldatok ennél a vizsgálatnál a következők: 6,1 N 5% triklórecetsav (TCA), 1 M bóráx, 6 M orto-ftáldaldehid (OPA, Alfa Aesar), 3,5 M nátrium-dodecil-szulfát (SDS), 5,7 M ditiotritol (DTT, Sigma Aldrich),

L-szerin (Reanal Labor), 0,1% ditioldipropionsav (DDP, 0,2 M NaOH-ban oldva, Sigma Aldrich) és 0,2 M HCl és 37% cc. HCl.

Első lépésként az emésztményből két-két mintát vettem. Ismert tömegű 15 ml-es centrifugacsövekbe 2-2 ml-t pipettáztam, lejegyeztem a vett minták tömegét, majd mindegyik csőhöz 8-8 ml metanolt adtam, és a csövek tömegét dokumentáltam. A hozzáadott metanol feladata a visszamaradt, meg nem emésztett fehérjék kicsapása. A mintákat alaposan homogenizáltam, majd a -20 °C-os fagyasztószekrénybe tettem 1 óráig. A képződött csapadékot centrifugálással elválasztottam (20 perc, 6000 rpm, 4 °C), majd a felülúszót egy 15 ml-es centrifugacsőbe öntöttem. Ezáltal a metanolban oldva a hozzáférhető kisebb peptidek és aminosavak megtalálhatóak, ez képezi az emészthető frakciót.

4.2.9 Hozzáférhető fehérjetartalom mérése OPA módszerrel

Ezzel az eljárással az emésztmények összes szabad aminosavtartalmát és a bennük levő, azonban fel nem bomlott di- és tripeptidek mennyiségét lehet meghatározni. A módszer elve, hogy az OPA, azaz orto-ftáldehid megfelelő körülmények között az aminosavak és peptidek szabad amino-csoportjával UV aktív molekulát képez, melyet spektrofotometriás módszerrel detektálni lehet. A méréshez először elkészítettem az OPA reagenst. Egy 50 ml-es főzőpohárba 1,905 g bórax (nátrium-tetraborát) port mértem, és körülbelül 30 ml desztillált vízben feloldottam (25 perc, 55 °C, UH kád). A teljes oldódást követően hozzáadtam 50 mg nátrium-dodecil-szulfátot (SDS), 44 mg ditiotreitol (DTT) és 40 mg OPA-t, amit előzetesen feloldottam 1 ml etanolban. A főzőpohár tartalmát egy 50 ml-es mérőlombikba öntöttem, és kihűlés után desztillált vízzel jelre töltöttem. Az elkészült oldat fény- és hőérzékeny, így a mérésig hűtőben tároltam, a mérés során pedig alufóliába csomagoltam.

A fehérjetartalmat Nielsen et al. (2001) által javasolt, L-szerin ekvivalensben adtam meg, ezért a kalibrációt L-szerin oldattal végeztem (0-125 mg/ml). Ehhez törzsoldatot készítettem, amihez egy 15 ml-es centrifugacsőbe 25 mg L-szerint mértem, amit 5 ml desztillált vízben feloldottam, így egy 5 mg/ml-es oldatot kaptam. Ezt követően egy mikrocentrifuga csőbe mértem 200 µl mennyiséget a törzsoldatból és 800 µl desztillált vízzel hígítottam, így egy 1 mg/ml oldatot kaptam. A kalibrációs mintasorozatot a másodlagos törzsoldatból (1 mg/ml) hígítottam 0-125 mg/ml tartományban, melyhez 5%-os triklórecetsavat használtam.

A mérés elvégzéséhez 980 µl OPA reagenst és 20 µl előkészített mintát pipettáztam egy mikrocentrifuga csőbe, vortexeltem, 2 percig pihentettem, majd Thermo Evolution 300 típusú

UV-spektrofotométerrel mértem a minta abszorbanáciáját 335 nm-es hullámhosszon. A hozzáférhető fehérje mennyiségi értékelését a kalibráló oldatsorhoz viszonyítva határoztam meg.

4.2.10 Hidrolízis módszer

A hidrolízis módszerrel az emésztményben levő összes aminosav mennyiségét meg lehet határozni, ami a hidrolizálatlan minták mérésével nem mérhető, hiszen a mintában benne levő dipeptidek és tripeptidek felbomlanak, ezáltal azok is egyenként mérhetővé válnak. Ehhez az előkészített mintából 50 μ l mennyiséget egy színezett kromatográfiás fiolába pipettáztam, N_2 gázzal elpárologtattam róla a metanolt, majd a hidrolízis pufferoldatban újra feloldottam. A pufferoldat négy oldatból, mintánként 260 μ l desztillált vízből, 120 μ l 0,1%-os ditiodipropionsavból (DDP) 0,2 M-os NaOH-ban oldva, 120 μ l 0,2 M-os sósavból és 500 μ l 37%-os tömény sósavból tevődik össze. A fiolákat ezt követően 5 másodpercig N_2 gázzal öblítettem és lezártam. Ez a részfolyamat látható a 13. ábrán. Végül homogenizáltam, majd 110 °C hőmérsékleten 15 órán keresztül inkubáltam a mintákat.



13. ábra: A savas hidrolízis módszer részfolyamata; N_2 gázzal való oldószer elpárologtatása (saját kép)

A hidrolizált minták mérését a következőképpen végeztem. Egy mikrocentrifuga csőbe pipettáztam 580 μ l OPA reagenst és 20 μ l mennyiségű savval kezelt mintát, homogenizáltam, és 10 percre sötét helyre tettem. Az idő letelte után 335 nm hullámhosszon mértem a minta abszorbanáciáját UV-spektrofotométerrel (Thermo Evolution 300). A minta aminosavtartalmának mennyiségi értékelését a kalibrációs sor figyelembevételével végeztem.

4.2.11 Az eredmények értékelése során alkalmazott szoftverek és statisztikai módszerek

A gázkromatográfiás mérések eredményeit az Agilent Technologies ChemStation szoftvere által, az UV-spektrofotometriás mérések eredményeit pedig a Thermo Scientific VISION Pro szoftver segítségével kaptam meg.

A mérések eredményeinek értékeléséhez a Microsoft Excel program 2016-os verzióját használtam. Az értékelés során minden esetben számítottam átlagot, szórást és relatív szórást. A páronkénti, illetve két csoport közötti összefüggések vizsgálatát korrelációs elemzéssel, F próbával és kétmintás t-próbával végeztem. Több adatsor eredményeinek összehasonlításához pedig egytényezős varianciaanalízist (ANOVA= ANalysis Of VAriance) alkalmaztam. A szignifikáns különbséget a $p < 0,05$ szint esetén ismertem el.

5. KÍSÉRLETI EREDMÉNYEK ÉS ÉRTÉKELÉSÜK

Dolgozatom készítése során különböző csersavtartalmú fekete teák zsír- és fehérjeemésztésre kifejtett hatását vizsgáltam tejszín és sült marhahús mátrixokon. A tea kivonatok hatását *in vitro* emésztésszimulációt követően elemeztem, tejszín esetében a zsírok emészthetőségét, sült marhahús esetében pedig a zsírok és fehérjék emészthetőségét szabad zsírsavtartalom meghatározásával és biológiailag hozzáférhető fehérjetartalom kvantifikálásával.

Elsődleges célomként a teszt mátrixok karakterizálását tűztem ki, melynek véghezviteléhez az *in vitro* emésztésszimulációt követően a tejszín zsíremészthetőségét és a sült marhahús zsír- és fehérjeemészthetőségét határoztam meg.

Ezt követően a tea kivonat adagolásának hatását vizsgáltam a tejszín mátrixon 1:1; 1:2; majd 1:3 arányban a mintatömegre vonatkoztatva, a minta zsíremészthetőségére kifejtett hatás megfigyelésével.

Majd a már kiválasztott, elégségesnek vélt dózissal addicionálva vizsgáltam a sült marhahús zsír- és fehérjeemészthetőségét.

A mérések kivitelezése során az Infogest *in vitro* emésztésszimulációs modellt alkalmaztam, majd az emésztés végeztével vizsgáltam a kívánt paramétereket az emésztményből.

A mérési eredményeket az alább felsorolt szakaszokban értékeltem.

5.1 Tejszín hozzáférhető zsírsavtartalmának értékelése

5.2. A fekete tea kivonatok eltérő dózisban adagolt hatásának vizsgálata a tejszín hozzáférhető zsírsavtartalmára

5.3 Sült marhahús hozzáférhető zsírsavtartalmának értékelése

5.4 A kiválasztott dózisban adagolt fekete tea kivonatok hatásának vizsgálata a sült marhahús hozzáférhető zsírsavtartalmára

5.5. A kiválasztott dózisban adagolt fekete tea kivonatok hatásának vizsgálata a sült marhahús hozzáférhető fehérjetartalmára

Végző soron pedig levontam a következtetéseket, miképpen volt hatással a mérések során hozzáadott tea főzetek csersavtartalma a vizsgált paraméterekre.

Az eredmények értékelése folyamán a következő módszereket alkalmaztam; i) zsíremészthetőség [%] a hozzáférhető zsírsavtartalom alapján; ii) felszabadulási arányok a zsírsavak felszabadult mennyiségei alapján; iii) fehérjeemészthetőség az OPA módszer eredményei a „szabad” amino-csoportok és hidrolizált amino-csoportok alapján.

5.1 Tejszín hozzáférhető zsírsavtartalmának értékelése

A tea zsíremészthetőségre gyakorolt hatását először tejszín mátrixon dózis-hatás teszt elvégzésével vizsgáltam. Ehhez először meg kellett határozni a választott tejszín minta eredendő zsíremészthetőségét. Az *in vitro* emésztésszimulációs modell végrehajtása után kapott tejszín emésztmény hozzáférhető zsírsavtartalmát, majd a benne lévő zsírsavak egyedi felszabadulási arányát határoztam meg és elemeztem. A hozzáférhető zsírtartalom meghatározása során a mintavételt követően zsírkivonást végeztem Bligh és Dyer (1959) extrakciós módszere szerint, majd FAME képzést az MSZ ISO 12966:2-2017 szabvány szerint az általános és gyors módszerek alapján. A gyors átmetilézéssel a módszerrel az emésztményben levő glicerinszterek lúg jelenléte mellett észtereződtek, majd FAME-ké módosultak. Az általános módszerrel viszont a glicerinszterek mellett a FFA-k is FAME-ké alakultak az elszappanosítás, majd a savas közeg hatására. Az előkészített minta elválasztását és mérését GC-FID berendezéssel végeztem. A gázkromatográfiás mérést követően megkaptam a mintában levő összes- és észteresített zsírsav-metilészter mennyiségét, amiből következtetni tudtam az emésztmény zsírsavösszetételére. Továbbá az értékelés során a két módszer eredményeiből meghatároztam az emésztett tejszín mintában található FFA-k mennyiségét. Ehhez az általános módszerrel kapott értékből kivonva a gyors módszer eredményét, megkaptam az emésztményben levő FFA-k mennyiségét. Ezeket az értékeket ismerve pedig már számolható a minta zsírsavainak felszabadulási aránya. A mérések eredményei alapján az 1%-nál nagyobb mennyiségben jelen levő összes zsírsavtartalom alapján emeltem ki egyes zsírsavakat, melyeknek összes (TFA) és szabad zsírsavtartalmát (FFA), illetve a felszabadulási arányait a 3. táblázatban foglaltam össze.

3. táblázat: Az *in vitro* modellel emésztett tejszín minta hozzáférhető összes és szabad zsírsavtartalma és a zsírsavak felszabadulási arányai a jelentősebb, 1%-nál nagyobb mennyiségben jelen levő zsírsavakra vonatkozóan átlag + szórás formájában; n=6

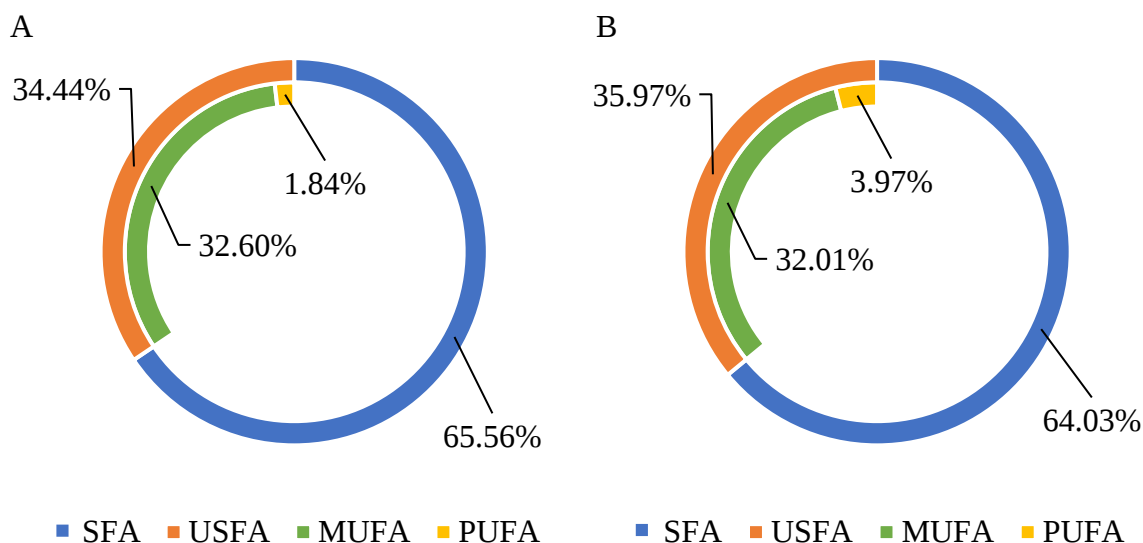
Jelentősebb zsírsavak	Összes zsírsavtartalom (TFA) [%]	Szabad zsírsavtartalom (FFA) [%]	Felszabadulási arány [-]
C10:0	1,07 ± 0,05	0,60 ± 0,13	0,34 ± 0,06
C12:0	2,58 ± 0,09	1,51 ± 0,15	0,36 ± 0,03
C14:0	11,24 ± 0,38	7,67 ± 0,59	0,42 ± 0,02
C15:0	1,24 ± 0,04	1,14 ± 0,06	0,57 ± 0,01
C16:0	35,18 ± 0,97	33,71 ± 1,32	0,59 ± 0,01
C16:1n-7c	2,18 ± 0,06	1,96 ± 0,08	0,56 ± 0,01
C18:0	11,87 ± 0,28	15,13 ± 0,45	0,79 ± 0,01
C18:1n-9t	2,61 ± 0,07	2,89 ± 0,09	0,69 ± 0,01
C18:1n-9c	26,14 ± 0,70	29,07 ± 1,07	0,69 ± 0,01
C18:2n-6c	3,50 ± 0,11	3,77 ± 0,17	0,67 ± 0,01

TFA= Total Fatty Acid, FFA= Free Fatty Acid

Először a tejszín átlagos biológiai hozzáférhetőségének meghatározásához a mintában levő összes FFA mennyiségét osztottam az összes benne található TFA-val, így megkaptam, hogy ez az arány $61,90 \pm 1,16\%$, azaz az általam végzett *in vitro* emésztésszimulációt követően a mintában levő zsírsav komponensek közel 2/3 része szabadult fel az élelmiszermatrixból és került felszívódásra alkalmas állapotba. Továbbá fontos megemlíteni, hogy a minta TFA értékei valójában a kiindulási termék zsírsavösszetételét modellezzik, így a 3. táblázat TFA oszlopának értékei a tejszín összes, az emésztés során hozzáférhetővé vált zsírsavainak mennyiségét jelentik.

A 3. táblázat TFA oszlopa alapján jól látható, hogy az összes zsírsavtartalom szempontjából legnagyobb arányban, több, mint 35%-ban a telített palmitinsav (C16:0) van jelen a mintában, ezt követi a telítetlen olajsav (C18:1n-9c) 26%-kal, majd közel azonos mennyiségben, körülbelül 11%-kal a telített sztearinsav (C18:0) és mirisztinsav (C14:0). Ebből már jól látható, hogy a mintában a telített zsírsavak (SFA) mennyisége dominál. Az összes, nem csak a jelentősebb zsírsavakat tekintve, a telített zsírsavak aránya $64,03 \pm 1,71\%$, azaz közel 2/3 arányban vannak jelen, míg a telítetlen zsírsavak (USFA) mindössze $35,97 \pm 1,09\%$ -ban, amiből $32,01 \pm 0,86\%$ az egyszeresen telítetlen zsírsavak (MUFA) aránya és mindössze $3,97 \pm 0,33\%$ a többszörösen telítetlen zsírsavaké (PUFA). Ezek az értékek megközelítőleg egyeznek egy a Luo és munkatársai (2020) által végzett kutatás eredményeivel.

Munkájuk során tejszír *in vitro* emésztését vizsgálták, melynek eredményeit az 14. ábrán hasonlítottam össze az általam mért zsírsav értékekkel.



14. ábra: Tejszín *in vitro* emésztést követően mért zsírsav profilja Luo és munkatársai (A) által végzett kutatás, és az általam (B) végzett mérések alapján, ahol SFA (Saturated Fatty Acid) a telített zsírsavakat, USFA (Unsaturated Fatty Acid) a telítetlen zsírsavakat, MUFA (Monounsaturated Fatty Acid) az egyszeresen telítetlen zsírsavakat és PUFA (Polyunsaturated Fatty Acid) a többszörösen telítetlen zsírsavakat jelöli.

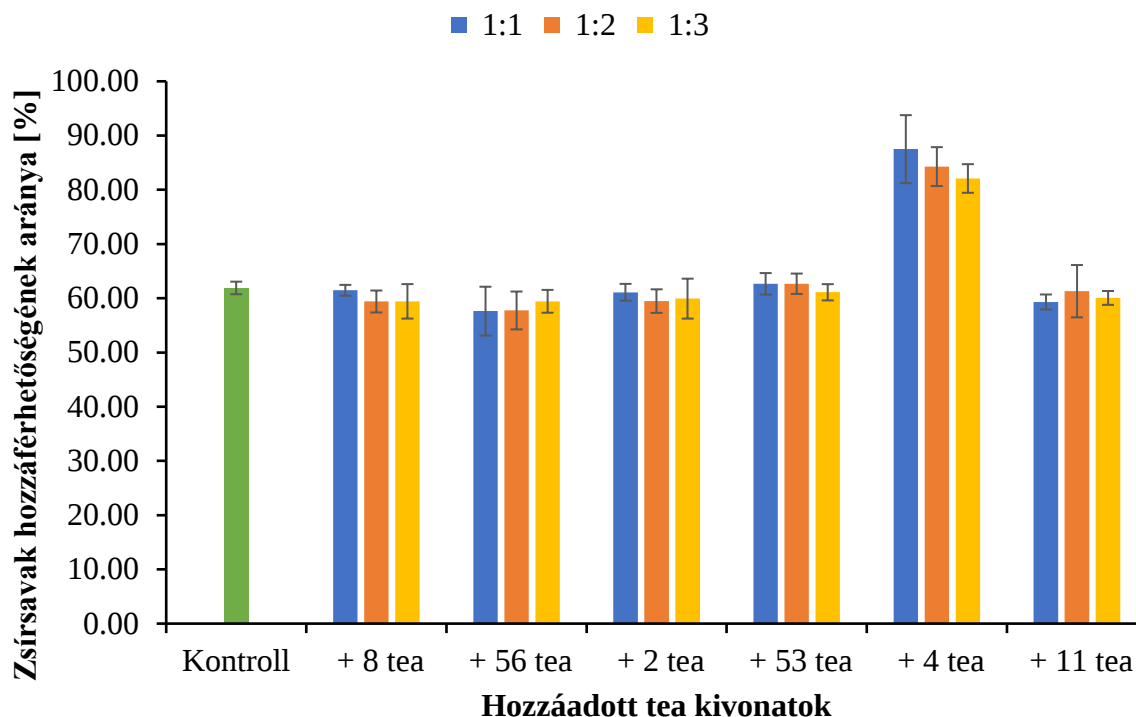
Jelentős eltérést a telített, telítetlen, köztük az egyszeresen telítetlen zsírsavak esetén nem tapasztaltam, azonban a többszörösen telítetlen zsírsavak esetén az általam mért érték több, mint kétszerese a kutatók által mért eredménynek. Feltételezem, hogy ezt a mátrixok sajátosságai és eltérő összetétele nagymértékben befolyásolhatta.

A 3. táblázat FFA oszlopát elemezve, a szabad zsírsavtartalom esetében a rövidebb szénláncú zsírsavak értékei alacsonyabbak, összevetve az összes zsírsavtartalom értékeivel, amit annak tulajdonítok, hogy a rövidebb és telített szénláncú zsírsavak kevésbé és nehezebben emészthetők, ezzel ellentétben a sztearinsav (C18:0) és annál hosszabb szénláncú zsírsavak esetén a FFA értéke magasabb a TFA értékéhez viszonyítva, amiből arra következtetek, hogy ezek a zsírsavak könnyebben bomlanak le és szabadulnak fel az emésztés során. Ez az állítás azzal is alátámasztható, hogy míg a rövidebb szénláncú zsírsavak felszabadulási aránya alacsony, azaz kevésbé váltak emészthetővé, addig a kiemelt zsírsavakat figyelembe véve a sztearinsav és annál hosszabb szénláncú zsírsavak értéke látható mértékben magasabbak.

A felszabadulási arány javarészt növekvő tendenciát mutat a zsírsavlánc szénatomjainak számának növekedésével, közepesen erős determinisztikus kapcsolat mutatható ki az értékek között ($R^2 = 0,771$; ahol R^2 : a determinációs együttható; Értéke -1 és 1 között változhat, mely -1 és 1-hez közelítve erős kapcsolatot mutat a két adatsor között. Ha 0-hoz közelít az érték, az adatsorok közötti kapcsolat gyenge). Többnyire elmondható, hogy minél hosszabb a zsírsav, annál magasabb a felszabadulási aránya, ebből adódóan annál nagyobb mértékű az emészthetősége is. A legmagasabb értéket ($0,79 \pm 0,01$) a telített sztearinsav esetén tapasztaltam.

5.2 A fekete tea kivonatok hatása a tejszín zsírsavtartalmának hozzáférhetőségére

A kísérlet folytatásában az emésztés kezdetén fekete tea kivonatot adagoltam a kezdeti mintához és figyelemmel kísértem a tea hatását a tejszín zsírsavtartalmának hozzáférhetőségére. Feltételeztem, hogy a fekete tea csersavtartalma az emésztés során gátló hatást fejt ki a lipáz enzimre. A hatást három dózisban vizsgáltam annak céljából, hogy megbizonyosodjak arról, hogy a hozzáadott tea mennyisége képes-e befolyásolni az emésztés során a hozzáférhető zsírsavtartalmat. A vizsgálatok elején a bemért tejszínmintához 1:1, 1:2 és 1:3 arányban adagoltam a tea kivonatot. A mérések további kivitelezése és az eredmények értékelése ugyanazon a módon zajlott, akár a tea nélkül emésztett tejszín mintáé. A gázkromatográfiás mérés által kapott adatokból kalkuláltam az eltérő dózisokkal emésztett minták hozzáférhető zsírsavtartalmának változásait, melyeket a 15. ábrán szemléltettem.



15. ábra: A tejszínben levő zsírsavak hozzáférhetőségének alakulása a hozzáadott fekete tea kivonatok dózisainak függvényében; a teafajták cseresavtartalma: 8: 166,3 mg/g, 56: 161,3 mg/g, 2: 127,7 mg/g, 53: 130,2 mg/g, 4: 102,4 mg/g, 11: 87,7 mg/g.

A teák adatainak értékelése során egytényezős varianciaanalízist alkalmaztam, melynek értékelése alapján arra tudok következtetni, hogy a hozzáadott tea kivonatok mennyisége és az emésztmény összes zsírsavtartalmának hozzáférhetősége között szignifikánsan bizonyítható a különbség ($p=0,976$), azonban ez főképp a 4-es tea értékei miatt tapasztalhatóak. A 4-es számú teával történt emésztésnél viszont a kapott adatok látszólag nem illeszkednek a többi tea értékeihez, ezért ennek a teának az eredménye miatt nem véltem biztosnak a hozzáadott tea kivonatok mennyiségének befolyásoló hatását.

A gázkromatográfiás mérés által kapott adatok további elemzésével vizsgáltam más paramétereket is, melyek bizonyíthatják a tea kivonatok gátló hatását. A statisztikai elemzés alátámasztotta, hogy a különböző tea kivonatok eltérő hatást gyakoroltak a tejszín hozzáférhető zsírsavainak arányaira ($p=2,45E-10$), azonban a gátló hatás mértéke feltételezhetően nem arányos a tea cseresavtartalmával ($R^2=0,212$; ahol R^2 : a determinációs együttható; Értéke -1 és 1 között változhat, mely -1 és 1-hez közelítve erős kapcsolatot mutat a két adatsor között).

Ha 0-hoz közelít az érték, az adatsorok közötti kapcsolat gyenge). Az elemzés értékeit és értékelését a 4. táblázatban foglaltam össze.

4. táblázat: A tejszín emésztése során hozzáadott tea kivonatok hatásának statisztikai értékelése. H_0 = nullhipotézis. Szignifikáns különbség $p < 0,05$ érték esetén lehetséges.

Hozzáadott tea kivonatok hatásának értékelése – Egytényezős varianciaanalízis			
Tényezők	p értékek	H_0	Következtetés
Dózis-hatás vizsgálat	0,976	elutasítom	Eltérő gátló hatás tapasztalható az eltérő dózisok függvényében
Különböző tea kivonatok	2,45E-10	elutasítom	Eltérő gátló hatás tulajdonítható a különböző tea kivonatoknak
Eredmény: A tejszín <i>in vitro</i> emésztése során a hozzáadott tea kivonatok nem azonos mértékben gátolták a zsíremészthetőséget, melyet az értékek alapján a hozzáadott dózisok szignifikánsan befolyásolták.			

A 15. ábra alapján a három dózisban adagolt tea kivonatok változtattak az emésztett tejszín hozzáférhető zsírsavainak arányán, azonban szignifikáns eltérés csak az 56-os és a 4-es tea esetében tapasztalható. Ezt abból következtettem ki, hogy összevetettem a tea kivonatok nélkül emésztett tejszín és az egyes tea kivonatok hozzáadását követően hozzáférhetővé vált zsírsavainak arányait kétmintás F próbával, majd kétmintás t-próbával, melynek eredményeit a 5. táblázatban összegeztem.

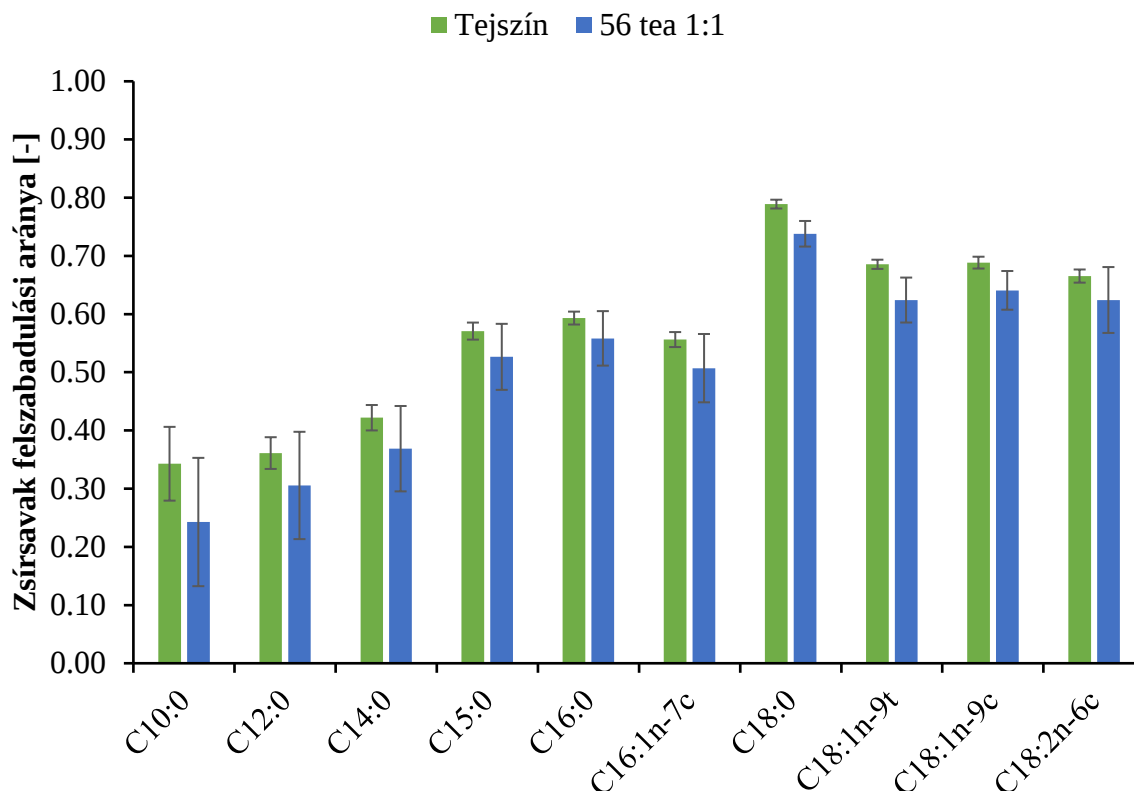
5. táblázat: A hozzáadott tea kivonatok hatásának statisztikai értékelése a tejszín hozzáférhető zsírsavainak felszabadulási arányára. H_0 = nullhipotézis. F próba elvégzésére a szórásnégyzetek egyenlőségének megállapítása miatt van szükség. Ha $p < 0,05$, a szórásnégyzetek nem egyenlőek, ennek megfelelően kell a t-próbát számítani. Ha a t érték < kritikus t érték, elfogadjuk a nullhipotézist. Következtetések: A: A tea kivonat hozzáadása nincs jelentős hatással a hozzáférhető zsírsavak arányára. B: A tea kivonat hozzáadásának hatására szignifikánsan eltér a hozzáférhető zsírsavak aránya.

**A tea kivonatok hatásának értékelése a tejszín hozzáférhető zsírsavainak arányára
– Kétmintás t-próba**

Tea kivonat	F próba p érték	t érték	kritikus t érték (kétvégű)	H_0	Következtetés
8	0	2,644	4,303	elfogadom	A
56	0	6,214	4,303	elutasítom	B
2	0	3,587	4,303	elfogadom	A
53	0	-0,462	4,303	elfogadom	A
4	0	-14,460	4,303	elutasítom	B
11	0	2,889	4,303	elfogadom	A

Eredmény: A hozzáadott tea kivonatok közül az 56-os és a 4-es tea volt szignifikáns mértékben hatással a tejszín hozzáférhető zsírsavainak arányára.

Az 5. táblázat alapján az 56-os számú fekete teát választottam ki további értékelésre, mert ennél a mintánál tapasztaltam szignifikáns mértékű hatást a tejszín hozzáférhetővé vált zsírsavaira, illetve ennél a teánál volt a legalacsonyabb a felszabadulási arány. Az 56-os tea 1:1 arányú adagolása által kiváltott hatás bizonyítása érdekében az 16. ábrán ábrázoltam a jelentősebb zsírsavak felszabadulási arányait.



16. ábra: Tejszín minta önmagában és az 56-os tea kivonat 1:1 arányú adagolásával történt emésztésszimuláció során bekövetkezett felszabadulási arányainak összevetése a jelentősebb mennyiségben jelen levő zsírsavakra vonatkoztatva

Láthatóan minden kiemelt zsírsav esetében csökkent a felszabadulási arány, ebből következően csökkent az emészthetőség is a tea kivonat hozzáadásának hatására. Három zsírsav, a sztearinsav (C18:0), az elaidinsav (C18:1n-9t) és az olajsav (C18:1n-9c) esetében volt statisztikailag kimutatható különbség a felszabadulási arányok között, ezáltal arra következtettek, hogy ezen zsírsavak emészthetőségére feltehetően nagyobb mértékű gátló hatást tudott kifejteni a teában lévő csersav vagy más benne található bioaktív komponens. Ezeket az eredményeket kétmintás F próba, majd kétmintás t-próba alkalmazásával kaptam meg, melyeket a 6. táblázatban részleteztem.

6. táblázat: Az 56-os számú tea kivonat 1:1 arányban hozzáadott hatásának statisztikai értékelése a tejszín hozzáférhető zsírsavainak felszabadulási arányára. H_0 = nullhipotézis. F próba elvégzésére a szórásnégyzetek egyenlőségének megállapítása miatt van szükség. Ha $p < 0,05$, a szórásnégyzetek nem egyenlőek, ennek megfelelően kell a t-próbát számítani. Ha a t érték < kritikus t érték, elfogadjuk a nullhipotézist. Következtetések: A: A tea kivonat hozzáadása nincs jelentős hatással a zsírsav felszabadulási arányára. B: A tea kivonat hozzáadásának hatására szignifikánsan eltér a zsírsav felszabadulási aránya.

56-os számú tea kivonat hatásának értékelése – Kétmintás t-próba

Zsírsavak	F próba p érték	t érték	kritikus t érték (kétszélű)	H_0	Következtetés
C10:0	0,125	1,928	2,228	elfogadom	A
C12:0	0,009	1,417	2,447	elfogadom	A
C14:0	0,009	1,704	2,447	elfogadom	A
C15:0	0,005	1,850	2,447	elfogadom	A
C16:0	0,003	1,777	2,447	elfogadom	A
C16:1n-7c	0,002	2,003	2,571	elfogadom	A
C18:0	0,018	5,368	2,447	elutasítom	B
C18:1n-9t	0,002	3,816	2,571	elutasítom	B
C18:1n-9c	0,011	3,358	2,447	elutasítom	B
C18:2n-6c	0,002	1,745	2,571	elfogadom	A

Eredmény: A kiemelt 10 zsírsav közül 3 esetben tapasztalható szignifikáns különbség a tejszín zsírsavainak felszabadulási aránya tekintetében. Feltételezem, hogy a hosszabb szénláncú zsírsavakra nagyobb mértékben érvényesül a tea kivonat gátló hatása, ugyanis ezek esetében nagyobb az emészthetőség csökkenésének mértéke.

Összességében jelentős eltérést nem tapasztaltam a tea kivonatok eltérő dózisban (1:1, 1:2, 1:3) történt adagolása miatt, ennek okán arra következtettem, hogy feltehetően a csersavnak tulajdonított gátlás mértékét a hozzáadott tea kivonatoknak nem a mennyisége befolyásolja. Ennek következtében a későbbi kísérletek során a kiválasztott, legalacsonyabb dózis hozzáadásával végeztem az emésztésszimulációkat.

5.3 A marhahús hozzáférhető zsírsavtartalmának értékelése

A marhahús hozzáférhető zsírsavtartalmának mérésekor az emésztményből történt előkészítési folyamatokat és a mérést a tejszín mintánál leírtakkal megegyezően végeztem. A mérések által ugyancsak megkaptam a mintában levő FAME-k mennyiségét a gyors, illetve az általános előkészítési módszer szerint, melyekből már meghatározható az emésztményben levő FFA-k mennyisége. Minden adatot összevetve pedig megállapítható az *in vitro* emésztés során felszabadult zsírsavak mennyisége. A 7. táblázatban a marhahús emésztményben levő jelentősebb zsírsavakat emeltem ki, melyeknek az TFA-t és a FFA-t, továbbá az egyes zsírsavak felszabadulási arányait tüntettem fel.

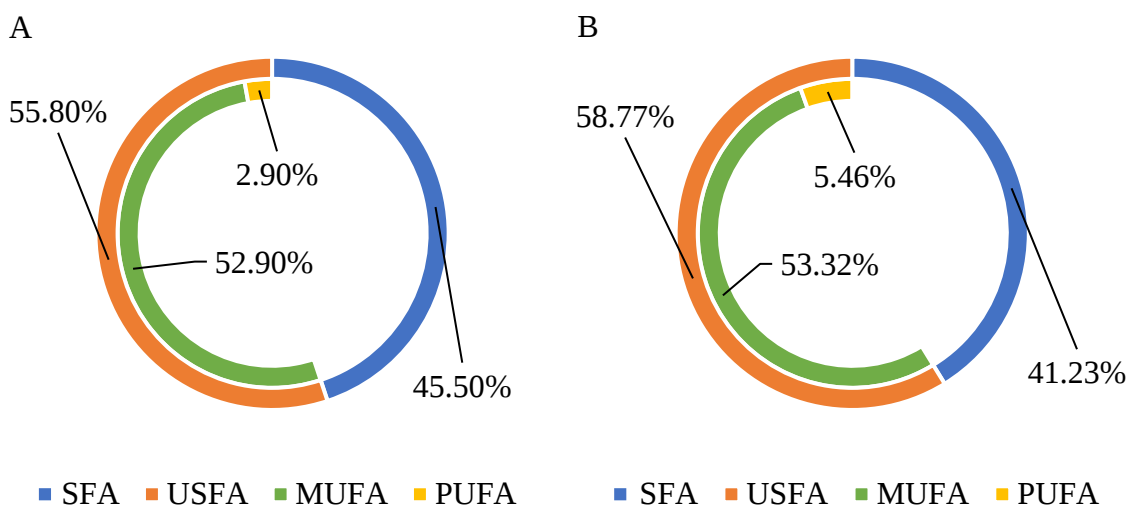
7. táblázat: Az Infogest modellel emésztett marhahús minta jelentős mennyiségben jelen levő zsírsavai és a zsírsavak felszabadulási arányai átlag + szórás formájában; n=6

Jelentősebb zsírsavak	Összes zsírsavtartalom (TFA) [%]	Szabad zsírsavtartalom (FFA) [%]	Felszabadulási arány [-]
C14:0	2,06 ± 0,18	1,44 ± 0,26	0,53 ± 0,05
C14:1n-5c	0,78 ± 0,08	0,45 ± 0,11	0,43 ± 0,06
C16:0	22,45 ± 2,05	23,75 ± 2,66	0,81 ± 0,02
C16:1n-7c	4,74 ± 0,41	3,85 ± 0,54	0,62 ± 0,04
C18:0	15,18 ± 1,51	16,78 ± 1,87	0,84 ± 0,01
C18:1n-9c	45,89 ± 4,15	38,24 ± 5,12	0,63 ± 0,03
C18:2n-6c	3,12 ± 0,30	2,56 ± 0,38	0,63 ± 0,04
C20:4n-6c	0,58 ± 0,06	0,39 ± 0,08	0,52 ± 0,06

TFA= Total Fatty Acid, FFA= Free Fatty Acid

Első sorban a marhahús átlagos biológiai hozzáférhetőségét határoztam meg a mérési adatok alapján, a mintában levő összes FFA mennyiségét osztottam az összes mintában található TFA-val, így megkaptam, hogy ez az arány $70,47 \pm 2,63\%$. A 7. táblázat TFA oszlopának értékei alapján elmondható, hogy a marhahússal végzett *in vitro* emésztés végtermékének és egyben a mintának az összes zsírsavtartalma legnagyobb részben, közel 46%-ban egyszeresen telítetlen olajsavból (C18:1n-9c) áll, továbbá nagy arányban, 22,5%-ban található benne telített palmitinsav (C16:0) és 15%-ban sztearinsav (C18:0). Az emésztményből mért összes zsírsavat tekintve nagyobb részt a telítetlen zsírsavak (USFA) vannak jelen $58,77 \pm 5,03\%$ -ban, melyből $53,32 \pm 4,75\%$ az egyszeresen telítetlen (MUFA) és $5,46 \pm 0,83\%$ a többszörösen telítetlen (PUFA) zsírsavak aránya. Emellett a marhahús emésztmény $41,23 \pm 3,85\%$ -át alkotják telített zsírsavak (SFA). Ezek az értékek, a tejszín mintához

hasonlóan, az élelmiszer-mátrix, azaz a sült marhahús emésztése során hozzáférhetővé vált zsírsavösszetételét tükrözik. Az általam mért értékeket, a tejszín mintához hasonlóan, összevetettem más kutatók eredményeivel (Antonini és munkatársai, 2020). A kutatók munkájuk során chia mag és goji bogyó püré polifenol tartalmának hatását vizsgálták darált marhahúsból készített húspogácsák *in vitro* emésztését követően. Többek között vizsgálták a minta zsírsavprofilját, melynek eredményeit a 17. ábrán hasonlítottam össze az általam mért zsírsavak értékeivel.



17. ábra: Marhahús *in vitro* emésztést követően mért zsírsav profilja Antonini és munkatársai (A) által végzett kutatás, és az általam (B) végzett mérések alapján, ahol SFA (Saturated Fatty Acid) a telített zsírsavakat, USFA (Unsaturated Fatty Acid) a telítetlen zsírsavakat, MUFA (Monounsaturated Fatty Acid) az egyszeresen telítetlen zsírsavakat és PUFA (Polyunsaturated Fatty Acid) a többszörösen telítetlen zsírsavakat jelöli.

A sült marhahús esetében nagyobb mértékű eltérést tapasztaltam a kutatók és az általam mért eredmények között, mint a tejszín mintánál. A telített zsírsavak esetében több, mint 10%, a telítetlen zsírsavak esetén több, mint 5% a relatív eltérésük. Az egyszeresen telítetlen zsírsavaknál nem tapasztaltam ilyen mértékű különbséget, azonban az általam mért többszörösen telítetlen zsírsavak értéke közel kétszerese a kutatók eredményének. Feltételezem, hogy ezek a jelentős eltérések a mátrixok diverzitásából adódhatnak.

Érdemesnek véltem a sült marhahús minta zsírsavainak felszabadulási arányait részletesebben elemezni. A felszabadulási arányt tekintve elmondható, hogy a telített zsírsavak esetében magasabb arány tapasztalható, példának okán a legnagyobb mennyiségben jelen levő telítetlen

olajsav (C18:1n-9c) felszabadulási aránya $0,63 \pm 0,03$, míg a telített palmitin- (C16:0) és sztearinsav (C18:0) esetében ezek az értékek $0,81 \pm 0,02$ és $0,84 \pm 0,01$. Ebből arra következtettek, hogy a telített zsírsavak felszabadulása feltehetően kedvezőbb a sült marhahús mátrixból. Ez azonban szemben áll azzal a korábbi feltevéssemmel, hogy a telített zsírsavak kevésbé képesek emésztődni a telítetlen zsírokhoz viszonyítva. Mindazonáltal a 7. táblázatban kiemelt zsírsavak közepes (MCFA = Medium Chain Fatty Acid) és hosszú szénláncú zsírsavak (LCFA = Long Chain Fatty Acid), ami okozhatja a nagyobb mértékű felszabadulást. Ezek alapján pedig azt a konklúziót vonom le, hogy a zsírsavak hosszúsága feltehetően nagyobb befolyást gyakorol a felszabadulásra az emésztés során, mint a telítettség fok.

Ezt alátámasztja Tormási és Abrankó (2023) kutatása is, akik eltérő enzimösszetétellel, gyomor- és hasnyálmirigy lipázzal és többféle mátrixszal végeztek *in vitro* emésztésszimulációs kísérleteket. Kutatásuk során arra a következtetésre jutottak, hogy a gyomor lipáz és a hasnyálmirigy lipáz eltérő pozícióban levő zsírsavakat céloznak meg az emésztés során, azaz más és más zsírsavakat képesek hatékonyan bontani. Ez lényeges eredmény több tényező miatt is, például a potenciális vizsgálati paraméterek meghatározása, a kísérlethez legalkalmasabb enzimek, illetve a megfelelő zsírsavprofillal rendelkező mátrix választása szempontjából. Emellett vizsgálták az emésztésszimuláció során lezajlott lipolízis mértékét, mely során azt állapították meg, hogy a rövid- és közepes lánc hosszúságú zsírsavak felszabadulási aránya 0,55-0,65 között volt, míg a hosszú szénláncú zsírsavaké 0,69-0,73 között mozgott. Ebből arra következtettek, hogy valóban a szénlánc hosszúsága lehet leginkább befolyással a zsírsavak felszabadulására.

5.4 A fekete tea kivonatok hatása a marhahús hozzáférhető zsírsavtartalmára

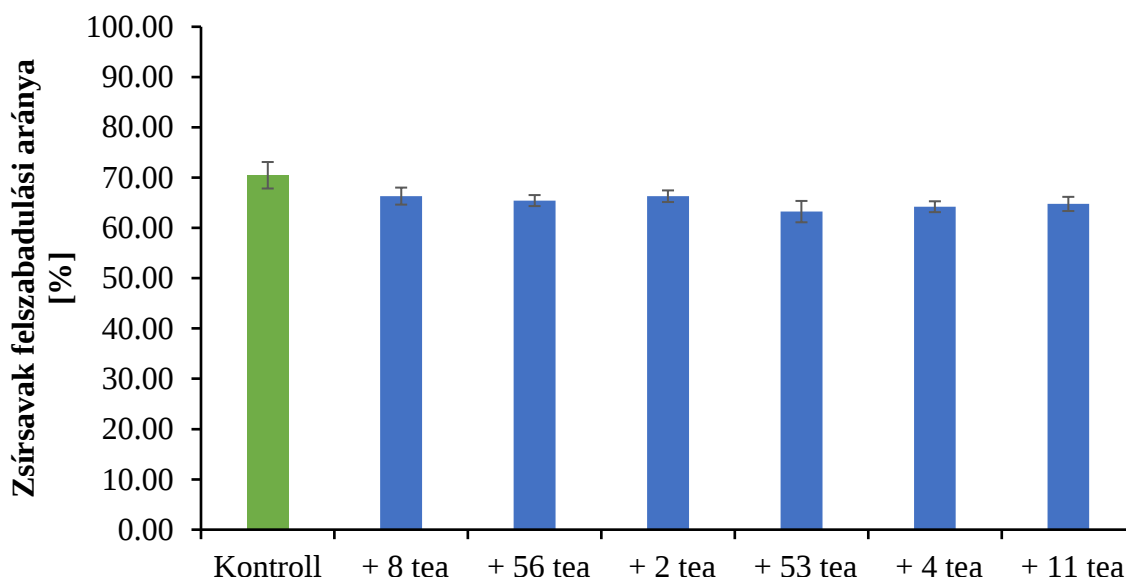
A sült marhahús tea kivonatokkal való emésztésének eredményeit értékelve ugyancsak arra kerestem a választ, hogy a hozzáadott tea csersavtartalmának hatására hogyan változik a marhahús zsírsavtartalmának emészthetősége. Az *in vitro* emésztésszimuláció során már egy, a legalacsonyabb dózisban (1:1) adagoltam a tea kivonatot, majd elvégeztem az emésztésszimulációt, a további mintaelőkészítéseket és vizsgálatokat a tejszínnél leírtak szerint. A kutatás kezdetén azt feltételeztem, hogy a zsíremésztés gátlásának hátterében a tea kivonatok csersavtartalma állhat, így összevetettem a teákban található csersav értékeit, illetve az emésztményekből mért hozzáférhető zsírsavak eredményeit, azonban nem tudtam alátámasztani, hogy determinisztikus kapcsolat állna fenn az értékek között ($R^2 = 0,226$; ahol

R^2 : a determinációs együttható; Értéke -1 és 1 között változhat, mely -1 és 1-hez közelítve erős kapcsolatot mutat a két adatsor között. Ha 0-hoz közelít az érték, az adatsorok közötti kapcsolat gyenge). Ebből arra következtettek, hogy a zsíremésztésre kifejtett gátló hatás nem arányos a tea csersavtartalmával, amit a 8. táblázat adataira, illetve az elvégzett korrelációs elemzésre alapozok.

8. táblázat: A teák csersavtartalmának és a sült marhahús *in vitro* emésztése során hozzáférhetővé vált zsírsavak arányának értékei

Tea sorszáma	Csersavtartalom [mg/g]	Hozzáférhető zsírsavak aránya [%]
8	166,3	66,32
56	161,3	65,44
2	127,7	66,30
53	130,2	63,24
4	102,4	64,21
11	87,7	64,77

A zsíremészthetőség vizsgálata során kapott eredmények értékelésekor összehasonlítottam a marhahús önmagában, illetve a tea kivonatok hozzáadásával történt emésztésszimulációk során kapott felszabadulási arányokat az TFA-ra vonatkozóan, melyet a 18. ábrán szemléltettem.



18. ábra: A különböző tea kivonatok hozzáadásának hatása a marhahús zsírsavainak felszabadulási arányára; a teafajták csersavtartalma: 8: 166,3 mg/g, 56: 161,3 mg/g, 2: 127,7 mg/g, 53: 130,2 mg/g, 4: 102,4 mg/g, 11: 87,7 mg/g.

Az ábrán jól látható, hogy mindegyik tea kivonat csökkentette a marhahús zsírsavainak felszabadulási arányait, amiből arra tudtam következtetni, hogy a tea csersavtartalma vagy akár más komponense bizonyosan gátló hatást fejt ki a lipidemésztés folyamatára a marhahús mátrixban.

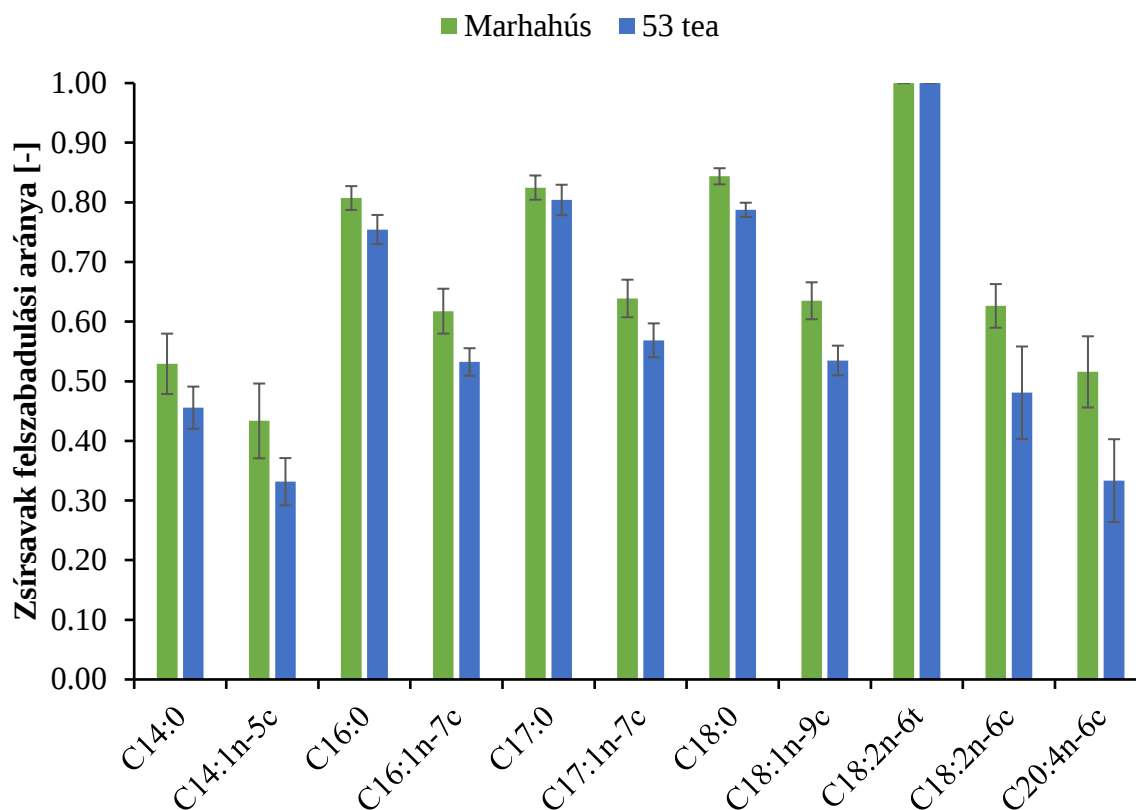
Egytényezős varianciaanalízist alkalmaztam, mellyel összehasonlítottam az összes hozzáadott tea kivonat hatását a mintában levő zsírsavak felszabadulási arányaira. Ez alapján megállapítottam, hogy a főzetek redukáló hatásai szignifikánsan eltérnek egymástól ($p=0,010$). Ahhoz, hogy a tea kivonatok hozzáadásának hatását külön értékeljem, F próbát, majd kétmintás t-próbát végeztem, melyek eredményeit a 9. táblázatban foglaltam össze.

9. táblázat: Az 1:1 arányban adagolt tea kivonatok hatásainak statisztikai értékelése a marhahús hozzáférhető zsírsavainak felszabadulási arányára. H_0 = nullhipotézis. F próba elvégzésére a szórásnégyzetek egyenlőségének megállapítása miatt van szükség. Ha $p < 0,05$, a szórásnégyzetek nem egyenlőek, ennek megfelelően kell a t-próbát számítani. Ha a t érték < kritikus t érték, elfogadjuk a nullhipotézist. Következtetések: A: A tea kivonat hozzáadása nincs jelentős hatással a zsírsavak felszabadulási arányára. B: A tea kivonat hozzáadása szignifikáns eltérést eredményez a zsírsavak felszabadulására vonatkozóan.

Tea kivonatok hatásának értékelése – Kétmintás t-próba					
Tea kivonat	F próba p érték	t érték	kritikus t érték (kétszélű)	H_0	Következtetés
8	0,178	3,169	2,262	elutasítom	B
56	0,041	3,996	2,571	elutasítom	B
2	0,050	3,519	2,262	elutasítom	B
53	0,342	4,780	2,306	elutasítom	B
4	0,056	4,915	2,306	elutasítom	B
11	0,101	4,604	2,262	elutasítom	B
Eredmény: Minden tea kivonat szignifikáns mértékű gátló hatást gyakorolt a marhahús zsírsavainak felszabadulási arányára.					

A tea kivonatok mindegyike szignifikáns mértékben gátolta a marhahús zsírsavainak felszabadulását, mely feltehetően a teák csersavtartalmának tulajdoníthatóak, azonban az sem zárható ki, hogy számos más, a teákban található bioaktív komponens is részt vehetett a lipidemésztés redukálásában.

Legnagyobb mértékben az 53-as számú fekete tea kivonata csökkentette a marhahús zsírsavainak hozzáférhetőségét, így ennek a mérésnek az adatait elemeztem tovább.



19. ábra: Marhahús minta egyedüli és az 53-as fekete tea kivonat hozzáadásával történt *in vitro* emésztés során megvalósult felszabadulási arányok összehasonlítása a jelentősebb mértékben jelen levő zsírsavakra vonatkozóan

A 19. ábrán a marhahús önmagában és az 53-as számú tea kivonat adicionálásával történt emésztésszimulációt követően az emésztményekben mért domináns zsírsavakat emeltem ki. Az ábrán megfigyelhető, hogy a linolelaidinsav (C18:2n-6t) kivételével minden ábrázolt zsírsav esetén a tea kivonat hozzáadása csökkentette a zsírsav felszabadulásának arányát. Ahhoz, hogy az ábrázolt értékeket összehasonlítsam, F próbát, majd kétmintás t-próbát végeztem (10. táblázat). A kiemelt zsírsavak közül 11-ből 9 esetén szignifikáns eltérést tapasztaltam, amit annak tulajdonítok, hogy a tea valóban képes kifejteni gátló hatását a sült marhahús zsírsavainak felszabadulására, ami közel mindegyik kiemelt zsírsavra igaznak bizonyult.

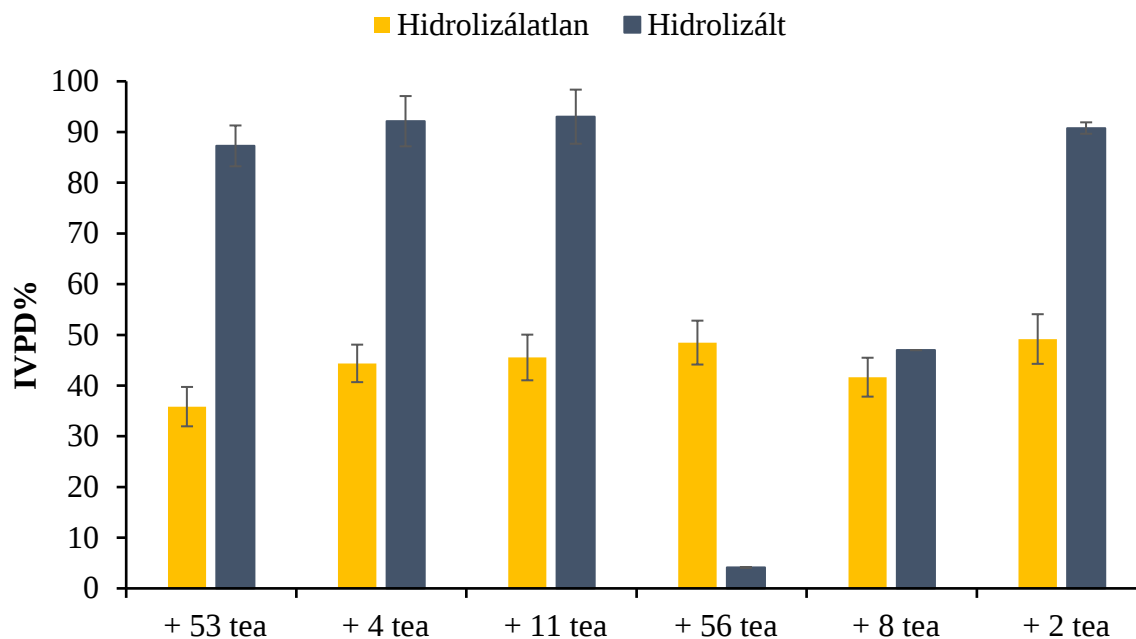
10. táblázat: Az 53-as tea kivonat hozzáadásának statisztikai értékelése a marhahús hozzáférhető zsírsavainak felszabadulási arányára. H_0 = nullhipotézis. F próba elvégzése a szórásnégyzetek egyenlőségének megállapítása miatt van szükség. Ha $p < 0,05$, a szórásnégyzetek nem egyenlőek, ennek megfelelően kell a t-próbát számítani. Ha a t érték < kritikus t érték, elfogadjuk a nullhipotézist. Következtetések: A: A tea kivonat nincs jelentős hatással a zsírsav felszabadulási arányára. B: A tea kivonat hozzáadása szignifikáns eltérést eredményez a zsírsav felszabadulását tekintve.

53-as számú tea kivonat hatásának értékelése – Kétmintás t-próba					
Zsírsavak	F próba p érték	t érték	kritikus t érték (kétszélű)	H_0	Következtetés
C14:0	0,232	2,428	2,306	elutasítom	B
C14:1n-5c	0,223	3,195	2,306	elutasítom	B
C16:0	0,206	4,141	2,306	elutasítom	B
C16:1n-7c	0,227	4,291	2,306	elutasítom	B
C17:0	0,296	1,580	2,306	elfogadom	A
C17:1n-7c	0,493	3,657	2,306	elutasítom	B
C18:0	0,454	6,580	2,306	elutasítom	B
C18:1n-9c	0,229	5,600	2,306	elutasítom	B
C18:2n-6t	-	-	-	-	-
C18:2n-6c	0,275	5,706	2,306	elutasítom	B
C20:4n-6c	0,343	4,478	2,306	elutasítom	B
Eredmény: A kiemelt 11 zsírsav közül 9 esetben tapasztalható szignifikáns eltérés a marhahús zsírsavainak felszabadulási aránya tekintetében.					

A zsírsavak felszabadulási arányának legnagyobb mértékű csökkenését az arachidonsav (C20:4n-6c; 18,2%), a linolsav (C18:2n-6c; 14,6%), a mirisztoleinsav (C14:1n-5c; 10,2%) és az olajsav (C18:1n-9c; 10%) esetén tapasztaltam, ami ugyancsak alátámasztja azt a feltevést, hogy a közepes és hosszú szénláncú zsírsavak felszabadulását nagyobb mértékben képes befolyásolni a hozzáadott tea kivonat csersavtartalma vagy más benne található bioaktív komponens. A többi kiemelt zsírsav, azaz a palmitoleinsav (C16:1n-7c; 8,5%), a mirisztinsav (C14:0; 7,4%), a heptadecénsav (C17:1n-7c; 7%), a sztearinsav (C18:0; 5,6%), a palmitinsav (C16:0; 5,3%) estében a csökkenés mértéke 10% alatt volt. A heptadecánsav (C17:0; 2,1%) felszabadulására pedig nem volt szignifikáns mértékben hatással a tea kivonat a kétmintás t-próba alapján.

5.5 A fekete tea kivonatok hatása a marhahús hozzáférhető fehérjetartalmára

A marhahús esetében a hozzáférhető fehérjetartalmat is érdemesnek véltük vizsgálni, így az emésztményekből ezekhez a vizsgálatokhoz is vettem mintát. Arra a kérdésre kerestem a választ, hogy a fekete tea csersavtartalma hogyan befolyásolja az *in vitro* fehérje-emészthetőséget. A hozzáférhető fehérjetartalom meghatározása során a mintavételt követően a mintában levő intakt fehérjék kicsapása és a hozzáférhető frakció elválasztása volt szükséges. Az oldószer által oldott fehérjéket OPA módszerrel, spektrofotometriásan határoztam meg, így megkaptam a mintában levő összes szabad aminosav mennyiségét. Azonban ezzel a hidrolizálatlan mintaelőkészítési módszerrel kizárólag a mintában levő szabad aminosavak és a benne levő di- és tripeptidek mennyiségét tudtam meghatározni, azaz nem kaptam teljesen valós, tényszerű adatot a hozzáférhető fehérjemennyiségről. Ahhoz, hogy az emésztményben levő további di- és tripeptideket alkotó aminosavak mennyiségét is meg tudjam határozni, a mintát hidrolizáltam, majd ugyancsak az OPA módszer szerint mértem, ezzel megkaptam a benne levő összes aminosav mennyiségét. A két módszer eredményei segíthetnek megérteni, hogy milyen mértékben bomlottak le a fehérjék az emésztés során, illetve a kapott eredmények segítségével pedig kalkulálható az emésztés során hozzáférhetővé vált, emészthető fehérjetartalom (IVPD%). A tea kivonatokkal végzett emésztések hidrolizált és hidrolizálatlan módszer alapján kapott eredmények függvényében ábrázoltam az emészthető fehérjetartalom értékeit (20. ábra).

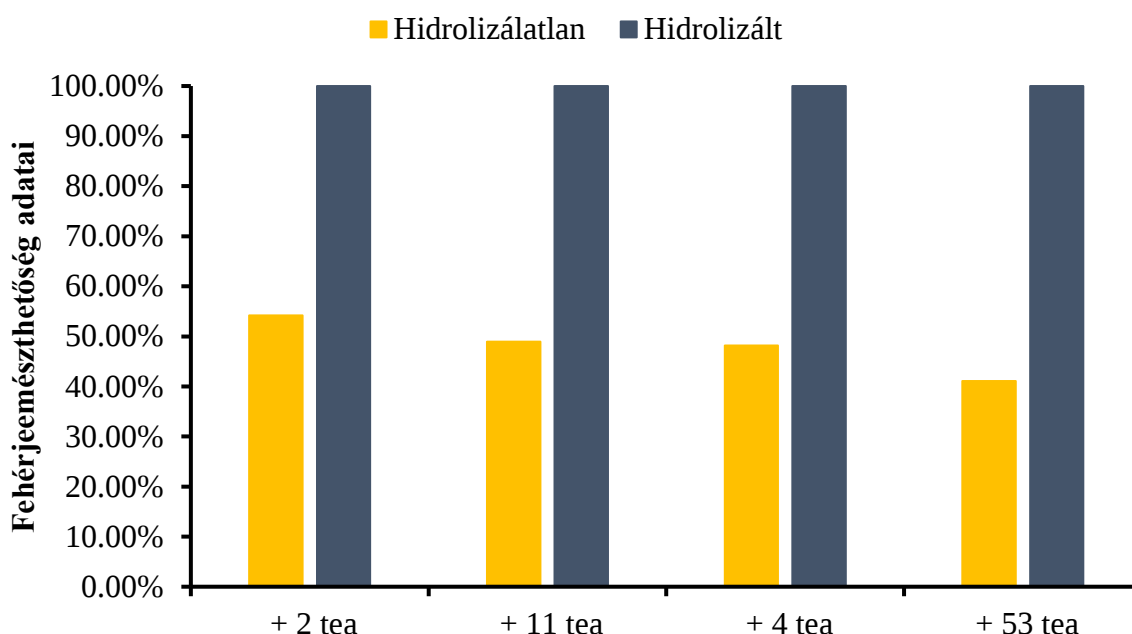


20. ábra: A különböző fekete tea kivonatokkal emésztett marhahús fehérje emészthetősége hidrolizálatlan és hidrolizált mintaelőkészítést követően; a teafajták csersavtartalma: 53: 130,2 mg/g, 4: 102,4 mg/g, 11: 87,7 mg/g, 56: 161,3 mg/g, 8: 166,3 mg/g, 2: 127,7 mg/g.

Az ábra alapján megfigyelhető, hogy az 56-os és 8-as számú tea kivonatokkal emésztett minta hidrolízis módszert követő mérésének eredményei nem bizonyultak az elvárásoknak megfelelőnek. Feltételezem, hogy az emésztmény mérésre való előkészítése során véletlen hiba léphetett fel, vagy az emberi tényező a hibaforrás, ezért ezeket az adatokat nem vontam be az értékelés során.

A fekete tea kivonatokkal emésztett sült marhahús emésztmény metanol oldható fehérjetartalmának számottevő része nem szabad aminosavak formájában van jelen, ugyanis az 56-os tea értékeit kivéve minden tea esetében a hidrolizált mérés értéke magasabb a hidrolizálatlan mérés eredményénél. Ezek a magasabb értékek abból adódnak, hogy a hidrolizálatlan méréssel is kimutatható szabad aminosavak mellett, a hidrolizációt követően mérhetővé váltak azok az aminosavak is, melyek a mintában di- és tripeptidek formájában voltak jelen. Ezeknek az aminosavaknak az egyesével történő kvalitatív és kvantitatív meghatározására ezzel a mérési módszerrel a munkám során sajnos nem volt lehetőségem, azonban ez egy további kutatási lehetőséget rejthet.

Érdeemesnek véltem összehasonlítani a hidrolizálatlan OPA mérés eredményeit a hidrolizált OPA eredményekkel, ami segíthet meghatározni, hogy mennyivel több aminosav szabadult fel a hidrolizált módszer során, ami információt szolgáltat a fehérjeemésztés hatékonyságáról. A 2-es tea esetében a hidrolizálatlan OPA értéke 54%-a, azaz több, mint a fele a hidrolizált mérés eredményének. A 11-es és 4-es teák hidrolizálatlan eredményei 49%-a és 48%-a a hidrolizált értékeknek. Végül az 53-as tea hidrolizálatlan értéke 41%-a a hidrolizált mérési eredménynek. Ezeket az értékeket szemléltettem az 21. ábrán, ahol a hidrolizált értékek jelentik a 100%-ot, a hidrolizálatlan értékek pedig százalékosan mutatják a két módszer eredményeinek különbségét. Ebből arra tudok következtetni, hogy a tea csersavtartalma nem függ össze a kétféle OPA módszer során hozzáférhetővé vált fehérje eredményekkel vagy a fehérjeemésztés hatékonyságával.



21. ábra: A különböző fekete tea kivonatokkal emésztett marhahús fehérje emészthetőségeinek százalékos összehasonlítása hidrolizálatlan és hidrolizált mintaelőkészítést követően; a teafajták csersavtartalma: 2: 127,7 mg/g, 11: 87,7 mg/g, 4: 102,4 mg/g, 53: 130,2 mg/g.

A sült marhahús emésztése során hozzáadott tea kivonatok a 20. ábra alapján láthatóan eltérő módon hatottak a mintában levő fehérjék emészthetőségére. A hidrolizált módszerrel kapott értékek alapján a legkisebb fehérjeemészthetőséget az 53-as számú, a legnagyobb értéket azonban a 11-es tea kivonatának hozzáadása eredményezte. A hidrolizált mintaelőkészítési

folyamat eredményeit tekintve kijelenthető, hogy a teák csersavtartalma közepesen erős korrelációban áll a mért fehérjeemészthetőség értékeivel ($R^2 = 0,714$; ahol R^2 : a determinációs együttható; Értéke -1 és 1 között változhat, mely -1 és 1-hez közelítve erős kapcsolatot mutat a két adatsor között. Ha 0-hoz közelít az érték, az adatsorok közötti kapcsolat gyenge).

A fehérjeemészthetőség további értékeléséhez egytényezős varianciaanalízist alkalmaztam. Összevettem egymással a hidrolizálatlan OPA módszer által kapott eredményeket, majd a hidrolizált mérések eredményeit is, hogy megbizonyosodjak arról, milyen mértékben befolyásolják a tea kivonatok a sült marhahús fehérjeemészthetőségét a két módszer szerint, melyet a 11. táblázatban részleteztem. A hidrolizálatlan előkészítési módszer értékei alapján van különbség a kiváltott hatás tekintetében ($p = 5,68E-05$), ellenben a hidrolizált minták eredményei ($p = 0,122$) ezt nem támasztják alá. Ezt annak tulajdonítom, hogy a darált, sült marhahús mátrix feltehetően komplexnek bizonyult a magas (16%) zsírtartalmával.

11.táblázat: A marhahús *in vitro* emésztése során hozzáadott tea kivonatok hatásának statisztikai elemzése a két féle, hidrolizálatlan és hidrolizált módszer értékei alapján. H_0 = nullhipotézis. Szignifikáns különbség $p < 0,05$ érték esetén lehetséges.

Hozzáadott tea kivonatok hatásainak értékelése - Egytényezős varianciaanalízis			
Tényezők	p érték	H_0	Következtetés
Hidrolizálatlan mintaelőkészítés	5,68E-05	elutasítom	Eltérő hatással vannak a tea kivonatok a fehérje-emészthetőségre.
Hidrolizált mintaelőkészítés	0,122	elfogadom	Nincs szignifikáns eltérés a fehérje-emészthetőségre kifejtett hatások között.
Eredmény: A sült marhahús <i>in vitro</i> emésztése során a hozzáadott tea kivonatok a hidrolizálatlan módszer eredményei szerint eltérően befolyásolták a fehérjeemészthetőséget, a hidrolizált módszer szerint azonban ez nem volt bizonyítható szignifikáns mértékben.			

A munkám során összességében a két mátrix karakterizálása és azok összevetése volt célom, illetve a tea kivonatok hozzáadásának hatását vizsgáltam. A tejszín emésztése során a benne levő zsírsavak körülbelül 64%-a vált hozzáférhetővé, míg a sült marhahús esetében a zsírsavak 70,5%-a volt meghatározható a mérések során. Ebből arra következtettem, hogy a kutatás és a mérések eredményeit erősen befolyásolja a mátrix helyes megválasztása.

A tea kivonatok eltérő dózisban történt adagolása nem mutatott jelentős változást a tejszín mátrix zsírsavainak felszabadulása tekintetében, így a csersavnak tulajdonított gátlást

feltételezhetően nem a hozzáadott tea kivonat mennyisége befolyásolta. A legalacsonyabb dózis eredményeinek értékelésével tovább haladva a tejszín minta esetében az 56-os tea kivonatának hozzáadása csak néhány zsírsav esetében gátolta szignifikáns mértékben a felszabadulásukat. Ellenben a sült marhahús mintánál az 53-as tea kivonat hozzáadása közel az összes zsírsav felszabadulására szignifikáns mértékű gátlást fejtett ki. Ez is alátámasztja a mátrix helyes megválasztásának fontosságát a kutatás szempontjából. Továbbá az eredmények alapján mindkét mátrix esetében elmondható, hogy a zsírsavak felszabadulását nagyobb mértékben befolyásolta a zsírsavláncok hosszúsága, mint a telítettségük foka.

A sült marhahús esetében az emésztésszimuláció során emészthetővé vált fehérjetartalom vizsgálata alapján azt állapítottam meg, hogy a hozzáadott tea kivonatok a két mintaelőkészítési módszer szerint eltérő hatást fejtettek ki a mátrix fehérjetartalmára. A hidrolizálatlan módszer jelentős eltérést mutatott az eredmények között, míg a hidrolizált módszer szerint szignifikáns eltérés nem volt megfigyelhető. Ezt a különböző eredményt a sült marhahús összetételének, főképpen a magas zsírtartalmának tulajdonítom, mely feltételezhetően zavaró tényező volt a fehérjére vonatkozó mérések során.

6. ÖSSZEGZÉS

Az elmúlt években az a tendencia figyelhető meg, hogy az emberek egyre inkább törekednek az egészségtudatos és kiegyensúlyozott táplálkozásra. Az életfolyamataink működése érdekében szükséges biztosítanunk a megfelelő mennyiségű és minőségű makro- és mikromolekulák; ásványi anyagok, vitaminok és nyomelemek bevitelét. A táplálkozás során bevitt lipidek képesek tárolni az energiát és a tápanyagokat, illetve a zsírban oldódó vitaminok felszívódásáért és raktározásáért a zsírok felelnek. A fehérjék és azok aminosavai fontos építőkövei a szervezet számára és elengedhetetlen szerepük van a szállító, szabályozó, enzimatikus és védelmi folyamatokban. Emellett a szénhidrátok is fontos szerepet töltenek be a szervezet működésében, hiszen ezek szolgáltatják és biztosítják a szükséges energiát.

Az egészség megőrzése érdekében fontos a tápanyagok bevitelét egyensúlyban tartani a szervezet számára szükséges mennyiségekkel. A nem megfelelő mennyiségben fogyasztott vagy rossz minőségű táplálék hosszútávon egészségügyi problémákat okozhat. Példának okán a rendszeresen magas szénhidrát és zsírbevitel elhízáshoz vezethet, illetve növelheti más betegségek kialakulásának kockázatát. Ezek elkerülése érdekében fontos a mértékletes, megfelelő és változatos táplálkozás, továbbá az emésztés alaposabb ismerete is fontos lehet az egészségmegőrzés szempontjából.

Mára már számos *in vitro* emésztésszimulációs modellt dolgoztak ki a kutatók, annak érdekében, hogy jobban megismerjük és tanulmányozhassuk az emberi emésztés folyamatát. Az INFOGEST modell egy egységesített és nemzetközi szinten elfogadott *in vitro* emésztésszimulációs modell, mely által lehetővé válik jelentősen bővíteni az emésztésről eddig tudott ismereteinket. Alkalmazásával olyan tudásra tehetünk szert, mint például az élelmiszerek emészthetőségének meghatározása, a különböző komponensek együttemésztésének vizsgálata vagy bioaktív komponensek és táplálékkiegészítők hatása a tápanyagok felszívódására. Rengeteg új lehetőséget nyit az egészséges, fenntarthatóbb vagy akár a funkcionális élelmiszerek fejlesztésében.

Kutatásom során az általam vizsgált két mátrix, a tejszín zsíremészthetőségének és a marhahús minta zsír- és fehérje-emészthetőségének, továbbá a fekete tea kivonatok csersavtartalma által a két mátrix komponenseire kifejtett hatásának vizsgálatát tűztam ki célomul. Azt feltételeztem, hogy a fekete teában található csersavak gátló hatást fejtenek ki a lipidemésztésre. A tejszín minta hozzáférhetővé vált zsírsavtartalmának vizsgálata során azt

állapítottam meg, hogy a rövidebb és telített szénláncú zsírsavak feltehetően kevésbé és nehezebben emésztődnek, szemben a sztearinsavval és az annál hosszabb szénláncú zsírsavakkal, melyek nagyobb mértékben és gyorsabban szabadulhatnak fel az emésztés során. Ezt követően vizsgáltam a tea kivonatok eltérő dózisban való hozzáadásának befolyásoló erejét, azonban a főzetek addicionált mennyisége és az emésztmények hozzáférhetővé vált zsírsavai között nem véltem összefüggést felfedezni, következésképpen a csersavnak tulajdonított lipáz enzim gátló hatást feltehetően nem a hozzáadott mennyiség határozza meg. Ugyan a különböző tea kivonatok eltérő mértékben gátolták a tejszín zsírsavainak hozzáférhetőségét, a hatás mértéke nem volt arányos a teák csersavtartalmával.

A marhahús minta esetében a zsírtartalmára, illetve a fehérjetartalmára gyakorolt hatást követtem nyomon. A sült marhahús emésztése során hozzáférhetővé vált zsírsavak a tea kivonatok hozzáadásából adódóan egyértelműen csökkent hozzáférhetőséget mutattak. A teák csersavtartalma és a hozzáférhető zsírsavak eredményei között azonban ebben az esetben sem tapasztaltam determinisztikus kapcsolatot, mely alátámasztja korábbi felvetésemet. Emellett a fekete tea kivonatok sült marhahús fehérjetartalmára kifejtett hatását vizsgáltam. A teák csersavtartalma a fehérjeemészthetőség értékeivel sem állt összefüggésben, továbbá az általam végzett mérések alapján nem tudtam határozottan alátámasztani, hogy a tea kivonatok ténylegesen hogyan befolyásolják a sült marhahúsban levő fehérjék emészthetőségét, amit a mátrix komplexitásának tulajdonítok.

Mindent összevetve a fekete tea kivonatok csersavtartalma valóban rendelkezik lipáz enzim gátló hatással, azonban ennek megvalósulása és mértéke nagymértékben függ az élelmiszer mátrix összetettségétől. Végül pedig nem tudtam bizonyítani, hogy a teában levő csersav miképpen módosítja a fehérjék emészthetőségét, így ennek meghatározásához további kutatás szükséges.

Összességében megfigyelhető, hogy a polifenolok fontos szerepet játszanak az emberi egészség megőrzésében, hiszen gyulladáscsökkentő és antioxidáns tulajdonságuk révén számtalan betegség megelőzésében közreműködhetnek. A polifenolokban gazdag étrend hozzájárul az egészséges életmódhoz, azonban további kutatások elvégzése szükséges annak érdekében, hogy alaposabban megismerhessük és megérthessük, miképp hatnak az emberi emésztőrendszerre és hogyan, milyen formában és mennyiségben szükséges bevinni a szervezetbe ahhoz, hogy megfelelően hasznosítani tudjuk jótékony hatásait.

IRODALOMJEGYZÉK

- Abrankó, L. (2018. NOVEMBER). Élelmi polifenolok. *Magyar Kémikusok lapja*, LXXIII. (11), 345-351. DOI: 10.24364/MKL.2018.11.
- Alexandropoulou, I., Komaitis, M., and Kapsokefalou, M. (2006). Effects of iron, ascorbate, meat and casein on the antioxidant capacity of green tea under conditions of *in vitro* digestion. *Food chemistry*, 94(3), 359-365. DOI: 10.1016/j.foodchem.2004.11.023.
- Antonini, E., Torri, L., Piochi, M., Cabrino, G., Meli, M. A., and De Bellis, R. (2020). Nutritional, antioxidant and sensory properties of functional beef burgers formulated with chia seeds and goji puree, before and after *in vitro* digestion. *Meat Science*, 161, 108021. DOI: 10.1016/j.meatsci.2019.108021.
- Babu, A., Roy, S., Baruah, R. D., Deka, B., Ahmed, K. Z., Bayen, S. and Sarkar, S. (2023). Impact of Climate Change on Tea Cultivation and Adaptation Strategies: Special Emphasis on Tea Pests in North East India. *Climate Change and Agriculture: Perspectives, Sustainability and Resilience*, 285-289. DOI: 10.1002/9781119789789.ch13.
- Barbehenn, R. V. and Constabel, C. P. (2011). Tannins in plant–herbivore interactions. *Phytochemistry*, 72(13), 1551-1565. DOI: 10.1016/j.phytochem.2011.01.040.
- Beermann, C., Jelinek, J., Reinecker, T., Hauenschild, A., Boehm, G. and Klör, H. U. (2003). Short term effect of dietary medium-chain fatty acids and n-3 long-chain polyunsaturated fatty acids on the fat metabolism of healthy volunteers. *Lipids in health and disease*, 2(1), 1-10. DOI: 10.1186/1476-511X-2-10.
- Bligh, E. G. and Dyer, W. J. (1959). A rapid method of total lipid extraction and purification. *Canadian journal of biochemistry and physiology*, 37(8), 911-917. DOI: 10.1139/o59-099.
- Bohn, T., Carriere, F., Day, L., Deglaire, A., Egger, L., Freitas, D., Golding, M., Le Feunteun, S., Macierzanka, A., Menard, O., Miralles, B., Moscovici, A., Portmann, R., Recio, I., Rémond, D., Santé-Lhoutelier, V., Wooster, T. J., Lesmes, U., Mackie, A. R. and Dupont, D. (2018). Correlation between *in vitro* and *in vivo* data on food digestion. What can we predict with static *in vitro* digestion models? *Critical reviews in food science and nutrition*, 58(13), 2239-2261. DOI: 10.1080/10408398.2017.1315362.
- Brodkorb, A., Egger, L., Alminger, M., Alvito, P., Assunção, R., Ballance, S., Bohn, T., Bourlieu-Lacanal, C., Boutrou, R., Carrière, F., Clemente, A., Corredig, M., Dupont, D., Dufour, C., Edwards, C., Golding, M., Karakaya, S., Kirkhus, B., Le Feunteun, S., Lesmes, U., Macierzanka, A., Mackie, A. R., Martins, C., Marze, S., McClements, D. J., Ménard, O., Minekus, M., Portmann, R., Santos, C. N., Souchon, I., Singh, R. P.,

- Vegarud, G. E., Wickham, M. S. J., Weitschies, W. and Recio, I. (2019). INFOGEST static *in vitro* simulation of gastrointestinal food digestion. *Nature Protocols*, 14(4), 991-1014. DOI: 10.1038/s41596-018-0119-1.
- Caballero, B., Allen, L. and Prentice, A. (szerk.). (2005). *Encyclopedia of human nutrition*. Elsevier Academic Press. ISBN: 0-12-150110-8.
- Cirkovic Velickovic, T. D. and Stanic-Vucinic, D. J. (2018). The role of dietary phenolic compounds in protein digestion and processing technologies to improve their antinutritive properties. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 17(1), 82-103. DOI: 10.1111/1541-4337.12320.
- Dai, F., Chen, W. F. and Zhou, B. (2008). Antioxidant synergism of green tea polyphenols with α -tocopherol and l-ascorbic acid in SDS micelles. *Biochimie*, 90(10), 1499-1505. DOI: 10.1016/j.biochi.2008.05.007.
- Dai, J., Sameen, D. E., Zeng, Y., Li, S., Qin, W. and Liu, Y. (2022). An overview of tea polyphenols as bioactive agents for food packaging applications. *LWT*, 167, 113845. DOI: 10.1016/j.lwt.2022.113845.
- Durazzo, A., Lucarini, M., Souto, E. B., Cicala, C., Caiazzo, E., Izzo, A. A., Novellino, E., Santini, A. (2019). Polyphenols: A concise overview on the chemistry, occurrence, and human health. *Phytotherapy Research*, 33(9), 2221-2243. DOI: 10.1002/ptr.6419
- Egger, L., Ménard, O., Baumann, C., Duerr, D., Schlegel, P., Stoll, P., Vergères, G., Dupont, D. and Portmann, R. (2019). Digestion of milk proteins: Comparing static and dynamic *in vitro* digestion systems with *in vivo* data. *Food Research International*, 118, 32-39. DOI: 10.1016/j.foodres.2017.12.049
- Fonyó, A. (2011). Az orvosi ételtan tankönyve. Medicina Könyvkiadó Zrt.
- Gaylard, L. (2015). *The Tea Book: Experience the World's Finest Teas*. Dorling Kindersley Ltd. ISBN: 10 : 9781465436061.
- Glisan, S. L., Grove, K. A., Yennawar, N. H. and Lambert, J. D. (2017). Inhibition of pancreatic lipase by black tea theaflavins: Comparative enzymology and in silico modeling studies. *Food chemistry*, 216, 296-300. DOI: 10.1016/j.foodchem.2016.08.052.
- Golding, M. and Wooster, T. J. (2010). The influence of emulsion structure and stability on lipid digestion. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, 15(1-2), 90-101. DOI: 10.1016/j.cocis.2009.11.006.
- Gombau, J., Nadal, P., Canela, N., Gómez-Alonso, S., García-Romero, E., Smith, P., Hermosín-Gutiérrez, I., Canals, J. M. and Zamora, F. (2019). Measurement of the interaction between mucin and oenological tannins by Surface Plasmon Resonance (SPR); relationship with astringency. *Food Chemistry*, 275, 397-406. DOI: 10.1016/j.foodchem.2018.09.075.

- Gondoin, A., Grussu, D., Stewart, D. and McDougall, G. J. (2010). White and green tea polyphenols inhibit pancreatic lipase *in vitro*. *Food Research International*, 43(5), 1537-1544. DOI: 10.1016/j.foodres.2010.04.029.
- Griffiths, D. W. (1986). The inhibition of digestive enzymes by polyphenolic compounds. *Nutritional and toxicological significance of enzyme inhibitors in foods*, 509-516. DOI: 10.1007/978-1-4757-0022-0_29.
- Hammad, H., Ma, M., Hydamaka, A. W., Elkhedir, A. and Jin, G. (2019). Effect of freeze and re-freeze on chemical composition of beef and poultry meat at storage period 4.5 months (SP4. 5.). *J. Food Process Technol*, 10(2). DOI: 10.4172/2157-7110.1000791.
- Holló, G., Csapó, J., Tőzsér, J., Holló, I., és Szűcs, E. (2000). A fajta és az élősúly hatása holstein-fríz és magyar tarka tehenek húsának zsírsav- és aminosav-összetételére, valamint a fehérje biológiai értékére. *Acta Agraria Kaposváriensis*, 4(2), 1-10.
- ISO. (2017). MSZ EN ISO 12966-2:2017. Zsírsav-metil-észterek gázkromatográfiás meghatározása - 2. rész: A zsírsav-metil-észterek előállítása. Állati és növényi zsírok és olajok: International Organization for Standardization.
- Juhel, C., Armand, M., Pafumi, Y., Rosier, C., Vandermander, J. and Lairon, D. (2000). Green tea extract (AR25®) inhibits lipolysis of triglycerides in gastric and duodenal medium *in vitro*. *The Journal of nutritional biochemistry*, 11(1), 45-51. DOI: 10.1016/S0955-2863(99)00070-4.
- Khan, N. and Mukhtar, H. (2007). Tea polyphenols for health promotion. *Life sciences*, 81(7) 519-533. DOI: 10.1016/j.lfs.2007.06.011.
- Khan, N. and Mukhtar, H. (2013). Tea and Health: Studies in Humans. *Current Pharmaceutical Design*, 19(34), 6141-6147. DOI: 10.2174/1381612811319340008.
- Khan, N. and Mukhtar, H. (2018). Tea polyphenols in promotion of human health. *Nutrients*, 11(1), 39. DOI: 10.3390/nu11010039.
- Koo, S. I. and Noh, S. K. (2007). Green tea as inhibitor of the intestinal absorption of lipids: potential mechanism for its lipid-lowering effect. *The Journal of nutritional biochemistry*, 18(3), 179-183. DOI: 10.1016/j.jnutbio.2006.12.005.
- Kopf-Bolanz, K. A., Schwander, F., Gijs, M., Vergères, G., Portmann, R. and Egger, L. (2012). Validation of an *in vitro* digestive system for studying macronutrient decomposition in humans. *The Journal of Nutrition*, 142(2), 245-250. DOI: 10.3945/jn.111.148635
- Lindmark Månsson, H. (2008). Fatty acids in bovine milk fat. *Food & nutrition research*, 52(1), 1821. DOI: 10.3402/fnr.v52i0.1821.
- Luo, J., Liu, L., Liu, T., Shen, Q., Liu, C., Zhou, H. and Ren, F. (2020). Simulated *in vitro* infant gastrointestinal digestion of yak milk fat globules: A comparison with cow milk fat globules. *Food chemistry*, 314, 126160. DOI: 10.1016/j.foodchem.2020.126160.

- Mackie, A. (2020). Insights and gaps on protein digestion. *Current Opinion in Food Science*, 31, 96-101. DOI: 10.1016/j.cofs.2020.03.006.
- Marín, L., Miguélez, E. M., Villar, C. J. and Lombó, F. (2015). Bioavailability of dietary polyphenols and gut microbiota metabolism: antimicrobial properties. *BioMed Research International*. DOI: 10.1155/2015/905215.
- McAfee, A. J., McSorley, E. M., Cuskelly, G. J., Moss, B. W., Wallace, J. M., Bonham, M. P. and Fearon, A. M. (2010). Red meat consumption: An overview of the risks and benefits. *Meat science*, 84(1), 1-13. DOI: 10.1016/j.meatsci.2009.08.029.
- McCance, R. A. and Widdowson, E. M. (2014). *McCance and Widdowson's The Composition of Foods*. Royal Society of Chemistry. ISBN: 10 : 1849736367
- McClements, D. J. and Li, Y. (2010). Review of *in vitro* digestion models for rapid screening of emulsion-based systems. *Food & function*, 1(1), 32-59. DOI: 10.1039/C0FO00111B.
- Minekus, M., Alming, M., Alvito, P., Ballance, S., Bohn, T., Bourlieu, C., Carrière, F., Boutrou, R., Corredig, M., Dupont, D., Dufour, C., Egger, L., Golding, M., Karakaya, S., Kirkhus, B., Le Feunteun, S., Lesmes, U., Macierzanka, A., Mackie, A., Marze, S., McClements, D. J., Ménard, O., Recio, I., Santos, C. N., Singh, R. P., Vegarud G. E., Wickham, M. S. J., Weitschies, W. and Brodkorb, A. (2014). A standardised static *in vitro* digestion method suitable for food—an international consensus. *Food & function*, 5(6), 1113-1124. DOI: 10.1039/C3FO60702J.
- Nakai, M., Fukui, Y., Asami, S., Toyoda-Ono, Y., Iwashita, T., Shibata, H., Mitsunaga, T., Hashimoto, F. and Kiso, Y. (2005). Inhibitory Effects of Oolong Tea Polyphenols on Pancreatic Lipase *in Vitro*. *Journal of agricultural and food chemistry*, 53(11), 4593-4598. DOI: 10.1021/jf047814+.
- Nielsen, P. M., Petersen, D. and Dambrmann, C. (2001). Improved method for determining food protein degree of hydrolysis. *Journal of food science*, 66(5), 642-646. DOI: 10.1111/j.1365-2621.2001.tb04614.x.
- Njaa, L. R. (1963). *A study on the Mitchell method for determination of the biological value of protein*. Fiskeridirektoratets Skrifter 4(5).
- Nyitrai, L. és Pál, G. (2013). A biokémia és molekuláris biológia alapjai. *Lipidek és biomembránok*. ELTE TTK, Budapest, 279-281.
- Peters, C. M., Green, R. J., Janle, E. M. and Ferruzzi, M. G. (2010). Formulation with ascorbic acid and sucrose modulates catechin bioavailability from green tea. *Food research international*, 43(1), 95-102. DOI: 10.1016/j.foodres.2009.08.016.
- Polson, C., Sarkar, P., Incledon, B., Raguvaran, V. and Grant, R. (2003). Optimization of protein precipitation based upon effectiveness of protein removal and ionization effect

- in liquid chromatography–tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography B*, 785(2), 263-275. DOI: 10.1016/S1570-0232(02)00914-5.
- Potì, F., Santi, D., Spaggiari, G., Zimetti, F. and Zanotti, I. (2019). Polyphenol health effects on cardiovascular and neurodegenerative disorders: a review and meta-analysis. *International journal of molecular sciences*, 20(2), 351. DOI: 10.3390/ijms20020351.
- Qie, X., Wu, Y., Chen, Y., Liu, C., Zeng, M., Qin, F., Wang, Z., Chen, J. and He, Z. (2021). Competitive interactions among tea catechins, proteins, and digestive enzymes modulate *in vitro* protein digestibility, catechin bioaccessibility, and antioxidant activity of milk tea beverage model systems. *Food Research International*, 140, 110050. DOI: 10.1016/j.foodres.2020.110050.
- Rodler, I. (2005). *Új tápanyagtáblázat*. Medicina Könyvkiadó Zrt., Budapest. ISBN: 9789632260099.
- Saberi, H. (2010). *Tea: A global history*. Reaktion Books. ISBN: 10: 1861897766.
- Santos-Hernández, M., Alfieri, F., Gallo, V., Miralles, B., Masi, P., Romano, A., Ferranti, P. and Recio, I. (2020). Compared digestibility of plant protein isolates by using the INFOGEST digestion protocol . *Food Research International*, 137, 109708. DOI: 10.1016/j.foodres.2020.109708.
- Singh, H., Ye, A. and Horne, D. (2009). Structuring food emulsions in the gastrointestinal tract to modify lipid digestion. *Progress in lipid research*, 48(2), 92-100. DOI: 10.1016/j.plipres.2008.12.001.
- Sousa, R., Portmann, R., Dubois, S., Recio, I. and Egger, L. (2020). Protein digestion of different protein sources using the INFOGEST static digestion model. *Food Research International*, 130, 108996. DOI: 10.1016/j.foodres.2020.108996.
- Sousa, R., Recio, I., Heimo, D., Dubois, S., Moughan, P. J., Hodgkinson, S. M., Portmann, R. and Egger, L. (2023). *In vitro* digestibility of dietary proteins and *in vitro* DIAAS analytical workflow based on the INFOGEST static protocol and its validation with *in vivo* data. *Food Chemistry*, 404, 134720. DOI: 10.1016/j.foodchem.2022.134720.
- Sündermann, A., Eggers, L. F. and Schwudke, D. (2016). Liquid extraction: Bligh and Dyer. *Encyclopedia of Lipidomics*. Edited by Wenk MR. Springer Netherlands, 1-4. DOI: 10.1007/978-94-007-7864-1_88-1.
- Tormási, J. and Abrankó, L. (2021). Assessment of fatty acid-specific lipolysis by *in vitro* digestion and GC-FID. *Nutrients*, 13(11), 3889. DOI: 10.3390/nu13113889.
- Tormási, J. and Abrankó, L. (2023). Impact of Grape Seed Powder and Black Tea Brew on Lipid Digestion—An *In Vitro* Co-Digestion Study with Real Foods. *Nutrients*, 15(10), 2395. DOI: 10.3390/nu15102395.

- Tsao, R. (2010). Chemistry and biochemistry of dietary polyphenols. *Nutrients*, 2(12), 1231-1246. DOI: 10.3390/nu2121231.
- Watson, R., Preedy, V. R. and Zibadi, S. (szerk.). (2014). *Polyphenols in human health and disease*. Academic Press. ISBN: 9780123984678.
- Yan, Z., Zhong, Y., Duan, Y., Chen, Q. and Li, F. (2020). Antioxidant mechanism of tea polyphenols and its impact on health benefits. *Animal nutrition*, 6(2), 115-123. DOI: 10.1016/j.aninu.2020.01.001.
- Zhang, H., Qi, R. and Mine, Y. (2019). The impact of oolong and black tea polyphenols on human health. *Food Bioscience*, 29, 55-61. DOI: 10.1016/j.fbio.2019.03.009.
- Zhou, H., Hu, Y., Tan, Y., Zhang, Z. and McClements, D. J. (2021). Digestibility and gastrointestinal fate of meat versus plant-based meat analogs: An *in vitro* comparison. *Food Chemistry*, 364, 130439. DOI: 10.1016/j.foodchem.2021.130439.
- Zhu, X., Ye, A., Verrier, T. and Singh, H. (2013). Free fatty acid profiles of emulsified lipids during *in vitro* digestion with pancreatic lipase. *Food Chemistry*, 139(1-4), 398-404. DOI: 10.1016/j.foodchem.2012.12.060.
- Zsarnóczy, G. (2009). A vöröshúsok szerepe a táplálkozásban. *Élelmiszer, Táplálkozás és Marketing*, 6(1-2), 51-58.

INTERNETES FORRÁSBÓL SZÁRMAZÓ REFERENCIÁK

- Internet 1: Globális egy főre jutó teafogyasztás 2016-ban, országok szerint. <https://www.statista.com/statistics/507950/global-per-capita-tea-consumption-by-country/>
- FAO (2022): International tea market: market situation, prospects and emerging issues. <https://www.fao.org/3/cc0238en/cc0238en.pdf>
- Központi Statisztikai Hivatal adatai (2024): A magyar lakosság egy főre jutó éves teafogyasztása 1970-2021. https://www.ksh.hu/stadat_files/mez/hu/mez0060.html
- Magyar Élelmiszerkönyv 1-3/19-1 számú előírása a tejtermékekről (2021). <https://portal.nebih.gov.hu/documents/10182/522773613/Magyar+elelmiszerkonyv.pdf>
- Az Európai Parlament és a Tanács 853/2004/EK Rendelete (2004. április 29.) az állati eredetű élelmiszerek különleges higiéniai szabályainak megállapításáról. <https://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=CONSLEG:2004R0853:20110311:HU:PDF>

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Szeretném megköszönni a lehetőséget **dr. Abrankó Lászlónak**, hogy részese lehettem egy érdekes és nagyon hasznos kutatásnak.

Nagyon sok köszönettel tartozom rengeteg szakmai segítségéért, tanácsokért, a befektetett idejéért, energiájáért és támogatásáért témavezetőmnek, **Tormási Juditnak**.

Továbbá köszönettel tartozom a Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem **Élelmiszerkémia és Analitika Tanszék munkatársainak** segítségükért és a dolgozatom tárgyi és anyagi feltételeinek biztosításáért.

Továbbá köszönettel tartozom **Benes Eszternek** a kísérlet során felhasznált tea minták biztosításáért.

Köszönöm családomnak, barátaimnak és szaktársaimnak, hogy támogattak és bíztattak a diplomadolgozatom készítése során.

NYILATKOZAT

a diplomadolgozat nyilvános hozzáféréséről és eredetiségéről

A hallgató neve: Gyivi Ildikó
A Hallgató Neptun kódja: F9TEXI
A dolgozat címe: Különböző csersavtartalmú teák főzetének zsír- és fehérjeemészthetőséget befolyásoló hatásának vizsgálata *in vitro* emésztésszimulációs modellben
A megjelenés éve: 2024
A konzulens intézetének neve: Élelmiszertudományi és Technológia Intézet
A konzulens tanszékének a neve: Élelmiszerkémia és Analitika Tanszék

Kijelentem, hogy az általam benyújtott diplomadolgozat egyéni, eredeti jellegű, saját szellemi alkotásom. Azon részeket, melyeket más szerzők munkájából vettem át, egyértelműen megjelöltem, és az irodalomjegyzékben szerepeltettem.

Ha a fenti nyilatkozattal valótlan állítottam, tudomásul veszem, hogy a záróvizsga-bizottság a záróvizsgából kizár és a záróvizsgát csak új dolgozat készítése után tehetek.

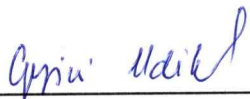
A leadott dolgozat, mely PDF dokumentum, szerkesztését nem, megtekintését és nyomtatását engedélyezem.

Tudomásul veszem, hogy az általam készített dolgozatra, mint szellemi alkotás felhasználására, hasznosítására a Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem mindenkor szellemi tulajdon-kezelési szabályzatában megfogalmazottak érvényesek.

Tudomásul veszem, hogy dolgozatom elektronikus változata feltöltésre kerül a Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem könyvtári repozitori rendszerébe. Tudomásul veszem, hogy a megvédett és

- nem titkosított dolgozat a védést követően
- titkosításra engedélyezett dolgozat a benyújtásától számított 5 év eltelte után nyilvánosan elérhető és kereshető lesz az Egyetem könyvtári repozitori rendszerében.

Kelt: 2024 év április hó 22 nap


Hallgató aláírása

NYILATKOZAT

Gyivi Ildikó (hallgató Neptun azonosítója: F9TEXI) konzulenseként nyilatkozom arról, hogy a diplomadolgozatot áttekintettem, a hallgatót az irodalmi források korrekt kezelésének követelményeiről, jogi és etikai szabályairól tájékoztattam.

A záródolgozatot/szakdolgozatot/diplomadolgozatot/portfóliót a záróvizsgán történő védésre javaslom / nem javaslom¹.

A dolgozat állam- vagy szolgálati titkot tartalmaz: igen nem^{*2}

Kelt: 2024 év április hó 22 nap


belső konzulens

¹ A megfelelő aláhúzendó.

² A megfelelő aláhúzendó.