

DIPLOMADOLGOZAT

Fábián Gábor János

2025.



MAGYAR AGRÁR- ÉS
ÉLETTUDOMÁNYI EGYETEM

Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem

Budai Campus

Élelmiszertudományi kar

Élelmiszerkémia és Analitika Tanszék

**Almatörkölyből nyert polimer procianidinek analitikai vizsgálata –
módszerfejlesztés és alkalmazás**

Témavezető:

Prof. Dr. Abrankó László Péter
Tanszékvezető, Egyetemi Tanár

Témavezető intézete/tanszéke: Élelmiszertudományi és Technológiai
Intézet, Élelmiszerkémia és Analitika
Tanszék

Fábián Gábor János

BUDAPEST

2025.

TARTALOMJEGYZÉK

1. BEVEZETÉS	5
2. CÉLKITŰZÉS	6
3. IRODALMI ÁTTEKINTÉS	7
3.1. Az alma.....	7
3.2. Polifenolok	7
3.2.1. A polifenolok főbb csoportjai	8
3.3. Procianidinek – a flavonolok polimerizált formái.....	10
3.3.1. Procianidinek kémiai felépítése	11
3.3.2. Procianidinek stabilitása, bomlása, kölcsönhatása más vegyületekkel	12
3.4. A procianidinek előfordulása.....	13
3.4.1. Procianidin tartalom az almában	13
3.5. A procianidinekhez társított élettani tulajdonságok	14
3.5.1. Biológiai aktivitás	14
3.5.2. Antidiabetikus hatás	15
3.5.3. Egyéb potenciális hatások	18
3.6. Analitikai módszerek a procianidinek vizsgálatára	20
3.6.1. Spektroszkópiai módszerek.....	21
3.6.2. Kromatográfiás módszerek.....	21
4. ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK	24
4.1. Alatörkölyből származó polifenolokban gazdag kivonat.	24
4.2. Mérési módszerek	25
4.2.1. Összes procianidin tartalom meghatározása.....	25
4.2.2. Procianidin tartalom vizsgálata és floroglucinolízis	26
4.2.3. Folyadékkromatográfiás elválasztási módszerek	28
5. EREDMÉNYEK ÉS ÉRTÉKELÉSÜK	31
5.1. Összes procianidin tartalom meghatározása.....	31
5.2. Procianidin tartalom meghatározása HPLC-vel	31
5.2. Procianidin tartalom meghatározás módszervalidálás teljesítmény jellemzői	40
6. KÖVETKEZTETÉSEK ÉS JAVASLATOK	44
7. ÖSSZEFOGLALÁS	46
8. IRODALOMJEGYZÉK	48

9. TÁBLÁZATOK ÉS ÁBRÁK JEGYZÉKE	56
10. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS.....	58

DIPLOMADOLGOZAT

1. BEVEZETÉS

Napjainkban az egészséges táplálkozással kapcsolatban, valamint az élelmiszeriparban és a gyógyszeriparban is egyre nagyobb figyelmet kapnak a növényi eredetű másodlagos anyagcseretermékek. Ilyen szekunder metabolitok pl. a polifenolok egy csoportja a polimer procianidinek. Ezek számos gyümölcsben és zöldségben megtalálhatóak.

Az almalégyártás során keletkező melléktermék, az almatörköly, értékes forrása lehet ezen bioaktív anyagoknak. Mindamelllett, hogy csökkentjük az értékes anyagok veszteségét és a szemétttermelés mennyiségét, ezeket az anyagokat kivonva és felhasználva meglévő vagy új termékek dúsítására is alkalmazható, megnövelve azoknak a táplálkozási értékét. Az ipari hasznosítás és alkalmazhatóság szempontjából azonban elengedhetetlen a megfelelő analitikai módszerek kidolgozása, melyek lehetővé teszik a polimer procianidinek pontos és megbízható azonosítását, kvantifikálását, valamint esetleges szerkezeti jellemzését is.

2. CÉLKITŰZÉS

Diplomamunkám célja egy korszerű, szelektív és reprodukálható analitikai módszer fejlesztése, mellyel az almatörkölyből nyert polimer procianidinek vizsgálhatóak. A kidolgozott módszerrel lehetőség nyílik nemcsak a vegyületek mennyiségi meghatározására, hanem azok polimerizáltsági fokának és milyenségének, felépítési jellemzőinek és potenciális alkalmazhatóságának vizsgálatára is. A kutatás során további céloom a különböző létező módszerek vizsgálatával a mintaelőkészítés és kromatográfias módszer optimalizálása.

A dolgozat célja tehát kettős: egyrészt hozzájárulni a fenntartható nyersanyag-hasznosításhoz az almatörköly értéknövelt feldolgozásán keresztül, másrészt egy tudományosan megalapozott, gyakorlati szempontból is alkalmazható analitikai protokoll létrehozása polimer procianidinek vizsgálatára.

3. IRODALMI ÁTTEKINTÉS

3.1. Az alma

A nyugati, mérsékelt égövi diétában az alma, a rózsafélék családjába tartozó almafa a *Malus domestica* faj termése, az egyik legszélesebb körben fogyasztott gyümölcs, magas vitamintartalma mellett a nem esszenciális mikrotápanyagok, mint például a polifenol forrása is (1.ábra) (Mari és mtsai., 2010). Az Amerikai Egyesült Államok Mezőgazdasági Minisztériuma (USDA) 2019-es adatai alapján a világ éves almatermelése eléri a 75-80 millió tonnát, melyből kb. 60-65 millió tonna friss fogyasztásra és 10-12 milliótonna ipari feldolgozásra kerül. Világszerte közkedvelt gyümölcs, feldolgozva és frissen egyaránt fogyasztják. Fogyasztásával az emberi szervezet napi polifenol vegyületek bevitelének 22%-át teszi ki (Vinson és mtsai., 2001; Nkuimi Wandjou és mtsai., 2020). A teljes kivonható polifenol tartalom tekintetében a gyümölcsöket összevetve a második helyen áll a 1,10 és 3,57 g/kg közé eső polifenol tartalmával, valamint a legtöbb szabad fenolos vegyületet tartalmazza (Sun és mtsai., 2013).



1. ábra: Az almában található főbb polifenolok (saját ábra)

3.2. Polifenolok

A polifenolok a növényi eredetű bioaktív vegyületek egyik legnagyobb és legváltozatosabb csoportját alkotják mely több, mint 8000 tagot számlál és melyek számos élelmiszerben megtalálhatóak (Abrankó, 2018). Legnagyobb mennyiségben gyümölcsökben (ezzel együtt az almafa termésében) lelhetőek fel, de jelen vannak magvakban, zöldségekben is, mint természetesen előforduló másodlagos anyagcseretermékek (Sun és mtsai., 2013). Ezek a vegyületek a növények életében különféle védelmi funkciót látnak el, pl.: stresszhatások, UV fény behatás vagy patogének ellen. A legnagyobb mennyiségben előforduló étrendi antioxidánsok közé tartoznak, az átlagos napi fogyasztásuk megközelítőleg 1 gramm személyenként (Ghosh és Scheepens, 2009). Ezentúl elfogyasztásukkal az emberi szervezetre is számos élettanilag kedvező tulajdonsággal rendelkeznek, antikarcinogén, antimikróbás,

gyulladáscsökkentő és neuroprotektív hatásúak, ugyanakkor nem esszenciális anyagok (Castro és mtsai., 2018; Grzesik és mtsai., 2018).

3.2.1. A polifenolok főbb csoportjai

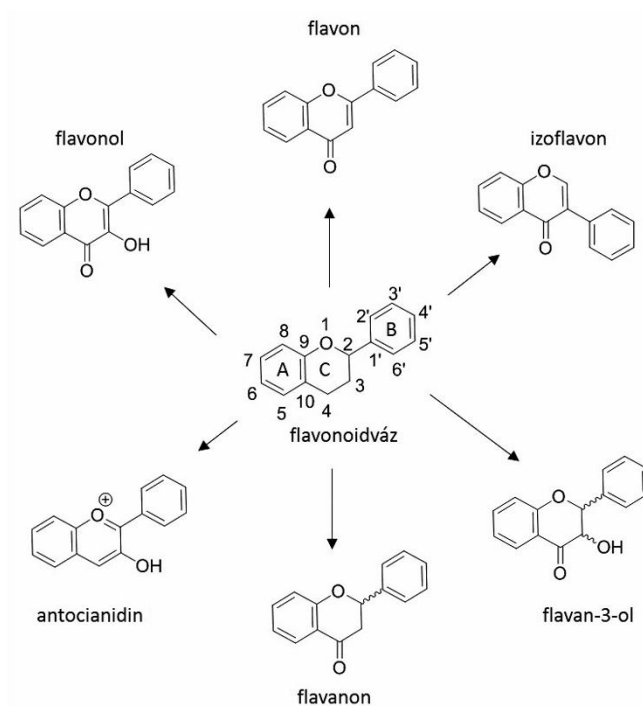
A polifenolok kémiai szerkezete rendkívül változatos és szerteágazó, ugyanakkor egy közös sajátosságuk van. Egy benzolgyűrűt tartalmaznak, melyhez egy vagy több hidroxil-csoport kapcsolódik és a monomerektől az összetett hosszú láncú csersavakon át a kombináció szinte végtelen lehet. Ezt a nagy vegyületcsaládot két csoportra oszthatjuk a flavonoidokra és a nem-flavonoidokra. (Abrankó, 2018). A nem-flavonoid vegyületek közé tartoznak a fenolos savak, a stilbének, a lignánok és más polifenolok (1. táblázat) (Vauzour, 2014). A flavonoidokat pedig hat alcsoportra osztják: flavonok, flavonolok, flavanolok, flavanonok, izoflavonok és antociánok (Dai és Mumper, 2010).

1. táblázat: Polifenolok osztályozása

Alosztály	Polifenolok	Forrás
<i>Nem-Flavonoidok</i>		
Stilbének	rezveratrol	szőlőhéj, vörösbor, áfonya és fekete szeder
Lignánok	szekoisolaricirezinol	lenmag, gabonafélék
<i>Flavonoidok</i>		
Flavonok	apigenin, luteolin	petrezselyem, zeller
Flavonolok	kaempferol, kvercetin	hagyma, póréhagyma, brokkoli
Flavanolok	katechin, epikatechin, epigallokatechin, epigallokatechin-gallát	zöld tea, vörösbor, csokoládé
Flavanonok	heszperetin, naringenin	citrusfélék, paradicsom
Izoflavonok	daidzein, genisztein, glicitein	szója és szójatermékek
Antociánok	pelargonidin, cianidin, malvidin	vörösbor, bogyós gyümölcsök (pl. fekete ribizli, málna, szeder)

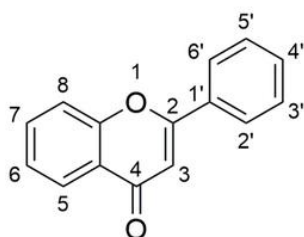
A flavonoidok a polifenolok legnagyobb és legtöbbet kutatott csoportját alkotják. Ezen vegyületek szerkezetében egy 15 szénatomos váz (C6-C3-C6) található, amely két aromás

gyűrűből (A és B gyűrű), valamint egy közük ékelődő három szénatomos egységből (C gyűrű) áll. Az A-gyűrű szerkezete lehet floroglucinol-típusú (meta-trihidroxilezett) vagy rezorcinol-típusú (meta-dihidroxilezett) formában is. A B-gyűrű lehet monohidroxilezett, orto-dihidroxilezett vagy szomszédos helyzetű (vicinális) trihidroxilezett. A központi heterociklusos C-gyűrű leggyakrabban három formában fordul elő γ -piron, pirilium és pirán (Aron és Kennedy, 2008). Ez a váz számos szerkezeti variációt tesz lehetővé, amely alapján a 2. ábrán látható alcsoportokat tartjuk számon.

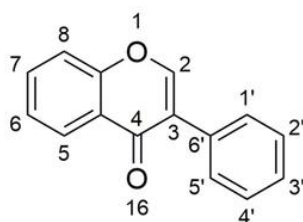


2. ábra: A flavonoid-alapváz és a legfontosabb flavonoid alosztályok alapvázai (Abrankó, 2018)

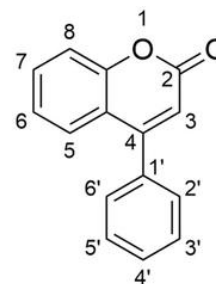
Ezentúl a kromán (jelen esetben a C-gyűrű) és az aromás gyűrű (B-gyűrű) kapcsolódási helyzete határozza meg a benzopirán osztályát. Ebből adódóan beszélhetünk 2-fenilbenzopiránról (flavonoidokról), 3-fenilbenzopiránról (izoflavonoidokról) és 4-fenilbenzopiránról (neoflavonoidokról) (3. ábra). Amennyiben öttagú heterociklusos gyűrűt tartalmaz a váz, abban az esetben auronoknak nevezzük. Egyéb flavonoid módosítás is jellemző, mely még nagyobb komplexitást eredményez. Ilyen módosítások a hidroxilcsoport O-glikozilálása, C-glikozilálása, metoxilezés, valamint prenil- vagy alkilcsoportok kovalens kapcsolódása a flavonoid vázhoz, továbbá további gyűrűk kondenzációja a flavonoid maghoz (Aron és Kennedy, 2008; Dai és Mumper, 2010).



Flavonoid váz



Izoflavonoid váz



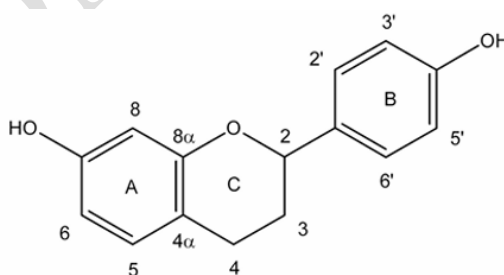
Neoflavonoid váz

3. ábra: Flavonoid, Izoflavonoid és Neoflavonoid váz felépítése (Internet 1.)

A C-gyűrűt megfigyelve, annak telítettsége és oxidáltsági állapota alapján a 2-fenilbenzopiránok tovább oszthatók nyolc alcsoportra: flaván, flavanon, flavon, flavonol, dihidroflavonol, flavan-3-ol, flavan-4-ol és flavan-3,4-diol. Köztük a flavan-3-olok (flavanolok) a legnagyobb és legelterjedtebb monomer flavonoid csoportot képviselik, és ezek alkotják a kondenzált proantocianidinek (procianidinek) fő szerkezeti egységeit is (Aron és Kennedy, 2008; Libro és mtsai., 2016).

3.3. Procianidinek – a flavanolok polimerizált formái

A polimer flavan-3-olok, proantocianidinek megnevezésére a szakirodalomban különféle kifejezéseket (kondenzált tanninok, flavolánok, poliflavánok, pknogenolok, stb.) használnak. Ennek következtében az ezen vegyületek leírására alkalmazott nevezéktan gyakran zavaró lehet, illetve néhány esetben akár helytelen is. A legelterjedtebb elnevezés a procianidinek, azonban ez egy alcsoportja a proantocianidin vegyületcsaládnak (4.ábra) (Khanbabaee és van Ree, 2001; Ferreira, Marais és Slade, 2003).



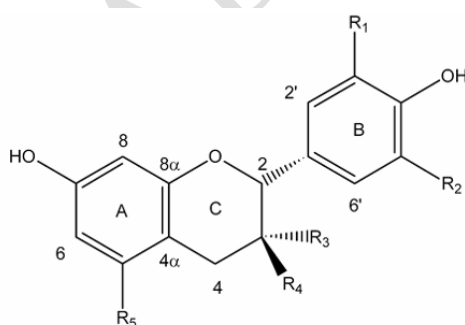
Proantocianidin típus	3	5	8	3'	5'
Procassininidin	H	H	H	H	H
Probutininidin	H	H	H	OH	H
Proapigenininidin	H	OH	H	H	H
Proluteolinidin	H	OH	H	OH	H
Protrictininidin	H	OH	H	OH	OH
Propelargonidin	OH	OH	H	H	H
Procianidin	OH	OH	H	OH	H

4. ábra: A proantocianidin alcsoportok egy része (Aron és Kennedy, 2008)

Ezen proantocianidinek építőkövei közül a flavanolok leggyakrabban előforduló képviselői a katechin, epikatechin, gallokatechin és epigallokatechin. Azokat a proantocianidineket, ahol az építőelemek kizárólag katechin és epikatechin monomerek procianidineknek hívjuk (Suriano és *mtsai.*, 2015; Abrankó, 2018).

3.3.1. Procianidinek kémiai felépítése

A proantocianidineket felépítő (növényekben jellemzően 5.ábrán látható 6 féle monomer aglikon, azaz kapcsolt cukormolekula nélküli) monomerek C gyűrűjében minden kötés telített (Abrankó, 2018; Nie és *mtsai.*, 2023). Mivel így a 2-es és 3-as szénatom is kiralityásközpont, minden flavanol monomernek négyféle izomerje létezik. A katechin és a gallokatechin molekulák esetében a 2-es szénatomhoz kapcsolódó B-gyűrű és a 3-as pozícióban található hidroxilcsoport cisz térállásban helyezkedik el. Ha ez a kapcsolat transz konfigurációjú, akkor a katechin C2 epimerét epikatechinnek, a gallokatechin transz epimerét pedig epigallokatechinnek nevezzük. Mind a cisz, mind a transz diasztereomerek további két optikai izomer formában fordulhatnak elő: egy (+) és egy (-) enantiomerben. Az S konfigurációjú 3-OH-csoporttal rendelkező (3S) izomerek a (+) jelölést, míg az R konfigurációjú (3R) izomerek a (-) jelölést kapják. A természetben leggyakrabban a (+)-katechin (2R, 3S) és a (-)-epikatechin (2R, 3R) formák fordulnak elő. (Abrankó, 2018)

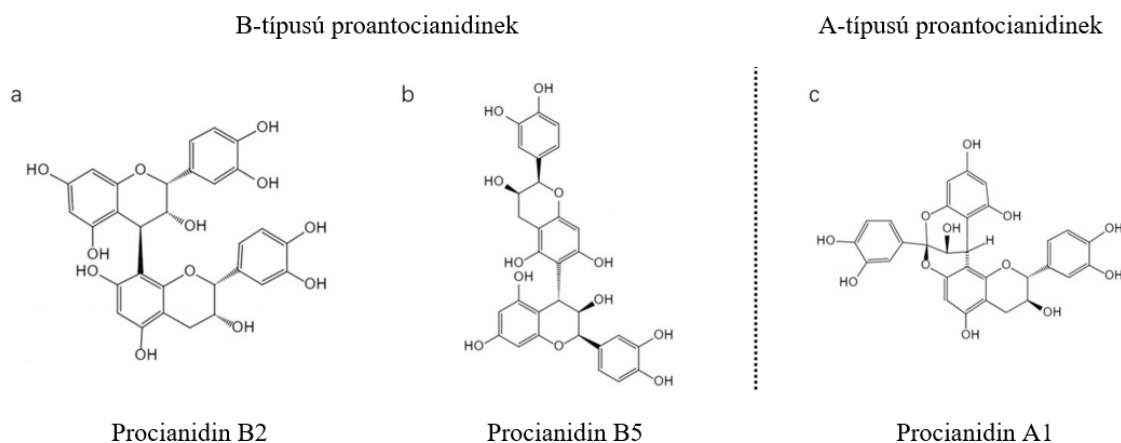


2R Flavan-3-ol monomerek	R_1	R_2	R_3	R_4	R_5
(+) - afzelechin	H	H	H	OH	OH
(-) - epiafzelechin	H	H	OH	H	OH
(+) - katechin	H	OH	H	OH	OH
(-) - epikatechin	H	OH	OH	H	OH
(+) - gallokatechin	OH	OH	H	OH	OH
(-) - epigallokatechin	OH	OH	OH	H	OH

5. ábra: Flaván-3-ol monomerek példái (Aron és Kennedy, 2008)

Polimerizáltsági fok szerint (DP – Degree of polymerization) a proantocianidinek lehetnek oligomer (DP=2-4) és magasan polimerizált (DP>4) formában is. A növényekben jellemzően kétféle oligomer proantocianidin fordul elő, az A-típusú oligomer proantocianidin és a B-típusú

oligomer proantocianidin (Nie és *mtsai.*, 2023). A kapcsolódás milyenségét erősen befolyásolja a monomerek A-gyűrűjének hidroxiláltsági foka is (Aron és Kennedy, 2008). A B-típusú oligomer proantocianidinek esetében a monomerek között egyetlen C-C kovalens kötés található leggyakrabban az egyik monomer C-gyűrűjének C4-es szénatomja és a másik monomer A-gyűrűjének C8-as szénatomja között, például a procianidin B2-esetében (6a. ábra). Azonban a C-C kovalenskötés a monomerek más szénatomjai között is kialakulhatnak, ahogy a procianidin B5 esetében láthatjuk (6b. ábra). A B-típusú oligomer proantocianidinek a természetben előforduló oligomer proantocianidinek leggyakoribb típusát képviselik. Az A-típus esetében a C-C kovalenskötés mellett egy éterhíd is található a monomerek között pl. procianidin A1 (6c. ábra) (Nie és *mtsai.*, 2023).



6. ábra: Az A- és B-típusú oligomer proantocianidinek általános molekuláris szerkezete: (a) procianidin B2, (b) procianidin B5, (c) procianidin A1 (Nie és *mtsai.*, 2023)

3.3.2. Procianidinek stabilitása, bomlása, kölcsönhatása más vegyületekkel

A gyümölcsökből és zöldségekből nyert procianidinek amorf, por állagú anyagok, amelyek színe a forrástól és a polimerizáció mértékétől függően lehet fehér, világossárga vagy akár vörösbarna is. Jó oldhatóság jellemzi, könnyen oldható vízben és szerves oldószerekben (pl. etilalkohol) is egyaránt (Tie és *mtsai.*, 2025). Az élelmiszer-készítményekben adalékanyagként használják a mikrobiális stabilitás, a habképző képesség, az oxidációval szembeni stabilitás és a hőstabilitás javítására is, ezentúl lipid peroxidáció gátlására (Rauf és *mtsai.*, 2019). Figyelemre méltó, hogy a procianidinek erőteljes szabadgyökfogyó aktivitással rendelkeznek molekuláris térszerkezetüknek és a fenil-hidroxilcsoportok jelenlétének köszönhetően (Tie és *mtsai.*, 2025). Ezen tulajdonságokból adódóan a procianidinek stabilitása viszont rendkívül alacsony, könnyen befolyásolják a külső környezeti viszonyok, például fény és hőmérséklet, ami a biológiai

aktivitásuk csökkenéséhez vagy akár a bomlásukhoz vezethet. A feldolgozás, szállítás és tárolás során is változás következik be a szerkezetükben, A hőmérséklet, a pH-érték, az oxigén, a fény és egyéb tényezők hatására könnyen bomlanak, inaktiválódnak vagy károsodnak (Tie és *mtsai.*, 2025).

Különböző procianidin-dimerek stabilitását befolyásolja az interflaván kötések típusa is, a monomer összetétel, valamint a galluszsav-acilezés mértéke is (Xu és *mtsai.*, 2015). A gallát-acilezés fokának az emelkedésével több hidroxilcsoport található a molekulában, ezzel együtt csökken a procianidinek stabilitása (Tie és *mtsai.*, 2021). Amennyiben fémionok is jelen vannak a rendszerben azok reakcióba léphetnek a procianidinek katechol-hidroxilcsoportjaival és fémkomplexet képezhetnek. Például vas ion kötődése után vörös-, réz ion kötődése után kék-komplexet alkotnak, ezek a komplexek szintén hatással vannak a stabilitásra a feldolgozás és tárolás során (Zhang és *mtsai.*, 2023). Mindezeket figyelembevéve komoly kihívást jelenthet a vizsgálatuk ezeknek a vegyületeknek attól függően, hogy azok miből származnak és milyen feldolgozási móddal vagy extrakcióval kerültek előállításra.

3.4. A procianidinek előfordulása

Az oligomer procianidinek, mint flavonoidok, széles körben előforduló vegyületek virágokban, gyümölcsök húsában és magjában, valamint héjában (Nie és *mtsai.*, 2023). Ezek a vegyületek növényi eredetű másodlagos anyagcseretermékek, melyek főként a növényt érő stressz elleni küzdelemben játszanak fontos szerepet (Sun és *mtsai.*, 2013). Legnagyobb mennyiségben a bogyós gyümölcsökben (tőzegáfonya, vörösáfonya, berkenye, fekete ribizke, áfonya és fekete bodza) találhatóak meg (Krenn és *mtsai.*, 2007; Nie és *mtsai.*, 2023). A szőlőben is nagy mennyiségben jelen vannak a procianidinek különböző formái, különösen a magjában, melyből kivonva ezeket az értékes komponenseket táplálékkiegészítő készül (Lee és *mtsai.*, 2007). A datolyaszilva, kínai birs, banán és szentjánoskenyér is jelentős mennyiségben tartalmaz procianidineket, de jelen van még a kakaóbabban, dióban, gránátalmában is. A lista végtelen lehet, ugyanis szinte minden növényi eredetű anyagban megtalálhatóak (Nie és *mtsai.*, 2023).

3.4.1. Procianidin tartalom az almában

Az almában (*Malus domestica* faj termésében), annak húsában, magjában és héjában összesen 1,10 és 3,57 g/kg közé eső polifenol tartalom jellemző (Sun és *mtsai.*, 2013). Egy másik vizsgálat szerint galluszsavban kifejezve 64,88 mg galluszsav/100g alma a polifenol tartalom (Duo és *mtsai.*, 2025), illetve találkozhatunk egy HPLC módszerrel történő vizsgálattal is, ahol a polifenol koncentráció 5,3 és 27,2 g/kg közé esett a különböző alma minták esetében (Loy és

mtsai., 2025). Ennek a mennyiségnek mintegy 60 %-a procianidin. Legnagyobb mennyiségben monomer epikatechin található meg, valamint az alacsony polimerizáltsági fokú dimer és trimer procianidinek, mint a procianidin B1, B2 és C1, melyekből a procianidin B2 (6a. ábra) a legnagyobb mennyiségben képviseltetett vegyület. (Renard, Dupont és Guillermin, 2007; Andre és *mtsai.*, 2012; Masuda és *mtsai.*, 2018; Mikami és Nomura, 2023)

3.5. A procianidinekhez társított élettani tulajdonságok

Napjainkban az egészséges táplálkozás és az egészségmegőrzés egyre nagyobb figyelmet kap. Ezzel párhuzamosan a természetes eredetű vegyületek vizsgálata és azok egészségre gyakorolt hatása egy kiemelt kutatási téma lett. A procianidinek egy ilyen ígéretes vegyületnek bizonyultak (Masuda és *mtsai.*, 2018; Alverina, Ferni és Wirjatmadi, 2022).

Az almáról közismert, hogy számos jótékony hatással bír az emberi szervezetre. A benne található polifenolok szabadgyökfogó aktivitással rendelkeznek, valamint számos kutatás bizonyította, hogy az alma-polifenolok ezentúl terápiás hatásokat is kifejtenek. Ezek a hatások elsősorban laboratóriumi környezetben és viszonylag magas dózisban jelentkeztek. A normál hétköznapi fogyasztásnál inkább a megelőző jellegű hosszú, éveken át tartó fogyasztás mely hatásos lehet. Fáradtság csökkentő, elhízásgátló, daganatellenes, allergiaellenes, fogszuvasodás-megelőző, hormonháztartás megfelelő működését támogatják ezentúl élettartam növelő hatással is bírnak. (Akiyama és *mtsai.*, 2005; Ohta és *mtsai.*, 2006; Miura és *mtsai.*, 2008; Masuda és *mtsai.*, 2018)

Ezeket a jótékony hatásokat valószínűleg az alacsony polimerizáltsági fokú procianidineknek társíthatók, amelyek az almára is jellemzőek (procianidin B2, C1 és B1) (Masuda és *mtsai.*, 2018). Ennek egyik oka az lehet, hogy bár a procianidinek általánosságban rosszul felszívódó bioaktívok a a rövidebb láncú polimerek mégis valamivel könnyebben szívódnak fel a gyomor-bél traktusban és ezt követően könnyebben kerülnek a véráramba, míg a hosszabb láncú polimerek felszívódása alacsony mértékű a vékonybélben. Shoji és munkatársai egy egérkísérlettel támasztották ezt alá, ahol az egér alma polifenol kivonattal történő etetése után a vérszérumban dimer és trimer procianidineket tudtak kimutatni, míg a hosszú láncú procianidinek a vékonybélben alacsony mértékben tudtak felszívódni (Shoji és *mtsai.*, 2006).

3.5.1. Biológiai aktivitás

Orális bevitel esetén a procianidinek hasznosulása alacsony. A felszívódást jelentősen befolyásolja a táplálék típusa. A rostok, fehérjék és szénhidrátok gátolhatják a procianidinek felszívódását és hasznosulását, ugyanakkor ezek jelenléte lehet antagonisztikus és szinergikus hatással is a folyamat hatékonyságára. A felszívódás nagymértékben függ a gyomornedv pH

értékétől és a molekuláris térszerkezettől is. A felszívódás tekintetében a legkisebb monomerek (katechin és epikatechin) szívódnak fel a legkönnyebben és a legnagyobb mértékben, a dimer és trimer formák (pl. procianidin B2) kisebb mértékben, de szintén jelentős mennyiségben tudnak felszívódni. A nagyobb méretű, hosszabb láncú procianidinek felszívódása jelentősen gátolt méretük miatt. (Scalbert és *mtsai.*, 2002; Manach és *mtsai.*, 2005; Touriño és *mtsai.*, 2011)

Számos modell és vizsgálat született a felszívódás nyomon követésére és a biológiai hasznosulás feltérképezésére (Bohn, 2014; Molinar-Toribio és *mtsai.*, 2017). Egy *in vitro* humán placenta és patkánymáj modellek felhasználásával Weinert és munkatársai kimutatták, hogy a procianidinek metileződésének foka és pozíciója az egész szubsztrátmolekula háromdimenziós szerkezetétől függ. Azt is megállapították, hogy a humán és a patkány citoszolikus katechol-O-metiltransferáz (COMT) képes metilálni a procianidineket. A bioaktivitásnál fontos megemlíteni, hogy egy vegyületnek akkor is lehet biológiai aktivitása, hogyha az nem szívódik fel. Ilyen típusú hatás lehet az emésztőenzimekre gyakorolt hatás, vagy akár az emésztés sebességére gyakorolt hatás, vagy az egyéb mátrixalkotókkal történő asszociátum kialakulására visszavezethető hatások. (Weinert és *mtsai.*, 2012).

3.5.2. Antidiabetikus hatás

Napjaink egyik legjelentősebb egészségügyi kihívása világszerte a diabetes mellitus (DM, glükózfeldolgozási zavar, cukorbetegség) (Onikanni és *mtsai.*, 2021). A cukorbetegség egy endokrin anyagcsere betegség, legfőbb jellemzője a magas vércukorszint. Napjainkban az egészségtelen életmód és szokások változásával előfordulása egyre növekvő tendenciát mutat, előrejelzések szerint 2030-ra 578 millió embert fog érinteni. Az inzulin peptidhormon, amelyet a hasnyálmirigy β -sejtjei termelnek, kulcsszerepet játszik a vércukorszint és az energia-anyagcsere szabályozásában, amely felborulása komoly kártékony változásokat és hatásokat fejt ki az emberi szervezet működésére (7.ábra). (Qaed és *mtsai.*, 2023)

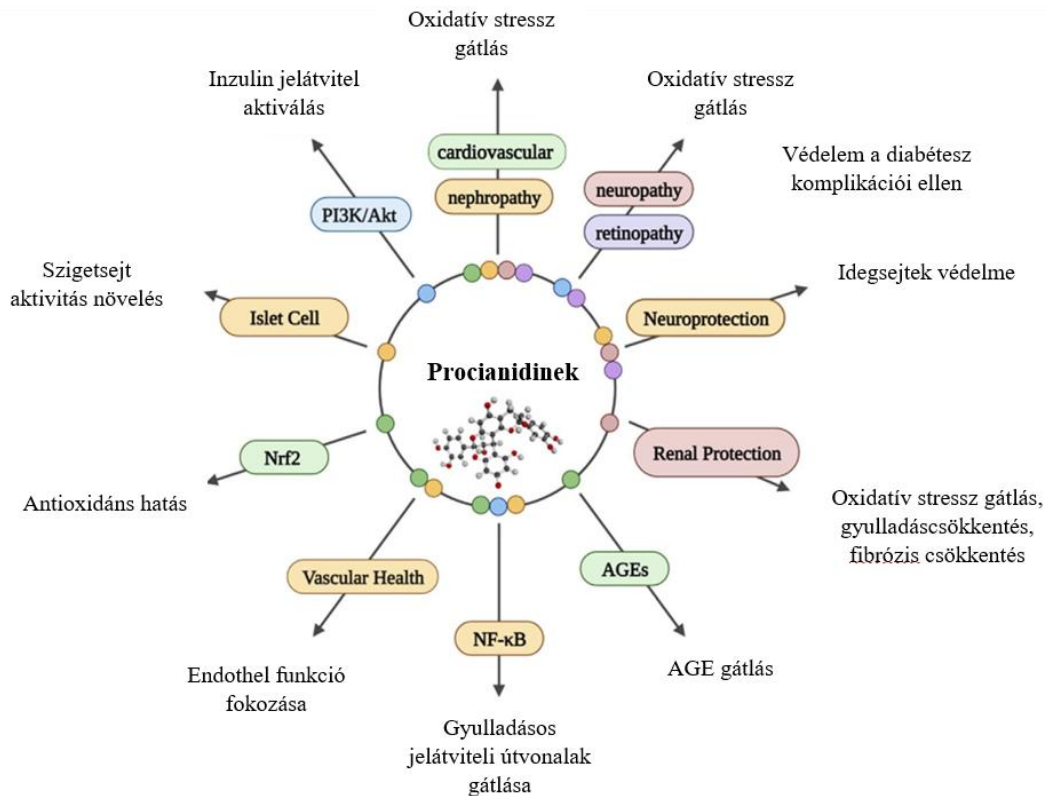


7. ábra: A diabetes mellitus és szövődményeinek molekuláris patogenezise (Qaed és mtsai., 2023)

Az 1-es típusú cukorbetegség esetén az immunrendszer a T-sejtek közvetítésével pusztítja el a hasnyálmirigy inzulint termelő β -sejtjeit. A cukorbetegség által okozott anyagcserezavar kezelésére eddig nem találtak bizonyított módszert. Hasonlóképpen, számos farmakológiai megközelítést alkalmaztak a hiperglikémia kezelésére, amely a diabéteszes szövődmények fő előidézője. Az 1-es típusú cukorbetegségben szenvedő betegeknek inzulin-injekciókra lehet szükségük, míg a 2-es típusú cukorbetegség esetében az orális gyógyszerek étrendi változtatásokkal párosítva lehetnek előnyösek. (Qaed és mtsai., 2023)

Napjainkban megnövekedett az érdeklődés a természetes gyógymódok orvosi alkalmazása iránt, különösen a 2-es típusú cukorbetegség kezelésében és megelőzésében (Qaed és mtsai., 2023). Különböző egészségügyi problémákat, mint amilyen a cukorbetegség is, történelmileg gyógynövényekkel és hagyományos módszerekkel kezeltek (Dirir és mtsai., 2022). Globálisan drámaian megnövekedett a metabolikus szindrómával kapcsolatos rendellenességek előfordulása az utóbbi években, beleértve az oxidatív stresszt, a cukorbetegséget, az elhízást, a magas vérnyomást és a szív- és érrendszeri betegségeket. A táplálkozástudomány kutatói összefüggést találtak az oxidatív stressz, a magas kalóriatartalmú ételek és a krónikus betegségek kialakulása között, ezért is kapnak egyre nagyobb figyelmet a természetes gyógymódok, a megelőzés és helyes táplálkozás. (Sheikh és mtsai., 2019; Wu és mtsai., 2019; Qaed és mtsai., 2023) Az oxidatív stressz okozta krónikus megbetegedések megelőzésében nagy szerepet játszik a gyakori és rendszeres növényi eredetű élelmiszerek fogyasztása, melyek

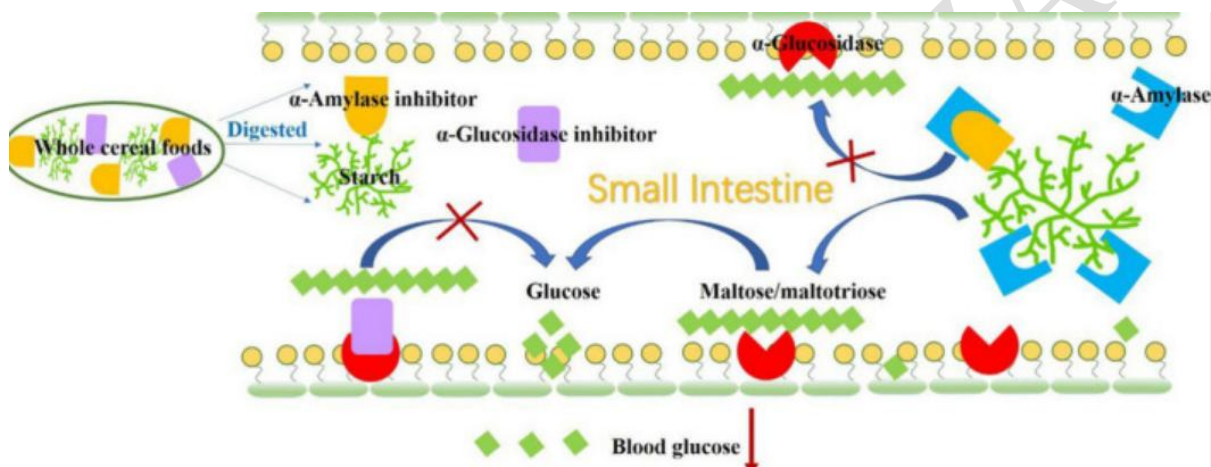
gazdagok polifenolos vegyületekben (Wu és mtsai., 2019). Egy nemrég megjelent kutatásban felfedezték, hogy a procianidineknek kulcsfontosságú szerepe van a cukorbetegség kezelésében. A hatásmechanizmusa elsősorban a glükózmétabolizmusra és a szigetsejtek aktivitására gyakorolt kedvező hatásában, valamint a cukorbetegséggel kapcsolatos problémák csökkenését foglalja magában (8.ábra). Ennek a kutatásnak az alapján további kutatások indulhatnak a procianidinekkel kapcsolatban. (Qaed és mtsai., 2023)



8. ábra: A procianidinek antidiabetikus és cukorbetegség szövődményei elleni hatásmechanizmusának sematikus ábrája (Qaed és mtsai., 2023)

A procianidin B3 és B1 bizonyult a leghatékonyabb procianidinnek a vizsgálatok során a diabetes mellitus kezelésében (Tie és mtsai., 2020). Kimutatták, hogy az acacia kéregből származó procianidinek csökkentik az éhgyomri (mely fogalmat az orvosi, illetve diagnosztikai szakzsargonban gyakran „éhom” rövidítéssel illetnek) vércukorszintet az adenosin-5'-monofoszfát-aktivált proteinkináz (AMPK) aktiválása és a dipeptidil-peptidáz-4 (DPP-4) aktivitásának gátlása révén (Tian és mtsai., 2019; Qaed és mtsai., 2023).

Az inzulinszint csökkenése vagy az inzulinrezisztencia fontos tényező a 1-es vagy 2-es típusú cukorbetegség megjelenésében. A hasnyálmirigy β -sejtjeinek működése közvetlenül befolyásolja az inzulin koncentrációját a plazmában, ha az elfogyasztott ételmiszerben jelen van procianidin az kedvezően hat a hasnyálmirigy β -sejtjeire. Ezeket a hatásokat úgy lehet magyarázni, mint az inzulinérzékeny szövetek serkentését a glükózfelvétel növelésére, a zsírtermelés korlátozására és a perifériás szövetek oxidatív, gyulladásoos állapotának javítására. (Yang és mtsai., 2015) A polifenolok csökkenthetik az inzulin rezisztenciát, és megakadályozhatják az inzulin termelő sejtek tömegének és funkciójának elvesztését, ezzel antidiabetikus hatást gyakorolva a hasnyálmirigyre (Brimson és mtsai., 2021).



9. ábra: Teljes gabonafélék lehetséges mechanizmusai a hiperglikémia megelőzésében és a procianidinek gátló hatása az α -amiláz enzim aktivitására (Gong és mtsai., 2020).

A procianidinek gátolhatják az α -amiláz enzim aktivitását, amely kulcsszerepet játszik a keményítő lebontásában (9.ábra). Ezáltal lassítják az egyszerűbb cukrok képződését, ami alacsonyabb glikémiás választ eredményez (Gong és mtsai., 2020).

3.5.3. Egyéb potenciális hatások

Az emberi szervezetben az oxidatív stressz növekedésével és felhalmozódásával együtt gyakran a redox egyensúly felborulása vagy megváltozása jár, amely betegségek kialakulásához vezethet. Az oxidatív stressz epigenetikai változásokat és DNS mutációkat okozhat, valamint a kromatinfehérjéket is módosíthatja. Ezek a folyamatok zavart és jelátviteli problémákat okoznak a sejtek működésében. (Yang és mtsai., 2018; Dasiman és mtsai., 2021) A rákos sejtek általában felgyorsult anyagcserével rendelkeznek. Metabolikus folyamataik és fejlődésük fenntartásához magasszintű reaktív oxigén specieszek (ROS) jelenléte szükséges. A magas ROS szint elősegíti a rákossejtek anyagcseréjét, mindemellett károsítja a DNS-t, a lipideket és

fehérjéket, de emellett számos kaszkádrendszert is befolyásol. (Felty, Singh és Roy, 2005; Sosa és *mtsai.*, 2013; Dasiman és *mtsai.*, 2021)

A procianidinek erős antioxidáns hatású vegyületek, amely védelmi mechanizmusként működik a reaktív oxidatív szabadgyökök ellen. A vegyületek antioxidáns hatása arányos a molekulamérettel és az összetétellel. Az antioxidáns kapacitásuk 20-szor akkora, mint a C-vitaminé és 50-szer akkora, mint az E-vitaminé (Yang és *mtsai.*, 2018). Kimutatták, hogy az oxidatív stressz okozta DNS károsodást képes megelőzni és gátolni, valamint elősegíti a DNS javítás működését különböző útvonalakon keresztül. Segíti a DNS javító enzimek működését, közvetve a nukleotidkivágás mechanizmusát és gátolja a DNS hipometilációját (Nichols és Katiyar, 2010; Bakheet és *mtsai.*, 2016; Katiyar, Pal és Prasad, 2017).

Kutatók beszámoltak arról, hogy a procianidinek kemopreventív hatást fejtenek ki előrehaladott stádiumú prosztaták esetén, ahol az eredményeik azt mutatták, hogy a jelentősen csökkentették a prosztaták növekedését és a daganat kiújulását azáltal, hogy gátolták a konstitutívan (Notch1-ligand által) aktivált Notch1-jelpályát (Minker és *mtsai.*, 2015).

A rákellenes és antioxidáns tulajdonságán túl a procianidinek gyulladáscsökkentőhatással is bírnak. Szőlőmagból kivont proantocianidinek csökkentették az IL-6 és TNF- α gyulladáscsökkentő citokinek felszabadulását, fokozta a szuperoxid-diszmutáz, Nrf2 és a kataláz aktivitását, valamint mérsékelte a hidrogén-peroxid termelődését perfluoroktánsavval (PFOA) kezelt egerekben, valamint a vizsgálatok arra is utalnak, hogy procianidinek csökkentik a PFOA által kiváltott gyulladáscsökkentő választ, oxidatív stresszt és apoptózist az egér májában (Liu és *mtsai.*, 2016). Egy másik vizsgálatban a kutatók a procianidin C1 trimerről mutatták ki, hogy gyulladáscsökkentő hatást fejt ki a makrofágokban, valamint sejt felszínen különböző jelátviteli útvonalak gátlásával (Sung és *mtsai.*, 2013; Rauf és *mtsai.*, 2019).

Kutatások bizonyították, hogy a procianidinek a reprodukcióra és a termékenységre is jótékony hatással vannak, a magzati egészséget és fejlődést is támogatják. Azonban, további klinikai vizsgálatokra szükség van a pontos mechanizmusok megértésére, illetve arra, hogy hogyan hat a fiziológiára, valamint a klinikai alkalmazhatóságára, a reprodukció és termékenység segítésére.

Dasiman és munkatársai összefoglalták egy tudományos publikációban az eddigi kísérletek egy részét, ahol a kutatók egy keresztmetszeti (előtte és utána) vizsgálatot végeztek 29 idiopátiás férfi infertilitással (IMI) küzdő páciensen. A kísérlet célja az volt, hogy meghatározzák a procianidin hatását a sperma paramétereire. Eredményeik szerint a procianidin kezelés csökkentette a sperma oxidatív stresszét az IMI-s betegekben. (Soleimani és Masoumi, 2017; Li és *mtsai.*, 2018; Avdatek, Yeni és Taşdemir, 2020; Dasiman és *mtsai.*, 2021)

Tanulmányok szerint immunszuppresszív és allergiaellenes hatással is rendelkeznek a procianidinek, számos betegség, köztük a szisztémás lupus, urémia, Bechlet kór és irritábilis bélszindróma esetén is hatásosak, mivel különböző jelátviteli útvonalakat gátolnak (Yang és *mtsai.*, 2018; Dasiman és *mtsai.*, 2021). Ebből következően a procianidinek leginkább betegségmegelőzésre és különböző immunrendszeri rendellenességek enyhítésére lehet pozitív hatással. Számos *in vivo* kísérlet és vizsgálat bizonyítja az immunmoduláló hatásaikat, azonban az állatkísérletes modellekben végzett kutatások korlátozottak, ezen túlmenően klinikai bizonyítékokra van szükség a jövőbeni orvosi és terápiás alkalmazáshoz (Dasiman és *mtsai.*, 2021; Nawrot-Hadzik és *mtsai.*, 2021).

3.6. Analitikai módszerek a procianidinek vizsgálatára

A procianidinek vizsgálatához, karakterizálásához és a mérési rendszerek kidolgozásához szükség van a procianidinek megfelelő hatásfokú kivonására a különböző növényi alkotókból. Számos kivonási módszer létezik és a vizsgálati módszertől függően fontos ismerni, hogy melyik módszer milyen hatékonysággal és milyen alkotókat képes kiextrahálni. Oldószeres kivonás esetében az eltérő oldhatóságot és affinitást mutatnak az oldószerek a proantocianidinekkel szemben. A proantocianidinek kivonására általánosan használt oldószerek közé tartozik a metanol, etanol, aceton, víz, valamint ezek keverékei. Az oldószer megválasztása a célzott proantocianidinektől függ. Például hatékony oldószerek az alacsony molekulatömegű proantocianidinek kivonására a metanol és etanol, míg az aceton és a víz inkább a nagyobb molekulatömegű proantocianidinekhez alkalmas. Jelenleg a proantocianidinek kivonása elsősorban két fő módszert foglal magában: az oldószer-alapú extrakciót és az enzimatis hidrolízist, de találkozhatunk ultrahangos, mikrohullámú és pulzáló erőterű kivonási módszerekkel is. (Liang és *mtsai.*, 2024)

A procianidinek karakterizálására különböző analitikai és biológiai módszerek is rendelkezésre állnak. Vannak spektroszkópiai módszerek, mellyel összes procianidin tartalom meghatározására van lehetőség, nagyhatékonyságú folyadékkromatográfiás módszerek (HPLC), akár tömegspektrométerrel (MS) kapcsolva, melyekkel részletesebb összetételi képet kaphatunk, illetve biológiai aktivitási vizsgálatok is. A molekula család szerteágazó mivolta miatt sajnos a vizsgálatuk hatalmas kihívást jelent a kutatóknak, mivel ezek a vegyületek rendkívül érzékenyek a környezeti hatásokra, könnyen bomlanak, oxidálódnak és átalakulnak. (Guyot és *mtsai.*, 1997; Malec és *mtsai.*, 2014; Qaed és *mtsai.*, 2023; Liang és *mtsai.*, 2024)

3.6.1. Spektroszkópiai módszerek

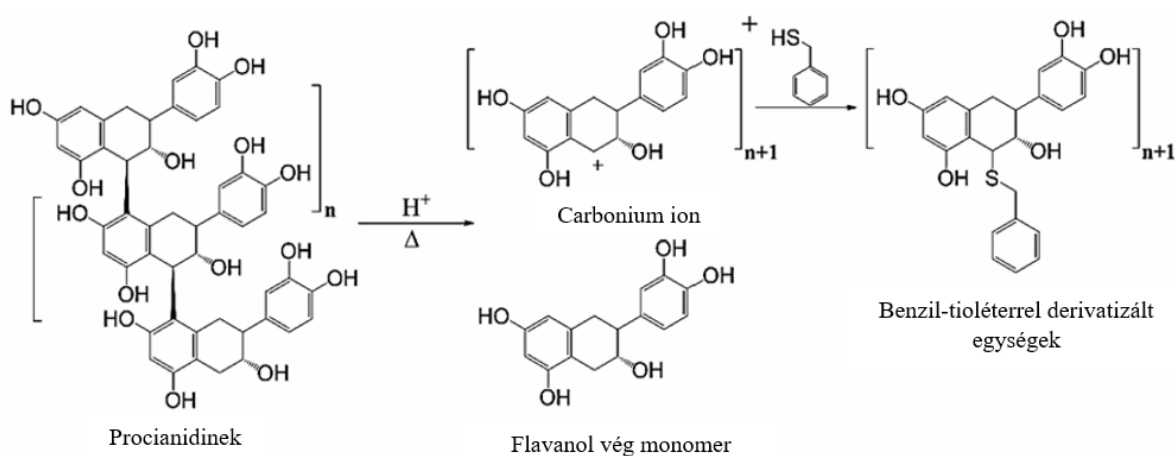
Guyot és munkatársai leírtak egy spektroszkópiai módszert mellyel az összes proantocianidin tartalom meghatározható és kvantifikálható (+)-katechinre történő külső kalibrációval, ez a Bate - Smith módszer. A módszerben a procianidin extraktummal elvégeznek egy BuOH-HCl-es hidrolízist, hogy a polimer formában jelenlévő proantocianidin egységeket szétbontsák monomer formára. A hidrolizátum és a kalibrációs sor abszorbanciáját mérik 280 nm-en spektrofotométerrel, majd (+)-katechin egyenértékre számítható a proantocianidin tartalom. Ez a módszer nem ad részletes képet a procianidinek polimerizáltsági fokáról és a minőségéről, valamint együtt méri a különböző proantocianidineket. (Guyot és *mtsai.*, 1997) A kapott adatok alapján egy egyenlet segítségével az átlagos polimerizáltsági fok is számítható (Yu és *mtsai.*, 2023).

Olvashatunk egy procianidinekre specifikusabb, egyszerűbb módszert is, amely szintén totális mennyiséget mér és nem képes az egyes vegyületek megkülönböztetésére. Ebben a kolorimetriás módszerben a reakció a 4-dimetilaminofahéjaldehid (DMAC) reagens és a flavan-3-ol-ok közötti reakción alapul. A reakció során a procianidin mintákat egy küvettába cseppentve, majd hozzáadva a reagenst rögtön mérhető a reakcióelegy abszorbanciája 640 nm-en. Ennél a módszernél a külső kalibráció procianidin B2 standardal történik. A módszer viszonylag specifikusan reagál (-)-epikatechinrel, (+)-katechinrel, epigallocatechinrel, gallocatechinrel, a katechin-, epikatechin-, gallocatechin és epigallocatechin gallátjaival és az oligomer procianidinek maximum 4-es polimerizáltsági fokú tagjaival. Kismértékű vagy semmilyen reakció nem történt a cianidinokkal és a fenolos savak, flavonok, flavanonok, flavonok, antocianidinek, izoflavonok és stilbének reprezentatív vegyületeivel. A módszer pontosságát 4,0–9,5%-os RSD értékek jellemzik. (Payne és *mtsai.*, 2010)

3.6.2. Kromatográfiai módszerek

A procianidinek minőségi vizsgálatához kromatográfiai módszereket is használnak. A kromatográfiai módszerek tömegspektrométerrel kapcsolt rendszerében még hatékonyabban és pontosabban karakterizálhatóak és határozhatóak meg a vegyületek. A kutatások során, mivel a kereskedelmi forgalomban a procianidinek nagy része nem kapható, különféle preparatív módszerekkel a kutatók saját maguknak állítják elő a tiszta standardokat különböző növényi részekből. A procianidinek karakterizálásához és HPLC-s vizsgálatához, az oligomerek összetételének analizálásához kétféle módszerről olvashatunk. A tiolízises és floriglucinolízises módszerekről. Ezeknek a reakcióknak a szükségességét az indokolja, hogy a polimer láncú procianidineket alkotóegységekre bontsuk le és úgy tudjuk meghatározni az

összetételüket, míg oligomer formában nem. A tiolízises módszer esetében savas környezetben, meghatározott hőmérsékleten a procianidinek szerkezete megbomlik. A láncvégi molekula (catechin, epicatechin) eredeti formájában marad, a lánc többi monomer egysége egy közbelső instabil carbanion állapotba kerül. Ez az instabil állapot nukleofil reagensekkel támadható és a reakcióban flavanol-benzil-szulfid származékok képződnek (10.ábra). Ezen reakció elvégzésével folyadékkromatográfias elválasztást követően mérhetőek és kvantifikálhatóak a reakciótermékek, amely alapján a polimerek átlagos összetételét tudjuk meghatározni és az egyes vegyületek pontos koncentrációját. (Shi, Wang és Lv, 2021)



10. ábra: Procianidinek tiolízises reakciója (Shi, Wang és Lv, 2021)

Az átlagos összetételen túl az extenziós egységek és a terminális egységek összértékének a hányadosával az átlagos polimerizáltsági fok is számítható. A módszer hátránya, hogy a reakcióhoz használt toluol- α -tiol egy rendkívül illékony, mérgező és hányingert keltő vegyület, így használata nagy odafigyelést és megfelelő körülményeket követel meg. Ennek okán egy újabban használt módszert fejlesztettek ki a floroglucinolízist, melynek elve azonos a tiolízises módszerrel. A floroglucinol egy nem illékony és nem mérgező, biztonságosan használható reagens. A floroglucinolízis reakció során savas környezetben és floroglucinol jelenlétében a procianidineket alkotóegységeikre hasítjuk. A polimer proantocianidineket alkotó monomerek közötti kötés savas körülmények között felhasad. A nem láncvégi egységekből (extenziós egységek) C4 floroglucinol származékok képződnek. Míg a láncvégi egység nem derivatizált monomerként jelennek meg. A reakciót követően folyadékkromatográfias elválasztást és UV abszorbancia alapján történő kvalifikálást és kvantifikálást kell alkalmazni. A módszerhez a kalibráció többféle módon is elvégezhető. A módszer és a HPLC-s elválasztás hosszadalmas 70

perces mérési módszert foglal magában mintánkként. A módszerrel 280 nm-es detektálási hullámhosszon az összes fenolos komponens detektálható, 320 nm-en egy hidroxifahéjsavakra, 350 nm-en pedig a flavanoloakra specifikusabb detektálást kapunk. Az összetétel pontos meghatározására tömegspektrometriás detektálás és tömeg/töltés alapján történő azonosítást használnak. (Malec és *mtsai.*, 2014)

Mind a két módszer esetében a kifejlesztés a natív formában lévő tanninokra történt, azonban fontos tényező az egyes vegyületek oxidáltsági állapota és a mátrix, amelyből a kivonás történt. A különböző procianidin kivonási módszerek a vegyületek oxidáltságát, szerkezeti változását eredményezheti, amely a későbbi detektálásra, illetve a tiolízisre és floroglucinolízisre is hatással van (Liang és *mtsai.*, 2024). Az oligomer procianidinek ilyen módon történő szétbontására azért is szükség van, mivel a tömegspektrometriás vizsgálatok során a magasabb polimerizáltsági fokú oligo- és polimer procianidinek nehezen vagy nem vizsgálhatóak (Rue, Rush és van Breemen, 2018).

Egy nem elsődleges szerkezeti vizsgálatra alkalmazható folyadékkromatográfiás elválasztási módszerrel a procianidinek részletes polimerizáltsági fokáról kaphatunk információt. A HPLC-HILIC-FLD (folyadékkromatográfiás elválasztás fluoreszcens detektorral) módszer lényege, hogy a procianidinek polimerizáltsági fok (DP) alapján szeparálódnak monomer, oligomer és polimer sorrendben DP<10 egységeknél (Hollands és *mtsai.*, 2017a).

Az egyes vizsgálati módszerek kombinálásával karakterizálhatóak az egyes procianidin kivonatok a különböző növényi alapanyagokból, azonban a meghatározott módszerek azonos mintamátrixra alkalmazhatóak. (Guyot és *mtsai.*, 1997; Hollands és *mtsai.*, 2017b)

4. ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK

4.1. Alatörkölyből származó polifenolokban gazdag kivonat.

A módszer kidolgozásához és a mérések elvégzéséhez a *Malus domestica* alma termésének feldolgozásából visszamaradt szárított almatörkölyt alkalmaztam. Az almatörköly minta a vásárosnaményi Agrana Juice Magyarország Kft. feldolgozóüzeméből származott. A feldolgozásokor az almalékészítéshez kevert ipari fajtákból álló alapanyagot alkalmaztak. A lényerési feldolgozástechnológia során enzimes pektinbontást alkalmaztak a hatékonyabb lékinyerés érdekében, mely művelet részleteiről pontosabb információ nem áll rendelkezésre. A lényerést követően visszamaradt (alapján 25-30% (m/m) szárazanyagtartalommal rendelkező) magházat és szármaradványokat is tartalmazó almatörkölyt (11. ábra) a helyszínen dobszáritóval mintegy 5% (m/m) nedvességtartalomra szárították. Dolgozatomban ebből az anyagból, 2024.09.25-én beszerzett laboratóriumi mintát tekintettem kiindulási mintának.



11. ábra: Kiindulási szárított almatörköly (saját ábra)

A laboratóriumi minta feldolgozása során az almatörkölyből, Guyot és munkatársai (Guyot és *mtsai.*, 1997) által leírt módszert alapul véve egy acetonos, vizes módszerrel extrahált és liofilizálva szárított polifenol extraktumot használtam a vizsgálataimhoz. Röviden, 200 g szárított laboratóriumi mintából (Guyot és mtsi szerinti előzetes hexános kezelést mellőzve) a mintát 2 liter 6:4 (v/v) aceton:víz elegy hozzáadása után 2 perc laboratóriumi homogenizálóval (IKA, Ultra Turrax) történő kezelést követően 2 óra hosszan át szobahőmérsékletű kevertetés mellett extrahálták. Az extrakció után mechanikai szűrést (fémszita, majd sajtháló) és kézi préselést követően nyert extraktumból az aceton eltávolítását majd a víz bepárlását rotációs vákuumbepárlóval (Büchi) végezték. Az így nyert anyagot fagyasztást követően liofilezéssel (ScanVac) szárították (12. ábra).



12. ábra: Szárított almatörkölyből, 6:4 (v/v) aceton:víz elegyel extrahált, majd liofilezett polifenol extraktum

A liofilezés befejeztével a mintát kézi mozsárban manuális örléssel homogenizálták, majd zárt edényben, szobahőmérsékleten, sötét helyen tárolták. A további vizsgálatokhoz az így készített mintát használtam.

4.2. Mérési módszerek

Az almatörkölyből nyert polifenolokban gazdag frakciót, vagy extraktumot többféle módszer alkalmazásával vizsgáltam. Az összes procianidin tartalom meghatározásához egy butanolos hidrolízises spektroszkópiai módszert alkalmaztam (Guyot és *mtsai.*, 1997). A procianidinek részletesebb karakterizálásához pedig egy floroglucinolos származékképzést és az elválasztáshoz egy diódasoros detektorral felszerelt nagyhatékonyságú folyadékkromatográfiás (HPLC-DAD) módszert alkalmaztam. A HPLC-s módszer megalkotásához Malec és munkatársai cikkét vettem alapul, melyet átdolgozva alkalmaztam (Malec és *mtsai.*, 2014). A módszer alkalmazhatóságát egy részleges validálás elvégzésével bizonyítottam, ahol meghatároztam a kimutatási határt (LOQ), a detektálási határt (LOD), szelektivitást, linearitást, érzékenységet és a módszer pontosságát.

4.2.1. Összes procianidin tartalom meghatározása

A butanolos hidrolízishez a polifenol kivonatból bemértem 5,0 mg-ot 5 párhuzamos méréshez üveg kémcsövekbe. Az I. kalibráció elkészítéséhez 7 pontos kalibrációs sort készítettem 5 mg/ml-es katechin törzsoldatból (Extrasynthese, Lyon, Franciaország) 40 µg/ml és 1000 µg/ml koncentráció tartományban. A II. kalibráció elkészítéséhez kereskedelmi forgalomban kapható

Welltan Q-t, egy tanninban gazdag fitokomplexet (JRS SilvaTeam, Bergamo, Olaszország) használtam 7 pontos kalibrációs sor elkészítéséhez 10 µg/ml és 500 µg/ml-es tartományban. A beméréseket követően a mintákhoz és a kalibráció tagjaihoz 2,5 ml 95:5=butanol:HCl-t adtam és homogenizáltam. A reakció elindításához 100 µl 2 w/v %-os NH₄Fe(SO₄)₂*12 H₂O 2M HCl reagenst adtam és 95°C-os termosztátba helyeztem 40 percre. Az idő leteltével a minták kihűtését követően kiegészítettem 6 ml-re a térfogatokat 2,5% CH₃COOH tartalmú 75:25=metanol:víz eleggyel, majd vortexeltem mérés előtt (Guyot és mtsai., 1997). A kalibrációs sorok tagjait és a mintákat egy 10 mm széles kvarc küvettába öntöttem (1 cm fényúthossz) és 280 nm-en megmértem az egyes tagok abszorbanciáját vakoldat jelenlétében Genesys 10S UV-VIS spektrofotométerrel (Thermo Fisher Scientific, Waltham, Massacushetts, USA) (13.ábra).



23. ábra: Genesys 10S UV-VIS spektrofotométer (Thermo Fisher Scientific, Waltham, Massacushetts, USA) (saját ábra)

Az eredményeket mg katechinben fejeztem ki grammonként (mg C/g) Guyot és munkatársai kutatásában leírtak alapján (Guyot és mtsai., 1997).

4.2.2. Procianidin tartalom vizsgálata és floroglucinolízis

A módszerfejlesztéshez a Malec és munkatársai által leírt módszert vettem alapul (Malec és mtsai., 2014). Első lépésként elvégeztem azonos paraméterekkel a vizsgálatot, a polifenol extraktumon és a procianidin B2 (Extrasynthese, Lyon, Franciaország) tiszta standardon kisebb módosításokkal az előkészítésben. 5-5 párhuzamos mérésben 50,0 mg polifenol extraktumot üveg kémcsövekbe mértem, 5 párhuzamos mintán egy extrakciót végeztem, 5 párhuzamos mintán pedig a derivatizációt, így összehasonlíthatóvá válik az eredeti mennyiséghez képest a

derivatizált minta összetétele. A tiszta procianidin B2 standarddal is elvégeztem a derivatizációt 8 pontos koncentráció tartományban.

A polifenol extrakciónál a mintákhoz 1,2 ml 5 v/v % CH₃COOH tartalmú metanolt adtam, homogenizáltam, hogy a polifenol extraktum feloldódjon, majd 15 percre jeges ultrahangos fürdőbe helyeztem. Az idő letelte után a mintákhoz 1,2 ml ioncserélt vizet adtam, majd vortexeltem és 0,45 µm pórusátmérőjű hidrofílfon fecskendőszűrőn eppendorf csövekbe szűrtem a további vizsgálatokig.

A floroglucinolízishnél a mintákhoz 0,8 ml 75 mg/ml floroglucinol (Thermo Fisher Scientific, Waltham, Massachusetts, USA) és 15 mg/ml L-aszkorbinsav tartalmú metanolt adtam, majd vortexeltem, hogy az extraktum feloldódjon. A floroglucinolízis reakciójának elindításához 0,4 ml 0,3N HCl koncentrációjú metanolt adtam és rögtön 50°C-os termosztátba helyeztem 30 percre. Az idő lejártát követően a reakció megállításához a mintákat jeges fürdőbe helyeztem és a gyors lehűtést követően rögtön 1,2 ml 0,2M CH₃COONa tartalmú vizes puffert adtam, majd vortexeltem. A mintákat ezután 0,45 µm pórusátmérőjű hidrofílfon fecskendőszűrőn eppendorf csövekbe szűrtem a további vizsgálatokig.

A kalibrációt procianidin B2 (pB2) standarddal 2000 µg/ml törzsoldatból, az 1.táblázatban látható (-)-epikatechin (Extrasynthese, Lyon, Franciaország) azonos koncentráció tartományban a mintával azonos floroglucinolízises derivatizációval készítettem el. Külső kalibrációként pedig (-)-epikatechin (Ep) (2000 µg/ml) is elvégeztem (2. táblázat) a mintával azonos oldószerösszetétellel. A standardok feloldása metanolban történt. A procianidin B2 dimer procianidin származékképzésével a floroglucinolízis hatékonyságát tudjuk vizsgálni.

2. táblázat: (-)-epikatechin kalibrációs oldatsor

	Koncentráció [µg/ml]	(-)-epikatechin törzsoldat [µl]	0,2M CH ₃ COONa vizes puffer [µl]	Metanol [µl]
K ₀	0	0	500	500
K ₁	1	0,5	500	499,5
K ₂	5	2,5	500	497,5
K ₃	25	12,5	500	487,5
K ₄	50	25	500	475
K ₅	100	50	500	450
K ₆	250	125	500	375
K ₇	500	250	500	250
K ₈	1000	500	500	0

A kalibrációs oldatsorok mellett a procianidin komponensek azonosításához és a megfelelő szelektivitású komplex elválasztási módszer kidolgozásához galluszsav, (+)-katechin, (-)-epikatechin, procianidin B2, (-)-epikatechin-gallát, (-)-epigallokatechin-gallát és (-)-epigallokatechin standardokat (Extrasynthese, Lyon, Franciaország) is alkalmaztam 25 µg/ml koncentrációban monokomponenses oldatként, illetve a szelektivitás meghatározásához multikomponenses oldatként.

A derivatizált és derivatizálatlan minták addíciónálását is elvégeztem 25 és 50 µg/ml multikomponenses mix oldatra számolt koncentrációval a visszanyerés meghatározására.

4.2.3. Folyadékkromatográfiai elválasztási módszerek

A módszerfejlesztéshez a 4.2.2. bekezdésben elvégzett floroglucinsolízist követően vizsgáltam a mintákat, az addíciónált mintákat, a mono- és multikomponenses mixeket az eredeti módszertől kiindulva a végleges módszerig, melyre részleges validálást is elvégeztem. Az elválasztáshoz folyadékkromatográfiai műszert használtam az összes módszervariációhoz. A készülék és szoftver Agilent 1200 HPLC UV detektorral, Openlab CDS szoftverrel (Agilent Technologies, Santa Carla, Kalifornia) felszerelt volt.

Malec és munkatársai által leírt elválasztási módszer (I)

A HPLC-s elválasztás paraméterei a következők voltak:

- elúció: gradiens (3.táblázat);
- eluensek: 0,1% CH₃COOH víz (A), 0,1% CH₃COOH acetonitril (B);
- kolonna: Agilent Eclipse ZORBAX XDB C18, 5 µm töltetméret; 250x4,6 mm;
- kolonna termosztát hőmérséklete: 30°C;
- áramlási sebesség: 0,2 ml/perc;
- injektálási térfogat: 6 µl;

detektálási hullámhosszok: 280 nm, 320 nm, 350 nm, 420 nm

3. táblázat: gradiens elúció

Idő [perc]	Eluens A [%]	Eluens B [%]
0,00	97	3
40,00	80	20
55,00	65	35
65,00	97	3
70,00	97	3

Rövidített első módszer variáció (II)

A módszert első körben egy másik kolonna használatával lerövidítettem és az elválasztás paramétereit beállítottam. Ezután az áramlási sebességet és az injektált térfogatokat az alábbiak szerint teszteltem

A HPLC-s elválasztás paramétereit a következők voltak:

- elúció: gradiens (4.táblázat);
- eluensek: 0,1% CH₃COOH víz (A), 0,1% CH₃COOH acetonitril (B);
- kolonna: Agilent ZORBAX XDB C18, 3,5 µm töltetméret; 50x2,1 mm;
- kolonna termosztát hőmérséklete: 30°C;
- áramlási sebesség: 0,2 ml/perc; 0,3 ml/perc; 0,35 ml/perc; 0,4 ml/perc;
- injektálási térfogat: 4 µl; 2 µl;

detektálási hullámhosszok: 280 nm, 320 nm, 350 nm, 420 nm

4. táblázat: gradiens elúció

Idő [perc]	Eluens A [%]	Eluens B [%]
0,0	97	3
14,03	80	20
15,03	65	35
22,36	97	3
25,00	97	3

Végző módszer variáció (III)

A paraméterek beállítását követően az alábbi módszert készítettem el.

A HPLC-s elválasztás paramétereit a következők voltak:

- elúció: gradiens (5.táblázat);
- eluensek: 0,1% CH₃COOH víz (A), 0,1% CH₃COOH acetonitril (B);
- kolonna: Agilent ZORBAX XDB C18, 3,5 µm töltetméret; 50x2,1 mm;
- kolonna termosztát hőmérséklete: 30°C;
- áramlási sebesség: 0,4 ml/perc;
- injektálási térfogat: 2 µl;

detektálási hullámhosszok: 280 nm, 320 nm, 350 nm, 420 nm

5. táblázat: gradiens elúció

Idő [perc]	Eluens A [%]	Eluens B [%]
0,0	97	3
16,03	80	20
17,03	65	35
23,36	97	3
28,00	97	3

A különböző vizsgálati módszereknél az azonosítást lehet alkalmazni relatív válaszjel alapján (-)-epikatechinre és (+)-katechinre vetítve (4.táblázat) (Kennedy és Jones, 2001)

6. táblázat: Retenciós faktorok, moláris abszorpciós értékek és válaszfaktorok értéke a különböző procianidinekre szőlő kivonatból (Kennedy és Jones, 2001)

Komponens	Retenciós faktor (k)	Moláris abszorpciós érték metanolban (280 nm)	Relatív moláris válasz (katechinre)	Korrigált relatív moláris válasz (katechinre, floroglucinol D-gyűrűjének jelét nm számítva)
1	5,8	1344	0,34	0,32
2	9,4	4218	1,06	1,06
3	9,1	4218	1,06	1,06
4	13,4	14766	3,70	2,44
5	16,6	3988	1,00	1,00
6	13,1	3988	1,00	1,00
7	19,1	12611	3,16	2,07

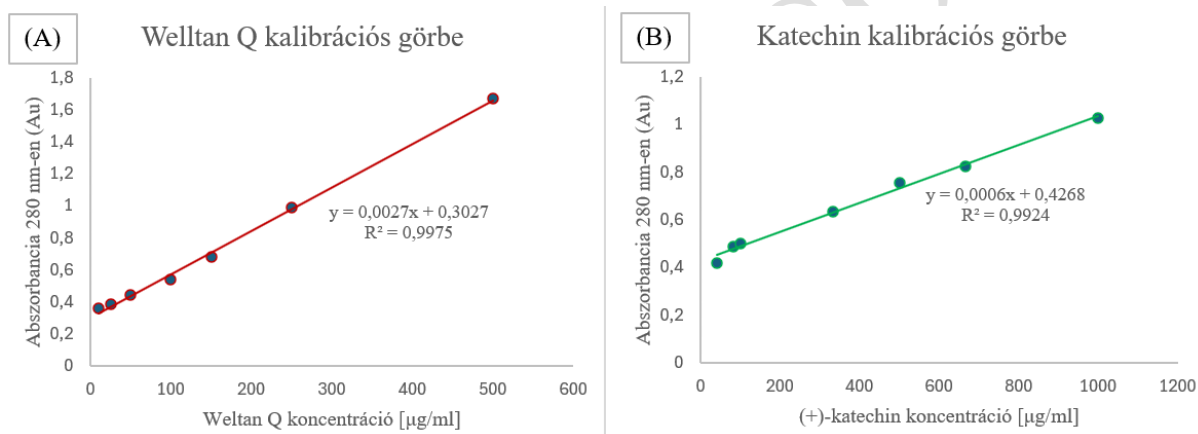
epigallokatechin-(4 β -2)-phloroglucinol (1), epikatechin-(4 β -2)-phloroglucinol (2), katechin-(4 α -2)-phloroglucinol (3), epikatechin-3-O-gallát-(4 β -2)-phloroglucinol (4), (-)-epikatechin (5), (+)-katechin (6), (-)-epikatechin-3-O-gallát (7)

5. EREDMÉNYEK ÉS ÉRTÉKELÉSÜK

5.1. Összes procianidin tartalom meghatározása

A butanolos hidrolízist követően a két kalibrációs sor kalibrációs görbéje a 14. ábrán látható. A (+)-katechin (14b) a módszerben szereplő kalibrációhoz használt anyag, míg a Welltan Q (14a) egy első sorban katechin kezdőegységből és további fisetinidol egységekből álló [REF: <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2011.10.006>] tanninban gazdag, Dél-Amerikából származó 'kebracsó' (quebracho) fa (*Schinopsis lorentzii* *Schinopsis balansae*) kivonatát tartalmazó, de pontosan nem ismert összetételű tannin mix, melyben hosszú és rövid láncú, valamint monomer polifenol egységek is találhatóak. Ez utóbbit az almában található rövidebb és hosszabb láncú procianidinek modellezése miatt alkalmaztam mind összetétel mind a hidrolizáció mértékének figyelemmel kísérése miatt.

34. ábra: Welltan Q és (+)-katechin kalibrációs görbe (saját ábra)



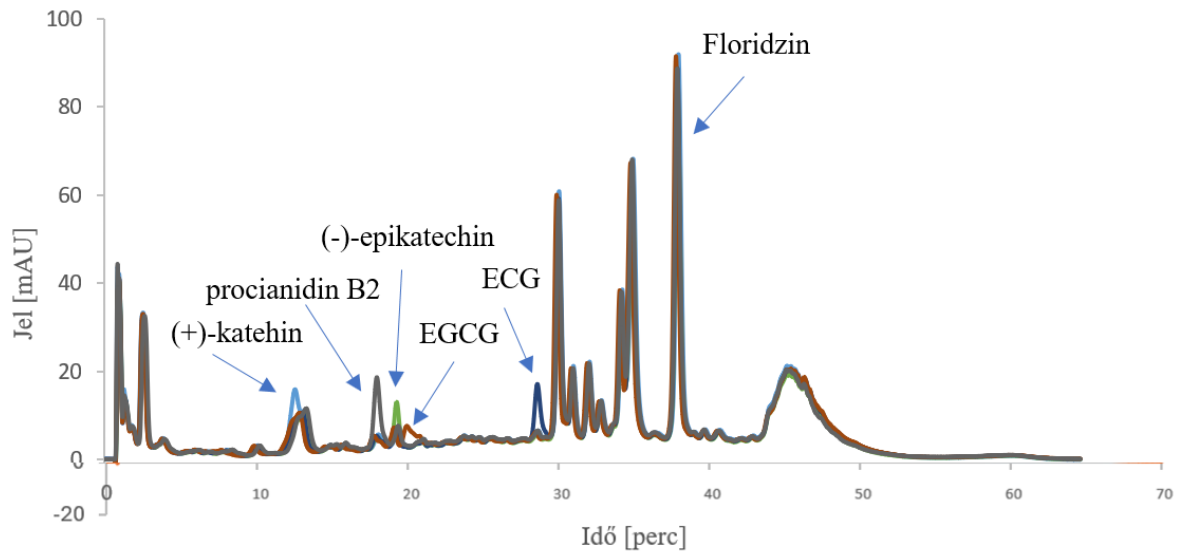
A kalibrációkat felhasználva a vizsgált polifenol extraktum procianidin tartalma katechinben kifejezve $25,57 \pm 2,00$ mg (+)-katechin/g, míg Welltan Q tannin mixben kifejezve $11,20 \pm 0,45$ mg Welltan Q/g lett.

5.2. Procianidin tartalom meghatározása HPLC-vel

Malec és munkatársai által leírt elválasztási módszer (I)

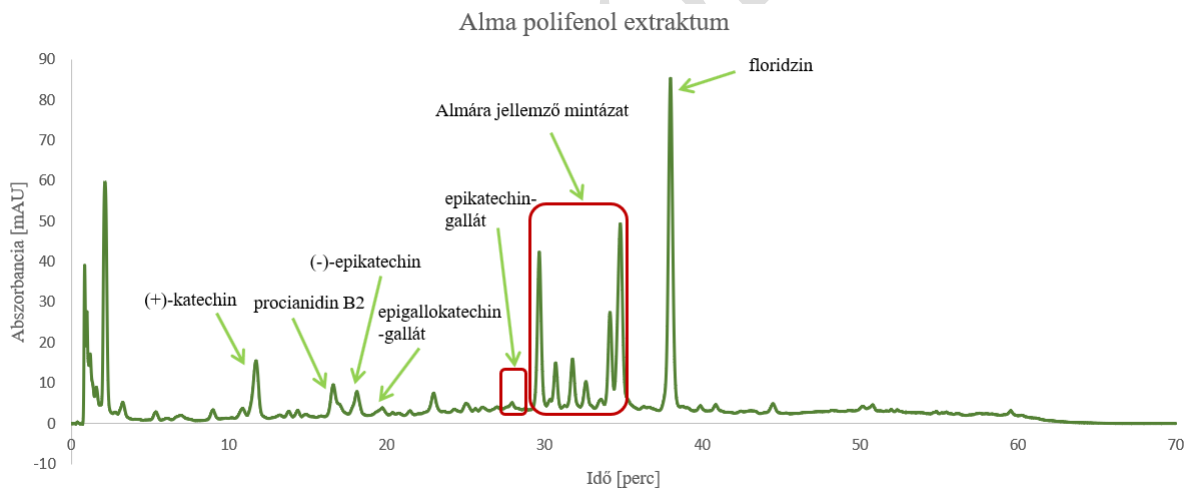
A procianidin tartalom vizsgálatához az eredeti módszert először a mixet és a polifenol extraktumon a 4.2.2. bekezdésben leírtak szerint előkészítettem és addicionáltam (+)-katechin, (-)-epikatechin, procianidin B2, (-)-epikatechin-gallát és (-)-epigallokatechin-gallát standardokkal az elúciós sorrend meghatározásához és a komponensek azonosításához.

A kapott kromatogrammon (15. ábra) jól látható, hogy az egyes procianidin komponensek jól elválnak egymástól.



45. ábra: Addicionált ultrahangos kivonással előkészített alma polifenol extraktum kromatogramja 280 nm-en vizsgálva Malec és munkatársai által leírt módszer (Malec és mtsai., 2014) szerint (saját ábra)

Mivel a módszer képes elválasztani a fent említett komponenseket, így az eredeti kivonatot is megvizsgálhatom (16.ábra).



56. ábra: Ultrahangos kivonással előkészített alma polifenol extraktum kromatogramja 280 nm-en vizsgálva Malec és munkatársai által leírt módszer (Malec és mtsai., 2014) szerint (saját ábra)

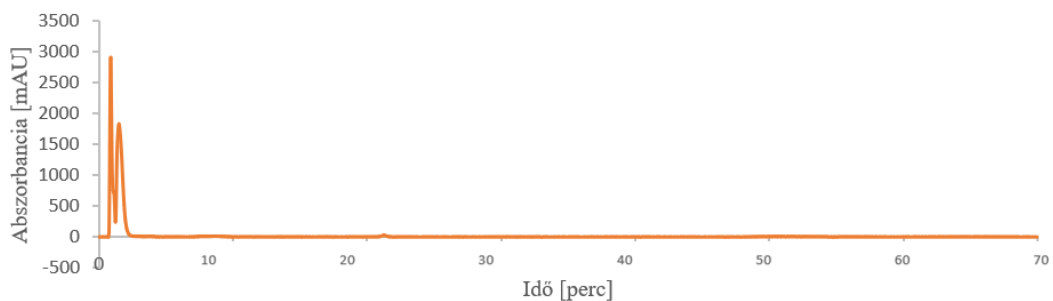
A komponenseket azonosítva, így már tudom, hogy a mintában a (+)-katechin, (-)-epikatechin, procianidin B2 volt meghatározható procianidin, illetve elenyésző mennyiségben (-)-epigallokatecin-gallát is jelen van az extraktumban.

A kromatogram végén 30 és 40 perc közötti elúciós időintervallumban az almára jellemző kromatográfiai mintázat figyelhető meg, mely az alapul vett kutatásban is vizsgált almából kivont polifenol extraktummal azonos (Malec és mtsai., 2014). Minden esetben az utoljára eluálódó komponens az almából kivont polifenol extraktumban, ahogy az a 16.ábrán is

látszódik, a floridzin. A floridzin egy indikátorként funkcionál a vizsgálat során, amivel megbizonyosodhattam arról, hogy a natív polifenol extraktumban minden komponens eluálódott a kromatográfiás oszlopról.

Ezt követően elvégeztem a floroglucinolízises derivatizációt a 4.2.2-ben leírtak szerint a polifenol extraktumon és a tiszta procianidin B2 standardon is. A kapott mintákat ugyan ezzel a módszerrel vizsgáltam, hogy meghatározzam a kapott derivatizációs termékek elúciós rendjét és hogy megbizonyosodjak a komponensek megfelelő elválasztása biztosított. Az így kapott kromatogram (17.ábra) egy torzított ábrázolást mutat. A jelentős feleslegben hozzáadott floroglucinol és aszkorbinsav rendkívül nagy jele mellett a vizsgált minta egyéb komponenseinek jele eltörpül.

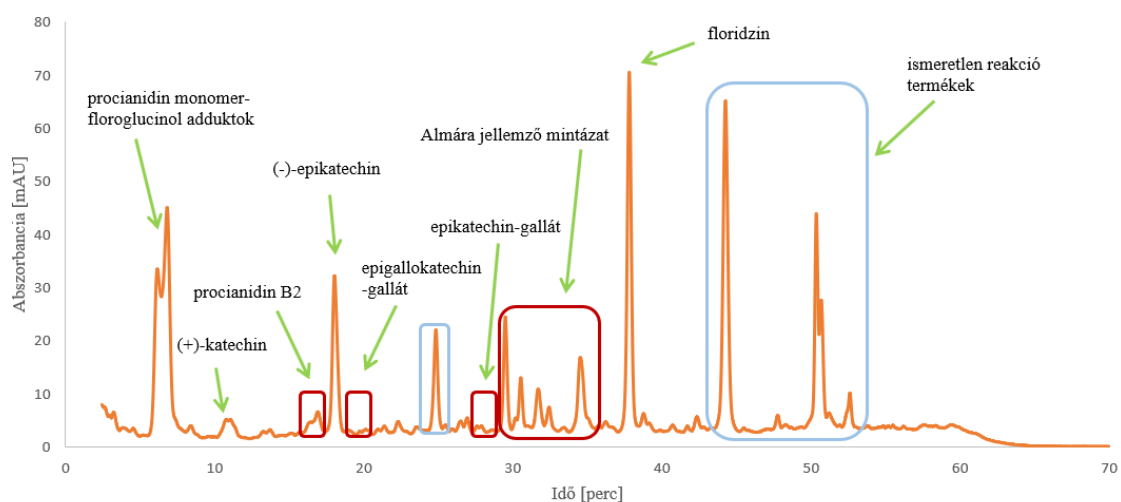
Derivatizált polifenol extraktum kromatogramja 280 nm hullámhosszon



67. ábra: Floroglucinolízissel derivatizált alma polifenol extraktum kromatogramja 280 nm-en vizsgálva Malec és munkatársai által leírt módszer (Malec és mtsai., 2014) szerint (saját ábra)

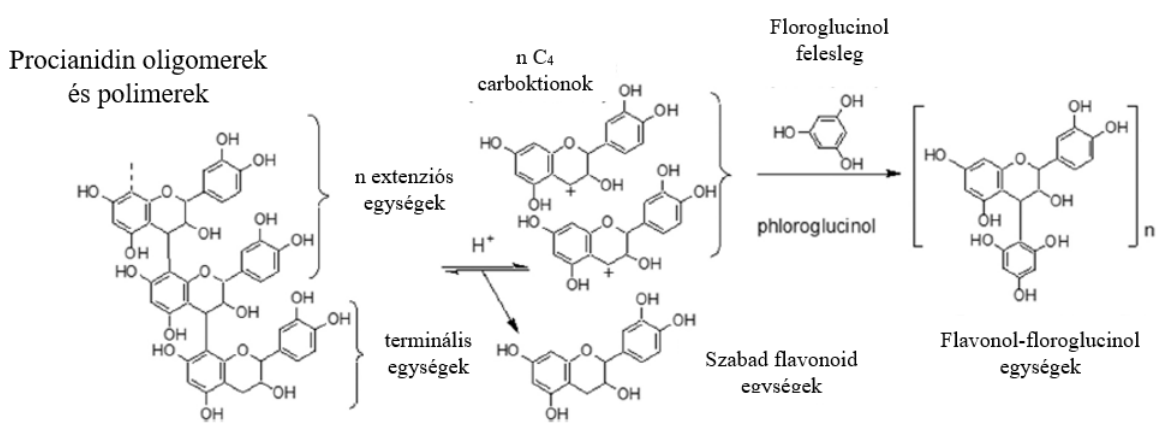
A kromatogram torzító csúcsát eltávolítva egy kiértékelhető mintázatot kaptam (18.ábra).

Floroglucinolízises derivatizációt követő alma polifenol extraktum



78. ábra: Floroglucinolízissel derivatizált alma polifenol extraktum kromatogramja 280 nm-en vizsgálva Malec és munkatársai által leírt módszer (Malec és mtsai., 2014) szerint (saját ábra)

A kromatogrammon jól láthatóvá váltak így a változások a mintázatban, illetve az újonnan megjelenő komponensek is. A derivatizáció során a dimer, oligomer és polimer procianidinek elbomlanak, ahogy itt is történt az almában jelenlévő procianidin B2 dimerrel. A láncvégi terminációs egységek, jelen esetben (-)-epikatechin nem derivatizálódnak, hanem eredeti natív formában maradnak és az (-)-epikatechin csúcsának jelentős növekedését okozzák a kromatogrammon. A nem láncvégi egységek szabad elektronnal rendelkező C atomjához savas közegben a floroglucinol tud kapcsolódni (19.ábra) és különböző monomer procianidin-floroglucinol adduktokat képezni, jelen esetben (-)-epikatechin-floroglucinolt (18.ábra kromatogrammjának eleje).



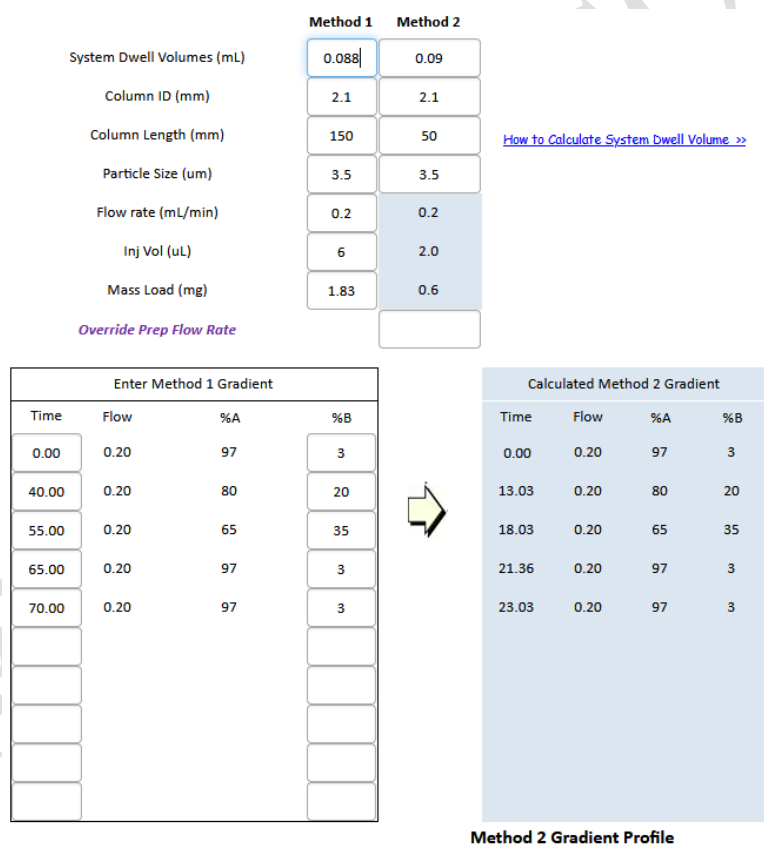
19. ábra: Floroglucinolízis reakciója (Yu és mtsai., 2023)

Ezek az adduktok a kromatogram elején egy duplacsúcsként jelennek meg, ahogy a 18.ábrán is látható. Az almára jellemző mintázat (kromatogram 30 és 40 perc közötti szakasza) intenzitása csökkent, illetve csúcsok el is tűntek. Ez azzal magyarázható, hogy az itt nem meghatározott polimer procianidinek, illetve egyéb polimerek, amelyek nem képesek vagy képesek a floroglucinollal derivatizációs terméket képezni a hidrolízis során elbomlanak. Azok az alkotók, amelyek nem procianidinek és képesek derivatizálódni új, ismeretlen csúcsokként jelentek meg a kromatogrammon, ezt a kromatogram végén a floridzin csúcsa után figyelhetjük meg ezért a mérést és elválasztást nem zavarják. Abban az esetben, ha polimer procianidinek hidrolizálódtak és derivatizálódtak úgy a kromatogram első felében a vizsgált komponensek csúcsának növekedését okozzák. A kromatogrammon azt láthatjuk, hogy a (+)-katechin, (-)-epigallokatechin-gallát és (-)-epikatechin-gallát csúcsok nem jelentek meg. Az (-)-epikatechin csúcsa viszont jelentős mértékben nőtt, nagyobb mértékben, mint amilyen mennyiségben a procianidin B2 jelen volt és derivatizálódott. Ez azt jelenti, hogy a procianidin B2 dimeren kívül jelenlévő procianidinek terminációs egységei valószínűleg kizárólag (-)-epikatechin egységek

voltak és feltehetőleg a lánchosszabbító egységek is, amelyekből (-)epikatechin-floroglucinol származék keletkezett.

Rövidített első módszer variáció (II)

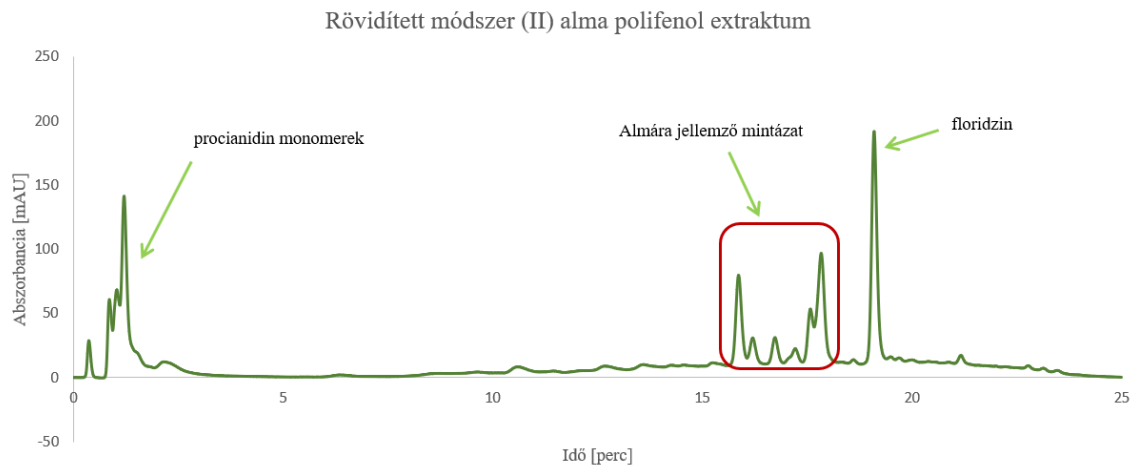
Miután meggyőződtem, hogy az egyes procianidin monomerek és az almára jellemző procianidin B2, valamint az almában található egyéb komponensek elválasztása megfelelő a módszer rövidítése következett. A módszer átalakításához egy szoftvert alkalmaztam (Waters Gradient Chromatography Calculator), ahol az oszlop paramétereit figyelembevéve a szoftver egyszerűen átalakítja az elválasztási módszert az új oszlopra (20.ábra). Az azonos felbontású de rövidebb kolonnák használata azért előnyös, mert kevesebb vegyszer, munkaidő, eszközhasználat és időigénybevétel mellett azonos elválasztás és eredmény érhető el költséghatékonyan.



20. ábra: Módszertranszferáló szoftver (Waters)

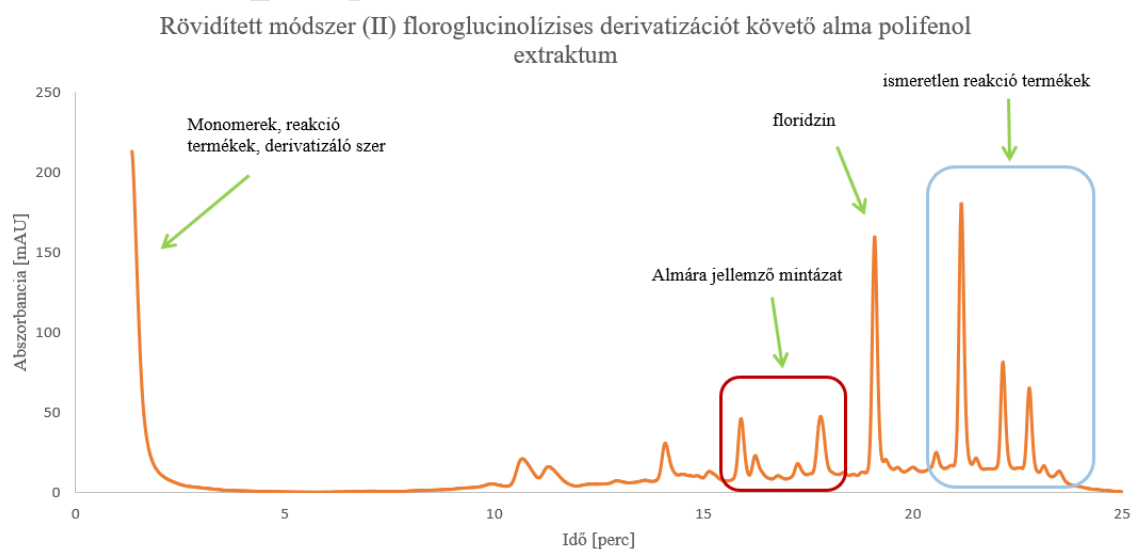
Egy másik kolonnát (Agilent ZORBAX XDB C18, 3,5 µm töltetméret; 50x2,1 mm) használtam, ahol a módszer idejét sikerült 25 percre rövidítenem. Az első módszerhez hasonlóan megvizsgáltam az elválasztást a derivatizált (22.ábra) és nem derivatizált (21.ábra) polifenol extraktumon. A 21.ábrán látható, hogy az almára jellemző mintázat ugyan úgy megmaradt és

relatív ugyan abban az időablakban jelent meg (15 és 20 perc között). Azonban a kromatogram elején a monomer procianidinek és a procianidin B2 elválasztása nem sikerült. Ennek oka valószínűleg a gradiens elúció végén következő ekvilibrálási szakasz rövidsége, ami miatt az oszlopon túl sok szerves oldószer maradt és a monomer komponensek nem tudtak megfelelően kötődni az oszlophoz és viszonylag hamar együttesen eluálódtak. Mivel az elválasztás fordított fázison történik viszonylag nagyon magas víz koncentrációval nem vizes oszlopon az egyensúly beállításához valószínűleg jóval több időre van szükség.



21. ábra: Alma polifenol extraktum kromatogramja 280 nm-en rövidített első módszer variációval vizsgálva (saját ábra)

A derivatizált mintát megvizsgálva ugyan ezzel a módszerrel (22.ábra) láthatjuk, hogy az összes reakciótermék, ami a procianidineket érinti, a derivatizáló szer feleslege, valamint az aszkorbinsav a holtidővel távozik az oszlopról. Az almára jellemző mintázat és az ismeretlen komponensekből származó reakciótermékek ugyan úgy jelen vannak.

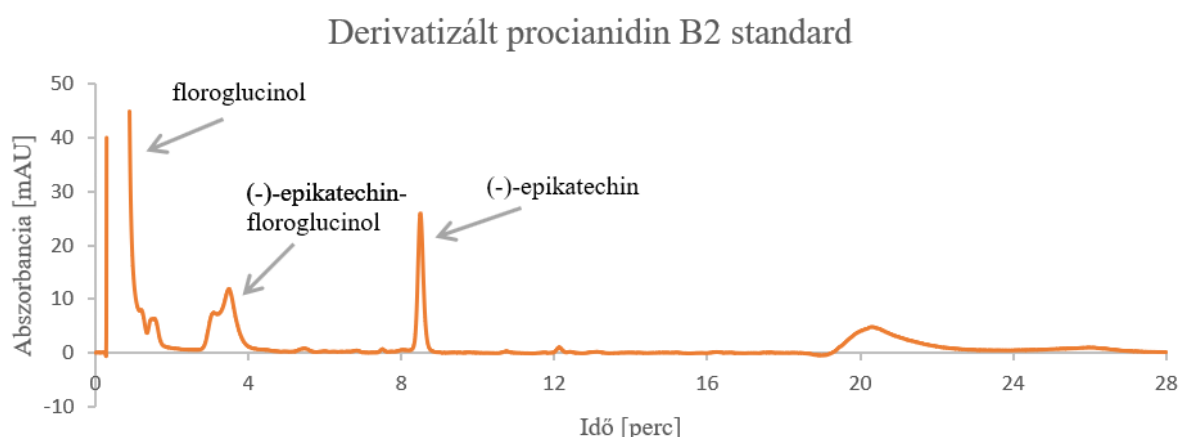


22. ábra: Floroglucinolízissel derivatizált alma polifenol extraktum kromatogramja 280 nm-en rövidített első módszer variációval vizsgálva (saját ábra)

Erről a rövidített módszerről szemrevételezéssel megállapítható, hogy nem megfelelő a további vizsgálatokhoz és a validáció elkészítéséhez, további módosítások szükségesek, amivel biztosíthatóak a kvantifikáció és kvalifikáció körülményei.

Végső módszer variáció (III)

Az előző módszervariációt megvizsgálva az elválasztás paraméterein kellett változtatni. Hiába az oszlop rövidségének és paramétereinek figyelembevételével történő egyszerű adaptáció, kisebb módosításokat tapasztalati úton kellett eszközölni. A végső módszernél egy hosszabb és lassabban emelkedő gradiens elúciót alkalmaztam a módszer elején az első szakasznál és a második szakasznál is (3.táblázat). Az elválasztási szakaszt és a mosási szakaszt követően az ekvilibrálási részt kibővítettem, így megfelelő ideje van az oszlopon az egyensúly beállításának két minta vizsgálata között, az elválasztás így már hatásos volt. A 0,4 ml/perc áramlási sebesség bizonyult a leghatékonyabbnak.

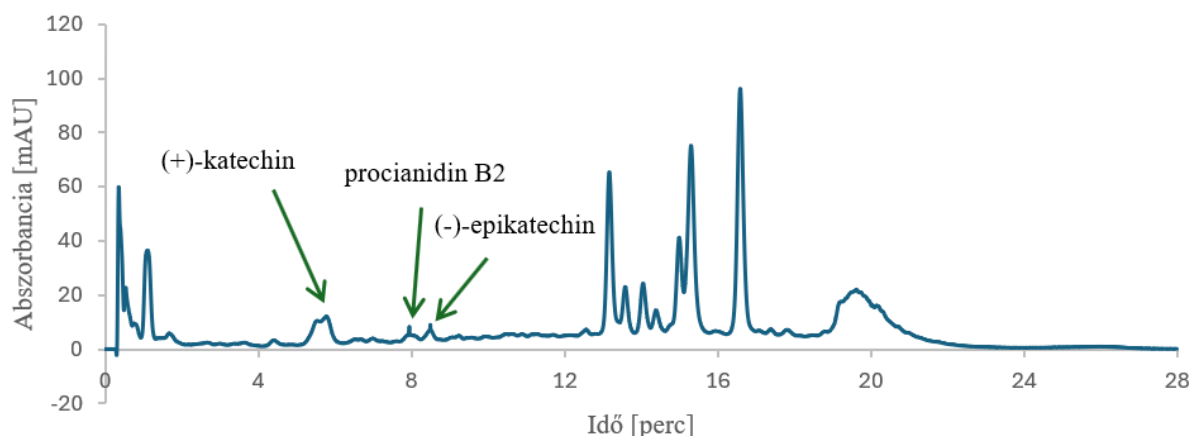


23. ábra: Floroglucinolízissel derivatizált procianidin B2 standard kromatogramja 280 nm-en végső módszerrel vizsgálva (saját ábra)

A 23.ábrán látható a tiszta procianidin B2 standard derivatizációt követő vizsgálata. Az abszolút csúcsalatti terület arányuk $55\pm 2\%$ (-)-epikatechin-floroglucinol és $45\pm 2\%$ (-)-epikatechin, ebből az arányból kalibrációt követően ismerve a monomerek és adduktok móltömegét számítható a procianidin B2, illetve egyéb polimer procianidin tartalom, mivel a hidrolízist követően 1:1 mólarányban keletkeznek az egyes alkotók.

Az elkészült módszerrel megvizsgáltam a polifenol extraktumot és a derivatizált polifenol extraktumot is.

Alma polifenol extraktum kromatogrammja 280 nm hullámhosszon



24. ábra: Alma polifenol extraktum kromatogrammja 280 nm-en a végső módszer variációval vizsgálva (saját ábra)

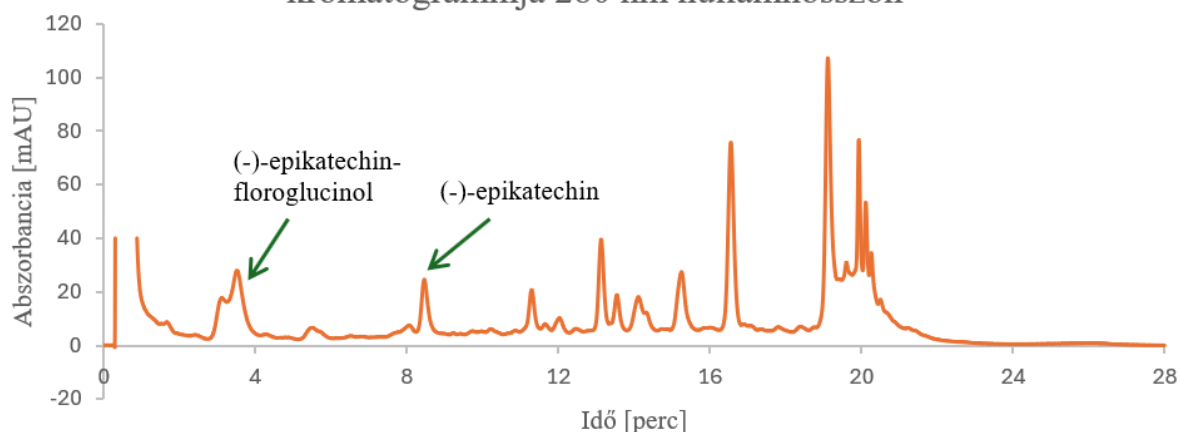
A 24. ábrán látható a végső módszerrel vizsgált polifenol extraktum. A mintában (+)-katechin, (-)-epikatechin és procianidin B2 procianidinek vannak jelen, illetve ismeretlen mennyiségű és minőségű oligomer procianidin. A polifenol extraktumra visszaszámolt vizsgált komponenseinek mennyiségét az 7. táblázatban foglaltam össze.

7. táblázat: Polifenol extraktum procianidin tartalma

Komponens	Polifenol extraktumban található mennyiség [mg/g]
(-)-epikatechin	1,32±0,04
(+)-katechin	2,17±0,07
procianidin B2	1,01±0,02
Összesen	4,50±0,04

A táblázatban látható, hogy összesen 4,50±0,04 mg/g procianidin tartalmat tudtam meghatározni a kivonatból, mely nem tartalmazza a polimer és oligomer, illetve más dimer procianidinek eredményét. Az összes procianidin tartalom esetében 25,57±2,00 mg (+)-katechin/g és 11,20±0,45 mg Weltan Q/g eredményeket kaptam. Ebből arra következtethetünk, hogy a maradék mennyiség valószínűleg egyéb DP>2 polimerizáltságú procianidinből tevődik össze, melyet derivatizálva megkaphatjuk a pontos összetételüket, az átlagos mennyiségüket és az átlagos polimerizáltsági fok eredményeit.

Floroglucinolízist követő alma polifenol extraktum kromatogramja 280 nm hullámhosszon



25. ábra: Floroglucinolízissel derivatizált alma polifenol extraktum kromatogramja 280 nm-en végső módszer variációval vizsgálva (saját ábra)

Miután elvégeztem a derivatizációt megkaptam azokat az eredményeket, amik az ismeretlen procianidinek elbomlásából keletkeztek. Az eredeti mintában jelenlévő (+)-katechin és (-)-epikatechin a derivatizáció savas körülményei, illetve magas hőmérséklete miatt feltehetőleg elbomlottak. A kromatogrammon (25.ábra) megjelenő (-)-epikatechin, illetve (-)-epikatechin-floroglucinol származék csakis a procianidin B2, illetve egyéb di-, poli- és oligomer procianidinekből származhatnak. Mivel a monomerek tekintetében kizárólag (-)-epikatechin csúcs jelent meg a kromatogrammon, ebből arra következtethetünk, hogy a procianidinek terminációs egységei kizárólag (-)-epikatechin egységekből állnak (ahogy ez a procianidin B2 esetében is így van). Az almára jellemző mintázat ugyan úgy jelen van, ahogy a natív polifenol extraktumban, azzal a különbséggel, hogy néhány csúcs eltűnt. Ez arra utalhat, hogy valamilyen procianidin komponensek voltak, melyek derivatizálódtak. Az (-)-epikatechin-floroglucinol csúcs azonosításával és mennyiségi meghatározásával megadhatjuk azoknak a procianidin komponenseknek az átlagos polimerizáltsági fokát és mennyiségét, melyekről tudjuk, hogy (-)-epikatechin terminációs egységgel rendelkeznek és szintén (-)-epikatechin a többi felépítő egység is. Mivel új csúcs nem jelent meg a kromatogrammon az (-)-epikatechin előtt, így azt tudjuk feltételezni, hogy más monomer procianidin-floroglucinol addukt nem keletkezett. Ezt azért állíthatjuk mivel a floroglucinol adduktok a monomerekhez képest hidrofílebb komponensek, így a monomerek előtt, de a derivatizáló szer után kell eluálódniuk. A kapott mennyiségi eredményeket a 8.táblázatban foglaltam össze.

8. táblázat: Derivatizált polifenol extraktum procianidin tartalma

Komponens	Polifenol extraktumban található mennyiség [mg/g]
(-)-epikatechin	2,89±0,09
(-)-epikatechin-floroglucinol	8,83±0,12

A 23. ábránál a procianidin B2 derivatizálásával bebizonyított (-)-epikatechin-floroglucinol és (-)-epikatechin 55-45 %-os területarányt figyelembevéve, illetve a kalibrációval meghatározott mennyiségek alapján a 8. táblázat eredményeivel kiszámíthatjuk az átlagos polimerizáltsági fokot. Egy (-)-epikatechin egység a terminációs egység és ehhez adódnak hozzá a további (-)-epikatechin egységek, melyek derivatizálódtak és adják a lánc további egységeit. Az (-)-epikatechin moláris tömege 442,37 g/mol az (-)-epikatechin-floroglucinolé pedig 702,63 g/mol. Ezekkel az adatokkal átszámítva molban kifejezve a polifenol extraktumban jelenlévő (-)-epikatechin mennyisége $6,534 \cdot 10^{-6}$ mol/g az (-)-epikatechin-floroglucinolé $1,257 \cdot 10^{-5}$ mol/g. A kettőt elosztva egymással megkapjuk a hosszabbító egységek számát, mely 2. Tehát 2 hosszabbító egységgel és egy terminációs egységgel rendelkeznek átlagosan a procianidinek a polifenol extraktumban, ez DP=3 polimerizáltsági fokot jelent, hármass polimerizáltsági fokú (-)-epikatechinben kifejezve ez 8,45 mg/g.

5.2. Procianidin tartalom meghatározás módszervalidálás teljesítmény jellemzői

A módszer validálását (-)-epikatechin és procianidin B2 komponensekre végeztem el.

Pontosság (visszanyerés)

A pontosság meghatározását ismert mennyiségű és koncentrációjú standard oldat addíciójával végeztem el („spiked” módszer) 3 koncentrációs pontban 3 párhuzamos mérésben (9. táblázat).

9. táblázat: Visszanyerés vizsgálat

Komponens	Hozzáadott koncentráció [µg/ml] n=3	Visszanyerés [%]	RSD [%]
(-)-epikatechin	20	113	3,19
(-)-epikatechin	100	108	3,20
(-)-epikatechin	200	97	2,06
procianidin B2	20	109	3,31
procianidin B2	100	94	2,81
procianidin B2	200	106	3,02

Az egyes komponensek addíciója a koncentráció szinteken 3 párhuzamos mintán történt (n=3)
A visszanyerés értéke 85-115% közé esik, így a módszer pontossága megfelelő.

Ismételhetőség

Az ismételhetőség meghatározásához az (-)-epikatechin és procianidin B2 komponensekre 7 párhuzamos előkészítést végeztem el. Az (-)-epikatechin esetében a derivatizált mintán $26,52 \pm 0,48$ $\mu\text{g/ml}$ koncentrációnál $\text{RSD} (\%) = 1,80$ értéket kaptam, míg a procianidin B2 esetében $29,49 \pm 0,67$ $\mu\text{g/ml}$ koncentrációnál $\text{RSD} (\%) = 2,26$ értéket. A módszer ismételhetősége a megfelelőségi szintnek kitűzött 5% alatti érték, tehát megfelelő volt.

Szelektivitás

A szelektivitást (+)-katechin, (-)-epikatechin és procianidin B2 komponensekre, derivatizációt követően megjelenő (-)-epikatechin-floroglucinol komponensre határoztam meg, ugyanis a többi vizsgált komponens nem volt jelen a polifenol extraktumban. Szemrevételezéssel azonban megállapítható, hogy az (-)-epikatechin-gallát, (-)-epigallokatechin-gallát és (-)-epigallokatechin komponensekre is megfelelő az elválasztás mértéke és minősége standard mix vizsgálata során.

10. táblázat: Retenciósidők

Komponens	Retenciósidő [perc]	Felbontás [Rs]
(-)-epikatechin-floroglucinol	3,293	-
(+)-katechin	4,825	4,42
procianidin B2	7,159	6,73
(-)-epikatechin	7,555	1,54

A komponensek alapvonalis elválasztása az összes komponensnél megfelelő volt (10.táblázat). A kritikus elválasztandó komponensek a procianidin B2 és az (-)-epikatechin voltak. Mivel a felbontási tényező 1,54 érték a két komponens között, így az elválasztás alapvonalis volt (ezt $R_s > 1,5$ -ös értéknél jelenthetjük ki). A komponensek szelektív elválasztására a módszer megfelelő.

Kimutatási határ (LOD - Limit of detection)

A definíció szerint a kimutatási határ:

$$LOD = j_{el_{vak}} + 3 * s_{vak}$$

ahol $j_{el_{vak}}$ a vak oldatra mért jel és a s_{vak} a vak minta jelére kapott szórás.

A kimutatási érték (-)-epikatechin, (-)-epikatechin-floroglucinol és procianidin B2 esetében $LOD = 0,5 \mu\text{g/ml}$.

Mennyiségi meghatározási határ (LOQ - Limit of quantification)

A kimutatási határ tízszeres értéke, ahol a meghatározandó komponensre kapott mennyiség hibája elfogadható mértékű.

$$LOQ = LOD * 10$$

A meghatározási határ (-)-epikatechin, (-)-epikatechin-floroglucinol és procianidin B2 esetében $LOD = 5 \mu\text{g/ml}$.

Linearitás

A linearitás vizsgálathoz 1-1000 $\mu\text{g/ml}$ koncentrációban, koncentrációként 2 párhuzamos méréssel készítettem el a kalibrációs sort 11.táblázat).

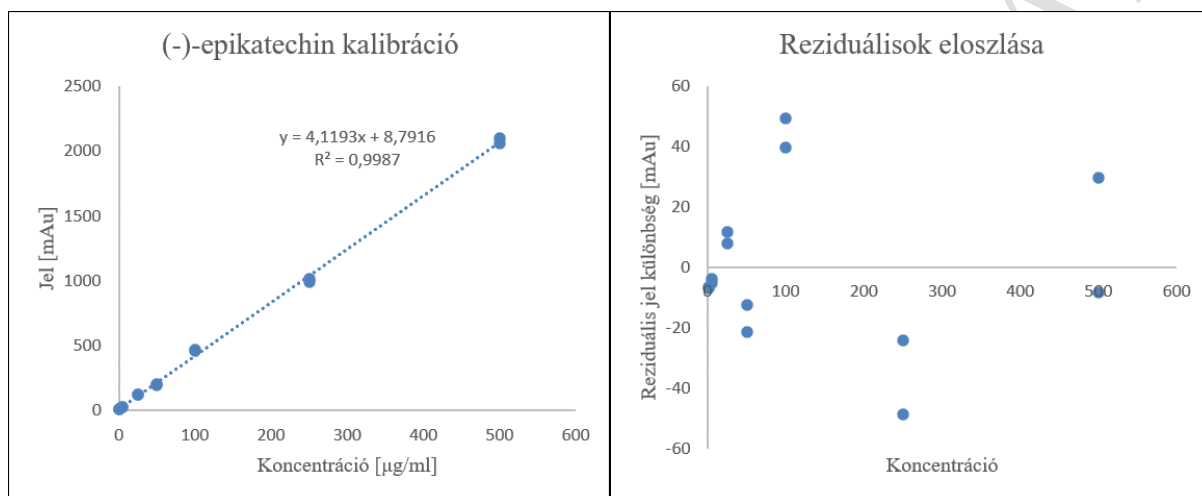
11. táblázat: Linearitás vizsgálat (-)-epikatechinre

Koncentráció [$\mu\text{g/ml}$] (x)	Jel [mAu] (y)	Reziduálisok (y- \check{y})
1	6,199	-6,7119
1	6,029	-6,8819
5	24	-5,3881
5	25,51	-3,8781
25	123,32	11,5459
25	119,61	7,8359
50	202,24	-12,5166
50	193,42	-21,3366
100	470,02	49,2984
100	460,37	39,6484
250	1014,5	-24,1166
250	990,02	-48,5966
500	2060	-8,4416
500	2098	29,5584
1000	6769,2	2641,108
1000	6650,5	2522,408

Szemrevételezést és egyenes illesztést követően az 1000 $\mu\text{g/ml}$ koncentrációs pontot kizártam és nem használtam fel, mert ez a pont már nem a lineáris tartományba esik, a legmagasabb

koncentrációs pontnak 500 µg/ml-t használtam. A kalibrációs pontokra egyenest illeszttem, meghatároztam az R^2 értékét, mely $R^2 = 0,9987$ lett (17.ábra). Ez az egyenes pontokra való illeszkedésének mértékét fejezi ki, $R^2 > 0,99$ értéknél (egyes esetekben $R^2 > 0,98$) tekintjük elfogadhatónak. A kalibrációs görbe a vizsgált tartományban lineárisnak bizonyult erős korrelációval. Ezt követően a reziduálisok (maradékok) vizsgálatát is elvégeztem, amely megmutatja, hogy az egyenes egyenletéből becsült pontok és a tényleges mért pontok között milyen összefüggés, eltérés van. Az adatokat a 9.táblázatban gyűjtöttem össze.

A reziduálisokat a koncentrációtól függően pontdiagrammon ábrázoltam (17.ábra) és ezt megvizsgálva láthatjuk, hogy a hiba véletlenszerű vagy valamilyen tendenciát mutat.



87. ábra: (-)-epikatechin kalibráció és a kalibrációs pontok reziduálisainak eloszlása (saját ábra)

A 17.ábrán látható, hogy a reziduálisok véletlenszerűen oszlottak el a 0 pont körül, nem mutattak koncentrációfüggő trendet vagy strukturált eloszlást. A procianidin B2 esetében $R^2 = 0,9939$ és az (-)-epikatechin-floroglucinol esetében $R^2 = 0,9912$ értékeket kaptam, valamint a reziduálisok eloszlása szintén véletlenszerűen oszlott el a 0 pont körül. A vizsgált tartományban a vizsgált komponensekre a kalibráció linearitása megfelel a validációs követelményeknek.

6. KÖVETKEZTETÉSEK ÉS JAVASLATOK

A diplomamunkám elkészítésekor kidolgozott analitikai módszer alkalmasnak bizonyult az (-)-epikatechint tartalmazó polimer procianidinek vizsgálatára az almatörkölyből nyert polifenol extraktumban.

- A fejlesztett analitikai módszer szelektív, reprodukálható, lineáris a meghatározott 5-500 µg/ml koncentráció tartományban
- A módszer a módszervalidálás követelményeinek megfelelt.

A módszer alkalmazásával meghatározott polimerizáltsági fok az almából kinyert polifenol extraktumban átlagosan $D_p=3$ lett

- Meghatározott procianidin monomerek: (+)-katechin és (-)-epikatechin; meghatározott dimer: procianidin B₂; valamint $DP=3$ polimerizáltságú (-)-epikatechin felépítésű oligomerek mennyiségi és minőségi analízise
- Az eredmények Malec és munkatársai által kapott eredményekhez hasonlóak lettek, a polimerizáltsági fok náluk is $DP=3$ lett, azonban az Ő kutatásukban (+)-katechint tartalmazó procianidinek is jelen voltak, ami az én esetemben nem volt jelen (Malec és *mtsai.*, 2014; Hollands és *mtsai.*, 2017b)

Az össz procianidin tartalom katechinben kifejezve $25,57 \pm 2,00$ mg (+)-katechin/g, míg Welтан Q tannin mixben kifejezve $11,20 \pm 0,45$ mg Welтан Q/g lett, ez az érték a korábbi irodalmi adatok mérési tartományával is összhangban áll, ugyanakkor nehéz megállapítani az összes tartalom kifejező molekuláját a komplex alkotók miatt (Sung és *mtsai.*, 2013; Duo és *mtsai.*, 2025; Loy és *mtsai.*, 2025).

A kapott eredmények megerősítik, hogy az almában jelenlevő procianidinek jellemzően rövidebb láncú molekulák. Ez ugyanakkor gondolkodásra is sarkall, mivel egy érzékeny molekulacsaládról van szó. Az alma rengeteg feldolgozási lépésen esett át (lékinyerés, enzimes kezelés, szárítás, extrakció), ami okozhatja a kezdeti hosszabb láncú oligo- és polimer procianidinek felbomlását, oxidációját. Ezek az eredmények, így nem feltétlenül vonatkoztathatóak az eredeti nyers alma procianidin tartalmára, amennyiben arra lennénk kíváncsiak úgy közvetlenül az almából kellene vizsgálatot végezni a létrehozott módszerrel. Azonban jelen esetben nem is ez volt a cél, hanem a melléktermék felhasználásának és fontos alkotóinak kinyerésének a vizsgálata, ami sikerült.

A megalkotott módszer a korábbiakhoz képest:

- rövidebb mérési időt vesz igénybe, mely munkaerőt takarít meg;
- kisebb oldószerfelhasználás, ezáltal olcsóbb és hatékonyabb, illetve környezetkímélőbb a mérés;
- biztonságosabb.

A fejlesztett módszer biztonságosan és pontosan alkalmazható alma és almatörköly mintákban található polimer procianidinek vizsgálatára, azonban a különböző gyümölcsfajták eltérő mátrixhatásai és procianidin alkotói miatt más növényi eredetű minták (pl. szőlő, áfonya, kakaó) esetén a módszert újra szükséges validálni.

Az módszer által biztosított eredmények hozzájárulhatnak az almatörköly, mint értékes polifenol forrás ipari hasznosításához, valamint az élelmiszeripari és nutrigenetikai fejlesztések tudományos megalapozásához.

A módszert véleményem szerint a jövőben érdemes lenne tovább pontosítani:

- Ismert procianidin standardokkal való validálással további gyümölcsök és zöldségek is vizsgálhatóvá válnak;
- A HPLC-s elválasztást és detektálást követően a tömegspektrometriás rendszer kapcsolásával még pontosabban meghatározhatóak lennének a komponensek, ezentúl tömeg/töltés értékek alapján az egyes procianidinek elválasztása után az alkotóelemek és a polimerizáltsági fok pontosabban meghatározható lenne
- Biológiai stabilitási vizsgálatokat (tárolás, fényhatás, stb) is érdemes lenne elvégezni

Összességében a vizsgálati módszer alkalmasnak és hatékornak bizonyult és a kitűzött célt sikerült elérnem.

7. ÖSSZEFOGLALÁS

A kutatás célja volt egy olyan analitikai módszer kidolgozása és alkalmazása, amely alkalmas az almatörkölyből kivont polifenol extraktumból származó procianidinek meghatározására és jellemzésére. Az almafeldolgozás, almalégyártás melléktermékeként keletkező almatörköly értékes polifenolforrás, amely számos biológiailag aktív komponenst tartalmaz. Ezek közül a procianidinek (monomer, dimer, oligomer és polimer procianidinek) kiemelt jelentőséggel bírnak táplálkozásélettani és egészségvédő tulajdonságaik miatt.

A polifenol extraktum vizsgálatát egy teljes polifenol tartalom meghatározással kezdtem kétféle kalibráló komponensre a monomer (+)-katechinre, illetve egy komplex polimerekből is álló tannin kivonatra a Welltan Q-ra. A teljes polifenol tartalommal összehasonlíthatóvá tettem a mérési eredményeimet korábbi kutatásokkal.

A módszer kidolgozást a Malec és munkatársai által leírt módszer kipróbálásával kezdtem el. Az egyes procianidin komponenseket (galluszsav, (+)-katechin, (-)-epikatechin, procianidin B2, (-)-epikatechin-gallát, (-)-epigallokatechin-gallát és (-)-epigallokatechin) is lemértem ezzel a módszerrel a komponensek azonosítása és az elúciós sorrend meghatározása miatt. A módszert ezután egy szoftver segítségével adaptáltam egy azonos felbontású de rövidebb kromatográfiás kolonnára, az így elkészült módszer nem volt még alkalmas az elválasztásra, így további tapasztalati úton történő módosításra volt szükség. Végül az elkészült végleges módszervariáció hatékonyabb, gazdaságosabb, időtakarékosabb és környezetkímélőbb lett az eredetihez képest.

Az elkészült módszerre elvégeztem egy részleges analitikai módszer validálást, meghatároztam az ismételhetőséget, pontosságot, szelektivitást, kimutatási és meghatározási határt, valamint 5-500 µg/ml koncentráció tartományban a linearitást. A validálás megfelelőnek bizonyult és a követelményeknek eleget tettek az eredmények, így a módszerről kijelenthetjük, hogy megbízható.

A polifenol extraktum vizsgálatából meghatároztam a minta (-)-epikatechin, (+)-katechin, procianidin B2 tartalmát, valamint a polimer procianidinek polimerizáltsági fokát (DP), amely átlagosan 3 volt. Ez összhangban áll a korábbi szakirodalmi adatokkal is. Ez azt jelzi, hogy az almatörkölyben főként rövidebb láncú, oligomer jellegű procianidinek találhatók, amelyek kedvezőbb biológiai hozzáférhetőséggel és stabilitással rendelkeznek.

Az eredmények alapján az almatörköly értékes másodlagos nyersanyagként hasznosítható, amelyből magas biológiai aktivitású polifenolos kivonatok nyerhetők. A módszer lehetőséget teremt ezen vegyületek élelmiszeripari, és egyéb módon történő felhasználására, valamint

hozzájárul az almafeldolgozás melléktermékeinek értéknövelt, fenntartható újrahasznosításához.

A kutatás eredményeként létrejött analitikai protokoll, módszer más növényi eredetű minták vizsgálatára is potenciálisan alkalmazható lesz, azonban a különböző gyümölcsök eltérő mátrix és komponens összetétele miatt a módszer újra validálása elengedhetetlen minden új alapanyag esetében.

Összességében elmondható, hogy a dolgozatban kidolgozott és validált analitikai módszer megbízható, hatékony, költségtakarékos és környezetbarát alternatívát kínál az almatörkölyből nyert polimer procianidinek meghatározására és jellemzésére. A kutatás hozzájárul a polifenolok analitikai vizsgálati módszertanának fejlődéséhez, és egyúttal új lehetőséget nyit a mezőgazdasági melléktermékek magas hozzáadott értékű, fenntartható ipari hasznosítására.

8. IRODALOMJEGYZÉK

- Abrankó L. (2018) „Magyar Kémikusok Lapja”. Elérhető: <https://doi.org/10.24364/MKL.2018.11>.
- Akiyama, H. és mtsai. (2005) „Dietary unripe apple polyphenol inhibits the development of food allergies in murine models”, *FEBS letters*, 579(20), o. 4485–4491. Elérhető: <https://doi.org/10.1016/j.febslet.2005.07.019>.
- Alverina, C., Ferni és Wirjatmadi, B. (2022) „Procyanidin and Its Benefits on Aging: A Literature Review”, *International Journal of Medical Science and Clinical Research Studies*, 2(08), o. 762–769. Elérhető: <https://doi.org/10.47191/ijmscrs/v2-i8-09>.
- Andre, C.M. és mtsai. (2012) „Anti-inflammatory procyanidins and triterpenes in 109 apple varieties”, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(42), o. 10546–10554. Elérhető: <https://doi.org/10.1021/jf302809k>.
- Aron, P.M. és Kennedy, J.A. (2008) „Flavan-3-ols: nature, occurrence and biological activity”, *Molecular Nutrition & Food Research*, 52(1), o. 79–104. Elérhető: <https://doi.org/10.1002/mnfr.200700137>.
- Avdatek, F., Yeni, D. és Taşdemir, U. (2020) „Kısa Süreli Saklanan Merinos Koç Spermasında Proantosiyanidin Motilite ve Ozmotik Direnç Parametreleri Üzerine Etkisi”, *Kocatepe Veterinary Journal*, 13(4), o. 362–367. Elérhető: <https://doi.org/10.30607/kvj.800186>.
- Bakheet, S.A. és mtsai. (2016) „Alleviation of Aflatoxin B1-Induced Genomic Damage by Proanthocyanidins via Modulation of DNA Repair”, *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*, 30(11), o. 559–566. Elérhető: <https://doi.org/10.1002/jbt.21823>.
- Bohn, T. (2014) „Dietary factors affecting polyphenol bioavailability”, *Nutrition Reviews*, 72(7), o. 429–452. Elérhető: <https://doi.org/10.1111/nure.12114>.
- Brimson, J.M. és mtsai. (2021) „Plant Polyphenols for Aging Health: Implication from Their Autophagy Modulating Properties in Age-Associated Diseases”, *Pharmaceuticals (Basel, Switzerland)*, 14(10), o. 982. Elérhető: <https://doi.org/10.3390/ph14100982>.
- Castro, A.C.C.M. és mtsai. (2018) „Green coffee seed residue: A sustainable source of antioxidant compounds”, *Food Chemistry*, 246, o. 48–57. Elérhető: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.10.153>.
- Dai, J. és Mumper, R.J. (2010) „Plant phenolics: extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties”, *Molecules (Basel, Switzerland)*, 15(10), o. 7313–7352. Elérhető: <https://doi.org/10.3390/molecules15107313>.
- Dasiman, R. és mtsai. (2021) „A Review of Procyanidin: Updates on Current Bioactivities and Potential Health Benefits”, *Biointerface Research in Applied Chemistry*, 12(5), o. 5918–5940. Elérhető: <https://doi.org/10.33263/BRIAC125.59185940>.
- Dirir, A.M. és mtsai. (2022) „A review of alpha-glucosidase inhibitors from plants as potential candidates for the treatment of type-2 diabetes”, *Phytochemistry Reviews: Proceedings of the Phytochemical Society of Europe*, 21(4), o. 1049–1079. Elérhető: <https://doi.org/10.1007/s11101-021-09773-1>.

- Duo, T. és mtsai. (2025) „Determination of polyphenols in fruits based on metal-polyphenol coordination and surface-enhanced Raman scattering technology”, *Analytica Chimica Acta*, 1377, o. 344654. Elérhető: <https://doi.org/10.1016/j.aca.2025.344654>.
- Felty, Q., Singh, K.P. és Roy, D. (2005) „Estrogen-induced G1/S transition of G0-arrested estrogen-dependent breast cancer cells is regulated by mitochondrial oxidant signaling”, *Oncogene*, 24(31), o. 4883–4893. Elérhető: <https://doi.org/10.1038/sj.onc.1208667>.
- Ferreira, D., Marais, J.P.J. és Slade, D. (2003) „Phytochemistry of the mopane, *Colophospermum mopane*”, *Phytochemistry*, 64(1), o. 31–51. Elérhető: [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(03\)00152-3](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(03)00152-3).
- Ghosh, D. és Scheepens, A. (2009) „Vascular action of polyphenols”, *Molecular Nutrition & Food Research*, 53(3), o. 322–331. Elérhető: <https://doi.org/10.1002/mnfr.200800182>.
- Gong, L. és mtsai. (2020) „Inhibitors of α -amylase and α -glucosidase: Potential linkage for whole cereal foods on prevention of hyperglycemia”, *Food Science & Nutrition*, 8(12), o. 6320–6337. Elérhető: <https://doi.org/10.1002/fsn3.1987>.
- Grzesik, M. és mtsai. (2018) „Antioxidant properties of catechins: Comparison with other antioxidants”, *Food Chemistry*, 241, o. 480–492. Elérhető: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.08.117>.
- Guyot, S. és mtsai. (1997) „Characterization of highly polymerized procyanidins in cider apple (*Malus sylvestris* var. *kermerrien*) skin and pulp”, *Phytochemistry*, 44(2), o. 351–357. Elérhető: [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(96\)00480-3](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(96)00480-3).
- Hollands, W.J. és mtsai. (2017a) „Development, validation and evaluation of an analytical method for the determination of monomeric and oligomeric procyanidins in apple extracts”, *Journal of Chromatography A*, 1495, o. 46–56. Elérhető: <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2017.03.030>.
- Hollands, W.J. és mtsai. (2017b) „Development, validation and evaluation of an analytical method for the determination of monomeric and oligomeric procyanidins in apple extracts”, *Journal of Chromatography A*, 1495, o. 46–56. Elérhető: <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2017.03.030>.
- Katiyar, S.K., Pal, H.C. és Prasad, R. (2017) „Dietary proanthocyanidins prevent ultraviolet radiation-induced non-melanoma skin cancer through enhanced repair of damaged DNA-dependent activation of immune sensitivity”, *Seminars in Cancer Biology*, 46, o. 138–145. Elérhető: <https://doi.org/10.1016/j.semcancer.2017.04.003>.
- Kennedy, J.A. és Jones, G.P. (2001) „Analysis of Proanthocyanidin Cleavage Products Following Acid-Catalysis in the Presence of Excess Phloroglucinol”, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(4), o. 1740–1746. Elérhető: <https://doi.org/10.1021/jf001030o>.
- Khanbabaee, K. és van Ree, T. (2001) „Tannins: classification and definition”, *Natural Product Reports*, 18(6), o. 641–649. Elérhető: <https://doi.org/10.1039/b1010611>.
- Krenn, L. és mtsai. (2007) „Anthocyanin- and proanthocyanidin-rich extracts of berries in food supplements--analysis with problems”, *Die Pharmazie*, 62(11), o. 803–812.

- Lee, Y.A. és mtsai. (2007) „Inhibitory Activities of Proanthocyanidins from Persimmon against Oxidative Stress and Digestive Enzymes Related to Diabetes”, *Journal of Nutritional Science and Vitaminology*, 53(3), o. 287–292. Elérhető: <https://doi.org/10.3177/jnsv.53.287>.
- Li, Q. és mtsai. (2018) „Effects of oligomeric proanthocyanidins on quality of boar semen during liquid preservation at 17 °C”, *Animal Reproduction Science*, 198, o. 47–56. Elérhető: <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2018.08.047>.
- Liang, L. és mtsai. (2024) „Advances in Extraction Protocols, Degradation Methods, and Bioactivities of Proanthocyanidins”, *Molecules*, 29(10), o. 2179. Elérhető: <https://doi.org/10.3390/molecules29102179>.
- Libro, R. és mtsai. (2016) „Natural Phytochemicals in the Treatment and Prevention of Dementia: An Overview”, *Molecules*, 21(4), o. 518. Elérhető: <https://doi.org/10.3390/molecules21040518>.
- Liu, W. és mtsai. (2016) „Grape seed proanthocyanidin extract protects against perfluorooctanoic acid-induced hepatotoxicity by attenuating inflammatory response, oxidative stress and apoptosis in mice”, *Toxicology Research*, 5(1), o. 224–234. Elérhető: <https://doi.org/10.1039/c5tx00260e>.
- Loy, R. és mtsai. (2025) „The (poly)phenolic content and antioxidant capacity of apple varieties grown in or imported to Northern Ireland”, *European Food Research and Technology*, 251(7), o. 1743–1754. Elérhető: <https://doi.org/10.1007/s00217-025-04736-8>.
- Malec, M. és mtsai. (2014) „Polyphenol Profiling of a Red-Fleshed Apple Cultivar and Evaluation of the Color Extractability and Stability in the Juice”, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62(29), o. 6944–6954. Elérhető: <https://doi.org/10.1021/jf500336v>.
- Manach, C. és mtsai. (2005) „Bioavailability and bioefficacy of polyphenols in humans. I. Review of 97 bioavailability studies”, *The American Journal of Clinical Nutrition*, 81(1), o. 230S–242S. Elérhető: <https://doi.org/10.1093/ajcn/81.1.230S>.
- Mari, A. és mtsai. (2010) „Phenolic compound characterisation and antiproliferative activity of “Annurca” apple, a southern Italian cultivar”, *Food Chemistry*, 123(1), o. 157–164. Elérhető: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.04.023>.
- Masuda, I. és mtsai. (2018) „Apple procyanidins promote mitochondrial biogenesis and proteoglycan biosynthesis in chondrocytes”, *Scientific Reports*, 8, o. 7229. Elérhető: <https://doi.org/10.1038/s41598-018-25348-1>.
- Mikami, M. és Nomura, A. (2023) „Analysis of Functional Components Procyanidins in Apple Juice”.
- Minker, C. és mtsai. (2015) „Impact of Procyanidins from Different Berries on Caspase 8 Activation in Colon Cancer”, *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2015(1), o. 154164. Elérhető: <https://doi.org/10.1155/2015/154164>.

- Miura, T. és mtsai. (2008) „Apple procyanidins induce tumor cell apoptosis through mitochondrial pathway activation of caspase-3”, *Carcinogenesis*, 29(3), o. 585–593. Elérhető: <https://doi.org/10.1093/carcin/bgm198>.
- Molinar-Toribio, E. és mtsai. (2017) „Influence of omega-3 PUFAs on the metabolism of proanthocyanidins in rats”, *Food Research International*, 97, o. 133–140. Elérhető: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.03.046>.
- Nawrot-Hadzik, I. és mtsai. (2021) „Proanthocyanidins and Flavan-3-ols in the Prevention and Treatment of Periodontitis—Immunomodulatory Effects, Animal and Clinical Studies”, *Nutrients*, 13(1), o. 239. Elérhető: <https://doi.org/10.3390/nu13010239>.
- Nichols, J.A. és Katiyar, S.K. (2010) „Skin photoprotection by natural polyphenols: anti-inflammatory, antioxidant and DNA repair mechanisms”, *Archives of Dermatological Research*, 302(2), o. 71–83. Elérhető: <https://doi.org/10.1007/s00403-009-1001-3>.
- Nie, F. és mtsai. (2023) „Oligomeric Proanthocyanidins: An Updated Review of Their Natural Sources, Synthesis, and Potentials”, *Antioxidants*, 12(5), o. 1004. Elérhető: <https://doi.org/10.3390/antiox12051004>.
- Nkuimi Wandjou, J.G. és mtsai. (2020) „Comprehensive characterization of phytochemicals and biological activities of the Italian ancient apple ‘Mela Rosa dei Monti Sibillini’”, *Food Research International*, 137, o. 109422. Elérhető: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109422>.
- Ohta, Y. és mtsai. (2006) „Gene Expression Analysis of the Anti-obesity Effect by Apple Polyphenols in Rats Fed a High Fat Diet or a Normal Diet”, *Journal of Oleo Science*, 55(6), o. 305–314. Elérhető: <https://doi.org/10.5650/jos.55.305>.
- Onikanni, A.S. és mtsai. (2021) „Sterculia tragacantha Lindl Leaf Extract Ameliorates STZ-Induced Diabetes, Oxidative Stress, Inflammation and Neuronal Impairment”, *Journal of Inflammation Research*, 14, o. 6749–6764. Elérhető: <https://doi.org/10.2147/JIR.S319673>.
- Payne, M.J. és mtsai. (2010) „Determination of Total Procyanidins in Selected Chocolate and Confectionery Products Using DMAC”, *Journal of AOAC INTERNATIONAL*, 93(1), o. 89–96. Elérhető: <https://doi.org/10.1093/jaoac/93.1.89>.
- Qaed, E. és mtsai. (2023) „Procyanidins: A promising anti-diabetic agent with potential benefits on glucose metabolism and diabetes complications”, *Wound Repair and Regeneration*, 31(5), o. 688–699. Elérhető: <https://doi.org/10.1111/wrr.13115>.
- Rauf, A. és mtsai. (2019) „Proanthocyanidins: A comprehensive review”, *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 116, o. 108999. Elérhető: <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2019.108999>.
- Renard, C.M.G.C., Dupont, N. és Guillermin, P. (2007) „Concentrations and characteristics of procyanidins and other phenolics in apples during fruit growth”, *Phytochemistry*, 68(8), o. 1128–1138. Elérhető: <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2007.02.012>.
- Rue, E.A., Rush, M.D. és van Breemen, R.B. (2018) „Procyanidins: a comprehensive review encompassing structure elucidation via mass spectrometry”, *Phytochemistry reviews* :

- proceedings of the Phytochemical Society of Europe*, 17(1), o. 1–16. Elérhető: <https://doi.org/10.1007/s11101-017-9507-3>.
- Scalbert, A. és mtsai. (2002) „Absorption and metabolism of polyphenols in the gut and impact on health”, *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 56(6), o. 276–282. Elérhető: [https://doi.org/10.1016/S0753-3322\(02\)00205-6](https://doi.org/10.1016/S0753-3322(02)00205-6).
- Sheikh, Y. és mtsai. (2019) „Procyanidin A2, an anti-diabetic condensed tannin extracted from *Wendlandia glabrata*, reduces elevated G-6-Pase and mRNA levels in diabetic mice and increases glucose uptake in CC1 hepatocytes and C1C12 myoblast cells”, *RSC advances*, 9(30), o. 17211–17219. Elérhető: <https://doi.org/10.1039/c9ra02397f>.
- Shi, L., Wang, J. és Lv, Y. (2021) „Research progress on analysis methods of procyanidins”, *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 705(1), o. 012006. Elérhető: <https://doi.org/10.1088/1755-1315/705/1/012006>.
- Shoji, T. és mtsai. (2006) „Apple procyanidin oligomers absorption in rats after oral administration: analysis of procyanidins in plasma using the porter method and high-performance liquid chromatography/tandem mass spectrometry”, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(3), o. 884–892. Elérhető: <https://doi.org/10.1021/jf052260b>.
- Soleimani, M. és Masoumi, N. (2017) *The Effect of Grape Seed Extract on Semen Oxidative Stress Markers in Men with Idiopathic Infertility: A Cross-Sectional Before-After Study*. Research Article 9. *Nephro-Urology Monthly*, o. e61966. Elérhető: <https://brieflands.com/articles/num-13837#abstract> (Elérés: 2025. augusztus 26.).
- Sosa, V. és mtsai. (2013) „Oxidative stress and cancer: An overview”, *Ageing Research Reviews*, 12(1), o. 376–390. Elérhető: <https://doi.org/10.1016/j.arr.2012.10.004>.
- Sun, L. és mtsai. (2013) „Simultaneous separation and purification of total polyphenols, chlorogenic acid and phlorizin from thinned young apples”, *Food Chemistry*, 136(2), o. 1022–1029. Elérhető: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.09.036>.
- Sung, N.-Y. és mtsai. (2013) „The procyanidin trimer C1 induces macrophage activation via NF- κ B and MAPK pathways, leading to Th1 polarization in murine splenocytes”, *European Journal of Pharmacology*, 714(1), o. 218–228. Elérhető: <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2013.02.059>.
- Suriano, S. és mtsai. (2015) „Maceration with stems contact fermentation: Effect on proanthocyanidins compounds and color in Primitivo red wines”, *Food Chemistry*, 177, o. 382–389. Elérhető: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.01.063>.
- Tian, Y. és mtsai. (2019) „Procyanidin B2 Activates PPAR γ to Induce M2 Polarization in Mouse Macrophages”, *Frontiers in Immunology*, 10, o. 1895. Elérhető: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.01895>.
- Tie, F. és mtsai. (2020) „Proanthocyanidins Ameliorated Deficits of Lipid Metabolism in Type 2 Diabetes Mellitus Via Inhibiting Adipogenesis and Improving Mitochondrial Function”, *International Journal of Molecular Sciences*, 21(6), o. 2029. Elérhető: <https://doi.org/10.3390/ijms21062029>.

- Tie, S. és mtsai. (2021) „pH-Responsive Core–Shell Microparticles Prepared by a Microfluidic Chip for the Encapsulation and Controlled Release of Procyanidins”, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 69(5), o. 1466–1477. Elérhető: <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.0c04895>.
- Tie, S. és mtsai. (2025) „Enhancing stability, bioavailability and nutritional intervention effect of procyanidins using bio-based delivery systems: A review”, *International Journal of Biological Macromolecules*, 287, o. 138517. Elérhető: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2024.138517>.
- Touriño, S. és mtsai. (2011) „Metabolites in Contact with the Rat Digestive Tract after Ingestion of a Phenolic-Rich Dietary Fiber Matrix”, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(11), o. 5955–5963. Elérhető: <https://doi.org/10.1021/jf200159f>.
- Vauzour, D. (2014) „Effect of flavonoids on learning, memory and neurocognitive performance: relevance and potential implications for Alzheimer’s disease pathophysiology”, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 94(6), o. 1042–1056. Elérhető: <https://doi.org/10.1002/jsfa.6473>.
- Vinson, J.A. és mtsai. (2001) „Phenol antioxidant quantity and quality in foods: fruits”, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(11), o. 5315–5321. Elérhető: <https://doi.org/10.1021/jf0009293>.
- Waters Gradient Chromatography Calculator* (évszám nélkül). Elérhető: https://www.waters.com/webassets/other/lp/prep_calc/AnalyticaltoPrep/NewPrepcalculator.htm?srltid=AfmBOoqfmcBMBelVDW_5nnuj-mdlytphodLs_kJSrOKdW_Pvv6LZbJqB (Elérés: 2025. november 3.).
- Weinert, C.H. és mtsai. (2012) „Methylation of Catechins and Procyanidins by Rat and Human Catechol-O-Methyltransferase: Metabolite Profiling and Molecular Modeling Studies”, *Drug Metabolism and Disposition*, 40(2), o. 353–359. Elérhető: <https://doi.org/10.1124/dmd.111.041871>.
- Wu, L. és mtsai. (2019) „HPLC-ESI-qTOF-MS/MS Characterization, Antioxidant Activities and Inhibitory Ability of Digestive Enzymes with Molecular Docking Analysis of Various Parts of Raspberry (*Rubus ideaus* L.)”, *Antioxidants*, 8(8), o. 274. Elérhető: <https://doi.org/10.3390/antiox8080274>.
- Xu, Z. és mtsai. (2015) „Comparison of the degradation kinetics of A-type and B-type proanthocyanidins dimers as a function of pH and temperature”, *European Food Research and Technology*, 240(4), o. 707–717. Elérhető: <https://doi.org/10.1007/s00217-014-2375-9>.
- Yang, K. és mtsai. (2015) „Hydrolysis enhances bioavailability of proanthocyanidin-derived metabolites and improves β -cell function in glucose intolerant rats”, *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 26(8), o. 850–859. Elérhető: <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2015.03.002>.
- Yang, L. és mtsai. (2018) „Proanthocyanidins against Oxidative Stress: From Molecular Mechanisms to Clinical Applications”, *BioMed Research International*, 2018(1), o. 8584136. Elérhető: <https://doi.org/10.1155/2018/8584136>.

- Yu, X. és mtsai. (2023) „Characterisation and quantification of condensed tannins in rapeseed hulls and meals by depolymerization methods”, *Journal of Food Composition and Analysis*, 115, o. 105004. Elérhető: <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2022.105004>.
- Zhang, L. és mtsai. (2023) „A spectroscopic and quantum chemical calculation method for the characterisation of metal ions complexed with propyl gallate and procyanidins”, *Scientific Reports*, 13(1), o. 2977. Elérhető: <https://doi.org/10.1038/s41598-023-30186-x>.

DIPLOMADOLGOZAT

Internetes hivatkozások

Internet 1. [Structural-backbones-of-flavonoid-iso-flavonoid-neo-flavonoid.tif \(850×263\)](#)

DIPLOMADOLGOZAT

9. TÁBLÁZATOK ÉS ÁBRÁK JEGYZÉKE

1. **ábra:** Az almában található főbb polifenolok (saját ábra)
2. **ábra:** A flavonoid-alapváz és a legfontosabb flavonoid alosztályok alapvázai (Abrankó, 2018)
3. **ábra:** Flavonoid, Izoflavonoid és Neoflavonoid váz felépítése (Internet 1.)
4. **ábra:** A proantocianidin alcsoportok egy része (Aron és Kennedy, 2008)
5. **ábra:** Flaván-3-ol monomerek példái (Aron és Kennedy, 2008)
6. **ábra:** Az A- és B-típusú oligomer proantocianidinek általános molekuláris szerkezete: (a) procianidin B2, (b) procianidin B5, (c) procianidin A1 (Nie és mtsai., 2023)
7. **ábra:** A diabetes mellitus és szövődényeinek molekuláris patogenezeise (Qaed és mtsai., 2023)
8. **ábra:** A procianidinek antidiabetikus és cukorbetegség szövődényei elleni hatásmechanizmusának sematikus ábrája (Qaed és mtsai., 2023)
9. **ábra:** Teljes gabonafélék lehetséges mechanizmusai a hiperglikémia megelőzésében és a procianidinek gátló hatása az α -amiláz enzim aktivitására (Gong és mtsai., 2020).
10. **ábra:** Procianidinek tiolízises reakciója (Shi, Wang és Lv, 2021)
11. **ábra:** Kiindulási szárított almatörköly (saját ábra)
12. **ábra:** Szárított almatörkölyből, 6:4 (v/v) aceton:víz elegyrel extrahált, majd liofilezett polifenol extraktum
13. **ábra:** Genesys 10S UV-VIS spektrofotométer (Thermo Fisher Scientific, Waltham, Massachusetts, USA) (saját ábra)
14. **ábra:** Weltan Q és (+)-katechin kalibrációs görbe (saját ábra)
15. **ábra:** Addicionált ultrahangos kivonással előkészített alma polifenol extraktum kromatogramja 280 nm-en vizsgálva Malec és munkatársai által leírt módszer (Malec és mtsai., 2014) szerint (saját ábra)
16. **ábra:** Ultrahangos kivonással előkészített alma polifenol extraktum kromatogramja 280 nm-en vizsgálva Malec és munkatársai által leírt módszer (Malec és mtsai., 2014) szerint (saját ábra)
17. **ábra:** Floroglucinolízissel derivatizált alma polifenol extraktum kromatogramja 280 nm-en vizsgálva Malec és munkatársai által leírt módszer (Malec és mtsai., 2014) szerint (saját ábra)
18. **ábra:** Floroglucinolízissel derivatizált alma polifenol extraktum kromatogramja 280 nm-en vizsgálva Malec és munkatársai által leírt módszer (Malec és mtsai., 2014) szerint (saját ábra)

- 19. ábra:** Floroglucinolízis reakciója (Yu és mtsai., 2023)
- 20. ábra:** Módszertranszferáló szoftver (Waters)
- 21. ábra:** Alma polifenol extraktum kromatogramja 280 nm-en rövidített első módszer variációval vizsgálva (saját ábra)
- 22. ábra:** Floroglucinolízissel derivatizált alma polifenol extraktum kromatogramja 280 nm-en rövidített első módszer variációval vizsgálva (saját ábra)
- 23. ábra:** Floroglucinolízissel derivatizált procianidin B2 standard kromatogramja 280 nm-en végső módszerrel vizsgálva (saját ábra)
- 24. ábra:** Alma polifenol extraktum kromatogramja 280 nm-en a végső módszer variációval vizsgálva (saját ábra)
- 25. ábra:** Floroglucinolízissel derivatizált alma polifenol extraktum kromatogramja 280 nm-en végső módszer variációval vizsgálva (saját ábra)
- 26. ábra:** (-)-epikatechin kalibráció és a kalibrációs pontok reziduálisainak eloszlása (saját ábra)

- 1. táblázat:** Polifenolok osztályozása
- 2. táblázat:** (-)-epikatechin kalibrációs oldatsor
- 3. táblázat:** gradiens elúció
- 4. táblázat:** gradiens elúció
- 5. táblázat:** gradiens elúció
- 6. táblázat:** Retenciós faktorok, moláris abszorpciós értékek és válaszfaktorok értéke a különböző procianidinekre szőlő kivonatból (Kennedy és Jones, 2001)
- 7. táblázat:** Polifenol extraktum procianidin tartalma
- 8. táblázat:** Derivatizált polifenol extraktum procianidin tartalma
- 9. táblázat:** Visszanyerés vizsgálat
- 10. táblázat:** Retenciós idők
- 11. táblázat:** Linearitás vizsgálat (-)-epikatechinre

10. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Ezúton szeretném kifejezni őszinte köszönetemet mindazoknak, akik a munkámmal kapcsolatban támogatással, szakmai iránymutatással és bátorítással hozzájárultak a diplomamunkám elkészítéséhez.

Köszönöm témavezetőmnek, aki szakértelmével és útmutatásával segítette kutatási munkámat. Az általa nyújtott szakmai tanácsok, iránymutatások és konstruktív javaslatok nélkül ez a dolgozat nem valósulhatott volna meg ilyen formában.

Köszönöm a támogató és inspiráló egyetemi környezetet, amely lehetőséget biztosított a módszerfejlesztéshez és az analitikai vizsgálatok elvégzéséhez.

Külön szeretném megköszönni páromnak a folyamatos támogatást, türelmet és biztatást, amelyet a dolgozat készítése alatt mutatott felém. Az ő megértése, motivációja és lelki támogatása nélkül a munka befejezése sokkal nehezebb lett volna.

Köszönöm mindenkinek, aki hozzájárult ahhoz, hogy ez a kutatás megvalósulhasson.

MATE Szervezeti és Működési Szabályzat

III. Hallgatói Követelményrendszer

III.1. Tanulmányi és Vizsgaszabályzat

6.13. sz. függeléke: A MATE egységes szakdolgozat / diplomadolgozat / záródolgozat / portfólió készítési útmutatója

4.2. sz. melléklete: Nyilatkozat a záródolgozat/szakdolgozat/diplomadolgozat/portfólió nyilvános hozzáféréséről és eredetiségéről (módosítva: 2025. október 16.)

NYILATKOZAT

a záródolgozat/szakdolgozat/diplomadolgozat/portfólió¹ nyilvános hozzáféréséről és eredetiségéről

A hallgató neve: FABIAN GÁBOR JÁNOS
A Hallgató Neptun kódja: GBATYY
A dolgozat címe: Almatörkölyből nyert polimer prociamidinek analitikai vizsgálata - módszerfejlesztés és alkalmazás
A megjelenés éve: 2025
A konzulens intézetének neve: Élelmiszer tudományi és technológiai intézet
A konzulens tanszékének a neve: Élelmiszervelemzés és analitika tanszék

Kijelentem, hogy az általam benyújtott záródolgozat/szakdolgozat/diplomadolgozat/portfólió² egyéni, eredeti jellegű, saját szellemi alkotásom. Azon részeket, melyeket más szerzők munkájából vettem át, egyértelműen megjelöltem, és az irodalomjegyzékben szerepeltettem. Továbbá kijelentem, hogy a dolgozat elkészítése során alkalmazott mesterséges intelligencia-eszközök (pl. szöveggenerálás, nyelvi javítás, fordítás, adatelemzés) használata nem helyettesítette a saját kutatási és alkotói munkámat, azok alkalmazását a források között vagy a módszertani részben feltüntettem, és a szakmai-etikai elvárásoknak megfelelően jártam el.

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

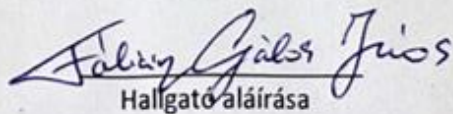
A leadott dolgozat, mely PDF dokumentum, szerkesztését nem, megtekintését és nyomtatását engedélyezem.

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: 2025 év november hó 03 nap


Hallgató aláírása

¹ A megfelelő dolgozattípus meghagyása mellett a többi típus törlendő.

² A megfelelő dolgozattípus meghagyása mellett a többi típus törlendő.

MATE Szervezeti és Működési Szabályzat

III. Hallgatói Követelményrendszer

III.1. Tanulmányi és Vizsgaszabályzat

6.13. sz. függeléke: A MATE egységes szakdolgozat /
diplomadolgozat / záródolgozat / portfólió készítési útmutatója

4.1. sz. melléklete: Konzulensi nyilatkozat

NYILATKOZAT

FABIÁN GÁBOR JAVOS (név) (hallgató Neptun azonosítója: GBATYY)
konzulenseként nyilatkozom arról, hogy a
záródolgozatot/szakdolgozatot/diplomadolgozatot/portfóliót¹ 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 javaslom².

A dolgozat állam- vagy szolgálati titkot tartalmaz: igen nem^{*3}

Kelt: 2025 év November hó 03 nap



belső konzulens

¹ A megfelelő dolgozattípus meghagyása mellett a többi típus törlendő.

² A megfelelő aláhúzendő.

³ A megfelelő aláhúzendő.

Hallgatók, doktoranduszok nyilatkozata mesterséges intelligencia (MI) alkalmazásáról

1. Általános adatok

Hallgató neve:	Fábián Gábor János
Neptun-kódja:	GBATYY
Képzési szint (a megfelelőt jelölje X-szel):	<input type="checkbox"/> BSc/BA <input checked="" type="checkbox"/> <u>MSc/MA</u> <input type="checkbox"/> Doktori (PhD) <input type="checkbox"/> Egyéb:
Tantárgy neve/kódja*:	
A munka címe:	Almatörkölyből nyert polimer procianidinek analitikai vizsgálata – módszerfejlesztés és alkalmazás

* doktori értekezés esetén nem kitöltendő

2. Nyilatkozat az MI használatáról

Alulírott, etikai felelősségem teljes tudatában az alábbi nyilatkozatot teszem:

(Kérjük, válasszon egyet az alábbi lehetőségek közül!)

A) Nem alkalmaztam mesterséges intelligencia rendszert vagy szolgáltatást.

(Amennyiben ezt jelölte, a további táblázatok kitöltése nem szükséges.)

B) Alkalmaztam mesterséges intelligencia rendszert vagy szolgáltatást.

(Kérjük, töltsse ki a vonatkozó táblázatokat!)

3. A mesterséges intelligencia használatának részletezése

I. TÁBLÁZAT: Asszisztensi vagy kisebb mértékű felhasználás (pl. fordítás, nyelvi korrektúra, ötletelés stb.)

(Ezen felhasználások esetében a konkrét promptok és válaszok csatolása nem szükséges.)

A felhasználás célja	Alkalmazott MI-eszköz neve és verziója	Érintett rész (ha nem a szöveg egészére vonatkozik)
fordítás	ChatGPT 4.5	irodalmi rész

II. TÁBLÁZAT: Jelentős tartalmi hozzájárulás (pl. egy teljes ábra vagy egy hosszabb szövegrész generálása)

(Ezekben az esetekben a felhasznált kulcsfontosságú promptok és az MI által adott nyers válaszok dokumentálása és a munka mellékletében való csatolása szükséges.)

A felhasználás célja	Alkalmazott eszköz verziója, elérhetősége	MI-neve,	Az érintett fejezet / ábra / táblázat pontos sorszáma	A prompt-naplót tartalmazó melléklet bejegyzésének sorszáma
—	—	—	—	—

3/A. Oktató által előírt kiegészítő szabályok (ha vannak)

Amennyiben az adott tantárgy oktatója vagy témavezetője az MI-eszközök használatára vonatkozóan külön szabályokat vagy elvárásokat határozott meg, kérjük, az alábbi mezőben foglalja össze ezeket:


Pl. az MI használatának tilalma bizonyos feladattípusokra; csak konkrét eszköz használata engedélyezett; eltérő hivatkozási elvárások; dokumentációs forma stb.

Oktató vagy témavezető által előírt szabályok:

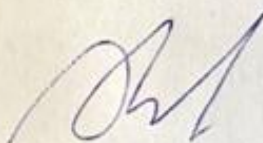
4. Minden hallgatóra vonatkozó nyilatkozat:

Kijelentem, hogy az MI által esetlegesen generált tartalmakat minden esetben kritikailag felülvizsgáltam, szerkesztettem és a munkába illesztettem. A leadott munka minden eleméért, annak eredetiségéért és tudományos helytállóságáért teljes körű felelősséget vállalok. Tudomásul veszem, hogy a Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem a benyújtott munkát mesterséges intelligencia detektorral ellenőrizheti, és eljárást kezdeményezhet, amennyiben a nyilatkozatom valótlan vagy hiányos.

Kelt: Budapest, 2025. 11. 04.



Hallgató aláírása



Dr. Abrankó László

Konzulens/Témavezető aláírása