# SZAKDOLGOZAT

Gálfalvy Nóra szakdolgozat

Gálfalvy Nóra

2023

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

# Gyümölcsminták endogén komponenseinek klasszikus és FT-NIR vizsgálata

Gálfalvy Nóra

Budapest

2023

Gálfalvy Nóra szakdolgozat

M1. melléklet

***Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem***
***Élelmiszertudományi és Technológiai Intézet***

**Szak neve: BSc Biomérnöki**
**Modul neve:** Alkalmazott biotechnológia
**Modul szerinti tanszék:** Biomérnök és Erjedésipari Technológia Tanszék

**Szakdolgozat készítés helye**: Élelmiszerkémia és Analitika Tanszék

Hallgató: Gálfalvy Nóra

A szakdolgozat címe: Gyümölcsminták endogén komponenseinek klasszikus és FT-NIR vizsgálata

Konzulens: Dr. Fodor Marietta
Külső konzulens esetén tanszéki felelős:

Beadás dátuma: 2023.május 2.

szakdolgozat készítés helyének vezetője
Dr. Abrankó László

konzulens
Dr. Fodor Marietta

modul szerinti tanszék vezetője
Dr. Nguyen Duc Quang

# TARTALOMJEGYZÉK

1. BEVEZETÉS ..... 3

2. CÉLKITŰZÉS ..... 4

3. IRODALMI ÁTTEKINTÉS ..... 5

3.1. A vizsgált gyümölcsök jelentősége ..... 5

3.1.1. Gránátalma ..... 5

3.1.2. Vörös szőlő ..... 5

3.1.3. Tőzegáfonya ..... 5

3.2. Szabadgyökök, oxidatív stressz ..... 6

3.3. Antioxidáns hatás ..... 6

3.3.1. Elsődleges enzimatikus rendszer ..... 7

3.3.2. Nem enzimatikus rendszer ..... 7

3.3.2.1. Fenolos vegyületek ..... 8

3.3.2.2.Polifenolok ..... 8

3.3.2.3. Karotinoidok és A-vitamin ..... 10

3.3.2.4. C-vitamin ..... 11

3.3.2.5. E-vitamin ..... 12

3.3.2.6. Ásványi anyagok ..... 13

3.4. Antioxidáns kapacitás és antocianin tartalom meghatározási módszerek ..... 13

3.4.1. Antioxidáns kapacitás meghatározási lehetőségei ..... 13

3.4.2. Antocianin tartalom meghatározás lehetőségei ..... 14

3.5. Infravörös spektroszkópia (FT-NIR) ..... 14

4. ANYAG ÉS MÓDSZER ..... 20

4.1. Vizsgált minták ..... 20

4.2. Vizsgálati módszerek ..... 21

4.2.1. Mintaelőkészítés biokémiai mérésekhez ..... 21

Gálfalvy Nóra szakdolgozat

4.2.2. TPC (Total Polyphenol Content) módszer ..... 21
4.2.3. FRAP (Ferric Reducing Ability of Plasma) módszer ..... 22
4.2.4. Antocianin tartalom differenciális pH mérés alapján ..... 22
4.2.5. FT-NIR spektrumok felvétele ..... 24
5. EREDMÉNYEK ÉS KIÉRTÉKELÉSÜK ..... 25
5.1. TPC (Total Polyphenol Content) módszer ..... 25
5.2. FRAP (Ferric Reducing Ability of Plasma) módszer ..... 27
5.3. Antocianin tartalom differenciális pH mérés alapján ..... 29
5.4. FT-NIR spektrumok kiértékelése ..... 30
6. ÖSSZEFOGLALÁS ..... 32
IRODALOMJEGYZÉK ..... 33
ÁBRAJEGYZÉK ..... 36
TÁBLÁZATOK ..... 37
KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS ..... 40

Gálfalvy Nóra szakdolgozat

# 1. BEVEZETÉS

Napjainkban a népesség jelentős része egy az oxidatív stresszel összefüggésben álló betegségek valamelyikében szenved. Ezen betegségek közé sorolható többek között az elhízás, szív-és érrendszeri betegségek és a kettes típusú cukorbetegség (diabétesz) is. Túlnyomó többségük kialakulásának oka a helytelen táplálkozási szokások, vagy az egészséges táplálkozás alapjainak ismereti hiánya.

Az egészséges és tudatos táplálkozás egyre nagyobb népszerűségnek örvend, egyre szélesebb körben terjed a diéták és étrendkiegészítő készítményekre való igény, ennek okán számtalan táplálékkiegészítő termékeket forgalmazó cég jelent meg a piacon az elmúlt pár évben. A táplálékkiegészítők használata nagyban hozzájárul a napi vitamin-, ásványianyag- és makrótápanyag szükséglet kielégítéséhez, hiszen előnyös tulajdonságuk, hogy kis mennyiségben való fogyasztásukkal is jelentősen nagyobb mennyiségű kívánt tápanyagot vehetünk magunkhoz. Fontos megjegyezni azonban, hogy ezen termékek fogyasztása közel sem helyettesíti a kiegyensúlyozott, egészséges étrendet.

Sajnálatos tény, hogy az emberek többsége a napi ajánlott zöldség-és gyümölcsbevitel töredékét sem képes megszokott táplálkozási szokásait követve fedezni, pedig köztudott, hogy helyes táplálkozási rutin mellett a frissen elfogyasztott zöldségek és gyümölcsök alkalmasak lehetnének ezen szükséges tápanyagok fedezésére. A magas antioxidáns tartalmú gyümölcsök kiemelten fontos részét képezik egy megfelelően kialakított, egészséges étrendnek, fogyasztásukkal a szabadgyökök káros aktivitása, ezáltal a sejtekre káros hatást gyakorló oxidatív stressz kialakulása is megelőzhető.

Szakdolgozatom keretein belül liofilizált gyümölcsporok endogén komponenseit vizsgáltam.

Gálfalvy Nóra szakdolgozat

# 2. CÉLKITŰZÉS

Kereskedelmi forgalomban kapható, liofilizált gyümölcsporok klasszikus és műszeres vizsgálatával foglalkoztam.

Ezek a minták olyan gyümölcsökből készültek (vörös szőlő, tőzegáfonya, gránátalma), amelyek magas antocianin tartalommal jellemezhetők.

Munkám során a következő feladatok elvégzését tűztem ki célul:

- liofilizált minták összes polifenol tartalmának meghatározása TPC módszerrel
- liofilizált minták antioxidáns kapacitásának meghatározása FRAP módszerrel
- liofilizált minták összes antocianin koncentrációjának meghatározása differenciális pH mérés módszerrel
- a minták FT-NIR spektrumainak felvétele
- A spektrumok minőségi kiértékelése

.

Gálfalvy Nóra szakdolgozat

# 3. IRODALMI ÁTTEKINTÉS

## 3.1. A vizsgált gyümölcsök jelentősége

### 3.1.1. Gránátalma

A gránátalma (*Punica granatum L.)* számos jótékony egészségügyi hatással rendelkezik. Segíthet megelőzni vagy kezelni különböző betegségek kockázati tényezőit, beleértve a magas vérnyomást, magas koleszterinszintet, oxidatív stresszt, hiperglikémiát és gyulladásos folyamatokat. Flavonoidokban, antociánokban, punicinsavban, elagitanninokban, alkaloidokban, fruktózban, szacharózban glükózban és egyszerű szerves savakban gazdag gyümölcs. Bizonyított, hogy a gránátalma egyes összetevői, többek között a polifenolok potenciális antioxidáns hatásmechanizmusú, gyulladáscsökkentő és antikarcinogén hatással rendelkeznek. Ezen kívül javítják a sebgyógyulást és jótékony hatást gyakorolnak a reproduktív rendszerre. (Zarfeshany et al., 2014)

### 3.1.2. Vörös szőlő

A szőlő (*Vitis vinifera L.*) az egyik legnépszerűbb gyümölcsnek számít világszerte. Számos bioaktív vegyületet tartalmaz, többek között proantocianidint, antocianint, flavonolokat, fenolsavakat és sztilbéneket, mely komponensek mennyisége jelentősen eltérő lehet a gyümölcs magjában, héjában, valamint húsában. Fogyasztása számos egészségügyi előnnyel jár, antioxiáns-, gyulladáscsökkentő-, bél mikrobióta moduláló-, antikarcinogén és kardioprotektív hatással rendelkezik. (Zhou et al., 2022)

### 3.1.3. Tőzegáfonya

Mind az európai (*Vaccinium oxycoccus*), mind az amerikai (*Vaccinium macrocarpon*) áfonyafajok fenolsavakban, antociánokban és flavonoidokban gazdagok, ezek mellett jelentős proantocianidin tartalommal rendelkeznek. Vízben és zsírokban oldódó vitaminok széles skáláját tartalmazzák, antioxidáns hatású komponenseik C-, E- és K-vitaminban forrásokból származnak. A tőzegáfonya fogyasztásával megelőzhető a fogszuvasodás és az egyéb ínybetegségek, gátolja a húgyúti fertőzések kialakulását, gyulladáscsökkentő hatású, támogatja az emésztőrendszer egészségét és csökkenti a koleszterinszintet. (Nemzer et al., 2022)

Gálfalvy Nóra szakdolgozat

## 3.2. Szabadgyökök, oxidatív stressz

Az oxigén a sejtek életképességének és anyagcseréjének fenntartásához szükséges hajtóerőt képviseli, ugyanakkor paramágneses tulajdonságai miatt potenciális veszélyt is jelenthet. Ezen tulajdonságai elősegítik a nagy reakcióképességű részben oxidált intermedierek képződését, mely vegyületeket reaktív oxigénfajoknak (ROS) neveznek. A ROS-ok szabadgyökök vagy gyök-előanyagok. (Adwas et al., 2019)

A szabadgyökök olyan molekulák, melyek külső héjukon párosítatlan elektronokat hordoznak, emiatt a szervezetben erősen reaktívak. A szabadgyökök keletkezése a testünk sejtjeiben természetesen lejátszódó oxidációs folyamatok következménye. Termelődésüket általában exogén tényezők váltják ki, ilyen például az ultraibolya sugarak hatása, egy betegség lefolyása, kémiai mérgezés vagy akár szennyező anyagok, adalékanyagok és peszticidek jelenléte az élelmiszerekben. Sok gyógyszer toxicitása is a szabadgyökökké való átalakulásuknak vagy a szabadgyökök termelődésére gyakorolt hatásuknak köszönhető. (Adwas et al., 2019)

A szervezetben lejátszódó gyulladásos folyamatok olyan endogén tényezőknek köszönhetők, amelyek elősegítik a szabadgyökök keletkezését és jelenlétét a szervezetben. Az immunrendszer sejtjeiben jelen levő szabadgyökök feladata, a patogén mikroorganizmusok elpusztítása. (Adwas et al., 2019)

## 3.3. Antioxidáns hatás

Az oxigéndús környezetben élő biológiai rendszerek fiziológiai és biokémiai védekezési mechanizmusokat fejlesztettek ki a szabadgyökök, így az oxidatív stressz ellen. Biokémiai tekintetben ez a védekező mechanizmus az antioxidáns hatás, amely az oxidatív stressz következtében károsodást szenvedett molekulák védelmét, javítását végzi. Az antioxidáns védelem lehet enzimatikus vagy nem enzimatikus. (Santos-Sánchez et al., 2019)

Egy antioxidáns rendszer legfőbb jellemzője az oxidatív lánc terjedésének gátlása és felderítése, így segítve az emberi szervezetben keletkező oxidatív károsodások mértékének csökkentését. Az antioxidánsoknak két fő típusa az elsődleges (láncreakciót megszakító) és másodlagos (megelőző) antioxidánsok. A másodlagos antioxidáns mechanizmusok közé tartozhat a fémek deaktiválása, a lipid-hidroperoxidok inhibíciója, a nemkívánatos illékony anyagok termelésének megszakítása által, az elsődleges antioxidánsok regenerálása és a szingulett oxigén eliminációja. (Santos-Sánchez et al., 2019)

Galfalvy Nóra szakdolgozat

### 3.3.1. Elsődleges enzimatikus rendszer

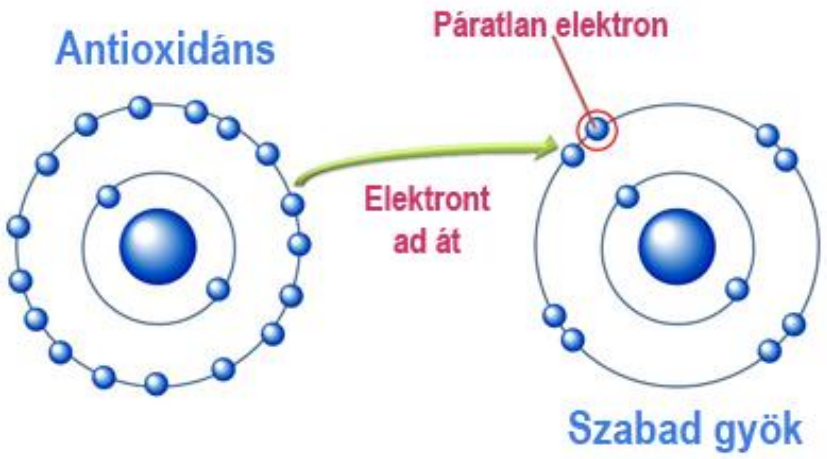
Az aerob szervezetek olyan antioxidáns enzimeket fejlesztettek ki, mint a szuperoxid-diszmutáz (SOD), kataláz (CAT), glutation-peroxidáz (GPx) és a DT-diaforáz. (detoxifikációt végző diaforáz enzim). (Santos-Sánchez et al., 2019)

A szuperoxid-diszmutáz felelős az $O_2 \rightarrow H_2O_2$ átalakulásért, amely a továbbiakban a kataláz vagy a GPx által katalizát reakcióban vízzé, majd oxigénné alakul. A szuperoxid-diszmutáz a sejt legfontosabb és legerősebb méregtelenítő enzimje. Metalloenzim, így aktivitásához egy fém kofaktorra van szüksége. A kataláz kofaktora a mangán, katalizálja a hidrogén-peroxid lebontását vagy redukcióját víz és molekuláris oxigén előállítására, így fejezve be a szuperoxid-diszmutáz által megkezdett méregtelenítési folyamatot. Kataláz legfőképp a peroxiszómákban van jelen, legfőbb szerepe a hidrogén-peroxid eltávolítása. A GPx egy fontos intracelluláris enzim, amely a hidrogén-peroxidot vízre, a lipid-peroxidokat pedig a megfelelő alkoholokra bontja. Ez a folyamat főként a mitokondriumban zajlik, a citoszolban ritka. A GPx kofaktora a szelén. Az emberi testben legalább nyolc féle GPx enzim létezik, ezek a GPx1-GPx8, közülük a GPx1 fordul elő legnagyobb mennyiségben, gyakorlatilag minden sejtben jelen van. Az enzim fontos szerepet tölt be a lipid-peroxidáció folyamatának gátlásában, ezzel védve a sejteket az oxidatív stressztől. Az alacsony GPx-aktivitás a funkcionális fehérjék és a sejtmembrán zsírsavainak oxidatív károsodását eredményezi. Mindezek mellett a GPx, különösen a GPx1 kiemelt szerepet tölt be a daganatos betegségek és a szív- és érrendszeri betegségek kialakulásának megelőzésében. A DT-diaforáz katalizálja a kinon redukcióját kinollá és részt vesz a kinon szerkezetű gyógyszerek redukciójában, termelődése a sejtekben a DNS által szabályozott. (Santos-Sánchez et al., 2019)

### 3.3.2. Nem enzimatikus rendszer

Ebbe a rendszerbe tartozó antioxidánsok jellemzője, hogy semlegesítik vagy elektronátadással csapdába ejtik a szabadgyököket a gyökképződési reakció megakadályozása érdekében. A folyamat során maga az antioxidáns is szabadgyökké válik, de sokkal kevésbé reaktív, mint egy valódi szabadgyök. A sejteket több antioxidáns védi, például C-vitamin, E-vitamin, karotinoidok, Q koenzim, ferritin, flavonoidok, szelén, mangán, cink, melatonin, taurin és cisztein. Az élelmiszerekből kivont egyes flavonoidok direkt kölcsönhatásba lépnek a szabadgyökökkel és stabil komplexeket, valamint kevésbé reaktív komplexeket hoznak létre. Más élelmiszerekben a flavonidok egyes enzimek katalitikus működésében társ-szubsztrát funkciót töltenek be (1. ábra). (Santos-Sánchez et al., 2019)

Gaffalvy Nóra szakdolgozat




*1. ábra: Elektronátadás antioxidánsról szabadgyökre (Vízmegoldás)*

### 3.3.2.1. Fenolos vegyületek

A fenolos vegyületek változatos kémiai szerkezetű és biológiai aktivitású vegyületek. Több, mint 8000 különböző vegyületet foglalnak magukban, ezen vegyületek az emberi és állati táplálkozás jelentős részét képezik. Fontos szerepet töltenek be a növények jelátviteli és védelmi mechanizmusában, hatástalanítják a patogének és ragadozó szervezetek által okozott stresszt. Funkciójuk a növényekben igen sokrétű. Képesek hidrogén donorként funkcionálni, továbbá képesek fémionok (vas és réz) kelátképzésére az alacsony sűrűségű lipoproteinek (LDL) oxidációjának gátlása által. A fenolos vegyületek tulajdonságai párhuzamba állíthatók a neurodegeneratív betegségek, például szív- és érrendszeri betegségek, gyomor-bélrendszeri daganatok, vastagbél-, emlő, és petefészekdaganat és leukémia kockázatának csökkentésével, valamint antiallergén hatással is rendelkeznek. (Santos-Sánchez et al., 2019)

### 3.3.2.2.Polifenolok

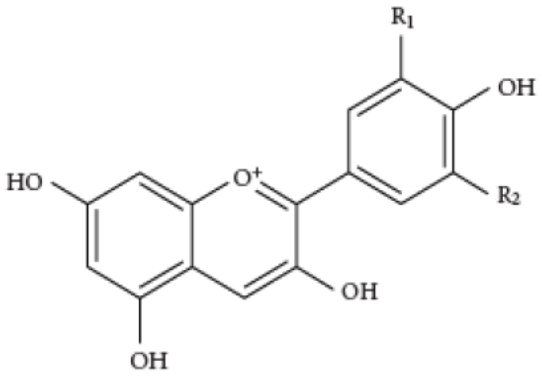
A polifenolok a másodlagos növényi anyagcsere termékei, melyek stressz- és egyéb külső hatásokkal szemben nyújtanak védelmet a növényi szervezetek számára. Polifenolok között megkülönböztetünk flavonoid- és nem flavonoid jellegű polifenolokat, melyek antioxidáns- és kelátképző hatással rendelkeznek. Ezen tulajdonságok mellett C- és E-vitamin analógként is funkcionálnak, valamint képesek megkötni az elektrofil reagenseket. (Haminiuk et al., 2012)

A flavonoidok $C_6$-$C_3$-$C_6$ (difenilpropán) alapvázzal rendekeznek. Alapszerkezetüknek köszönhetően nagy szerkezeti diverzitással rendelkező vegyületek, több ezer különböző szerekezetű variánsuk ismert. (Lugasi és Blázovics, 2001).

Gálfalvy Nóra szakdolgozat

A flavonoidok a következő csoportokba sorokhatók: flavonok, flavonolok, flavononok, flavononolok, flavan-3-olok, antocianidinek és izoflavonoidok.

Az antocianidinek glikozidjai az antocianinok (antociánok) (2. ábra), amelyek növények virágainak és terméseinek különböző színárnyalatát adó növényi színanyagok. Az antocianinok oxigént tartalmazó heterociklusos vegyületek (Bolfné-Csorba, 2021; Brouillard, 1982).




| Anthocyanidin | $R_1$ | $R_2$ | $R_3$ |
|---|---|---|---|
| Cyanidin | OH | OH | H |
| Delphinidin | OH | OH | OH |
| Melvidin | $OCH_3$ | OH | $OCH_3$ |
| Pelargonidin | H | OH | H |
| Peonidin | $OCH_3$ | OH | H |
| Petunidin | $OCH_3$ | OH | OH |

*2. ábra: Az antocianin felépítése (Bolfné-Csorba, 2021; Nakajima et al., 2004)*

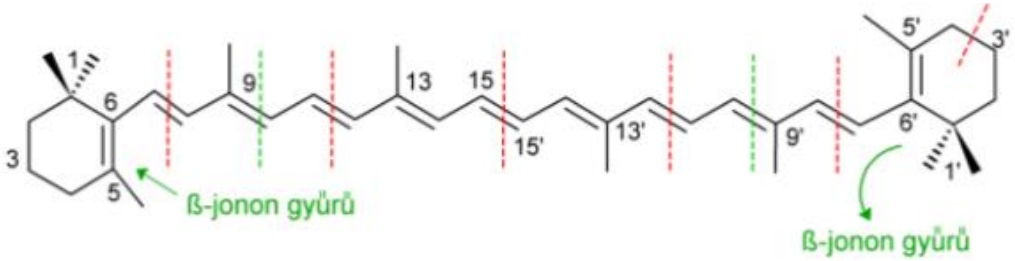
Az -OH, valamint -$CH_3$ csoportok elhelyezkedése szempontjából a leggyakoribb antocianin vegyületek: cianidin, pelargonidin, delfinidin, petunidin, peonidin, malvidin. (Ribárszki, 2022). Az antocianidinek a természetben rend szerint glikozid formában találhatók meg, ezt a formát antocianinnak nevezzük. Az antocianinokban legnagyobb gyakorisággal előforduló cukrok a glükóz, a xilóz, a galaktóz, az arabinóz és a ramnóz. A leggyakrabban természetben előforduló antocianinok a cianidin, delfinidin és a pelargonidin, melyek nem metilezett antocianidinek cukorszármazékai, leginkább gyümölcsökben, virágokban, színes levekben található meg. A leggyakoribb antocianin vegyület a cianidin-3-O-glükozid. (Szalóki-Dorkó, 2016)

Bogyós gyümölcsök és a méréseim során is alkalmazott vörös szőlő nagy mennyiségben tartalmaz antocianin színanyagokat, melyek leginkább a vizsgált gyümölcs héjában találhatók, de azonosíthatók a gyümölcshúsban is. Az antocianinok fontos szerepet töltenek be az emberi táplálkozásban is, nagy metabolikus aktivitásuknak köszönhetően antikarcinogén, antivirális, gyulladáscsökkentő hatással rendelkeznek. Védik az emésztőrendszert az oxidatív stresszel szemben, ezáltal csökkentve az emésztőszervi megbetegedések, például vastagbélrák, illetve gyomorrák kialakulását (Szalóki-Dorkó, 2016).

Szerkezetileg instabil mulekulák, stabilitásuk több tényező függvénye. Ezen tényezők közé sorolható a fény, antocianin koncentráció, pH, hőmérséklet, oxigénmennyiség, valamint a fehérjék, flavonoidok és fémionok jelenléte. Az antocianinok szerkezeti stabilitását leggyakrabban befolyásoló tényező az adott közeg pH értéke. Az oxigén jelenléte gyorsítja a bomlási folyamatot, ez történhet direkt módon, vagy oxidáló enzimek által (glikozidáz, polifenoloxidáz), ezen enzimek működése az antocianin molekulák elszíntelenedését okozzák. A hőmérséklet emelkedése az antocianin molekula heterociklikus gyűrűjének felnyílásához vezet, amely folyamat barna színű elváltozást eredményez, ez később nem oldható polifenollá bomlik (Szalóki-Dorkó, 2016).

### 3.3.2.3. Karotinoidok és A-vitamin

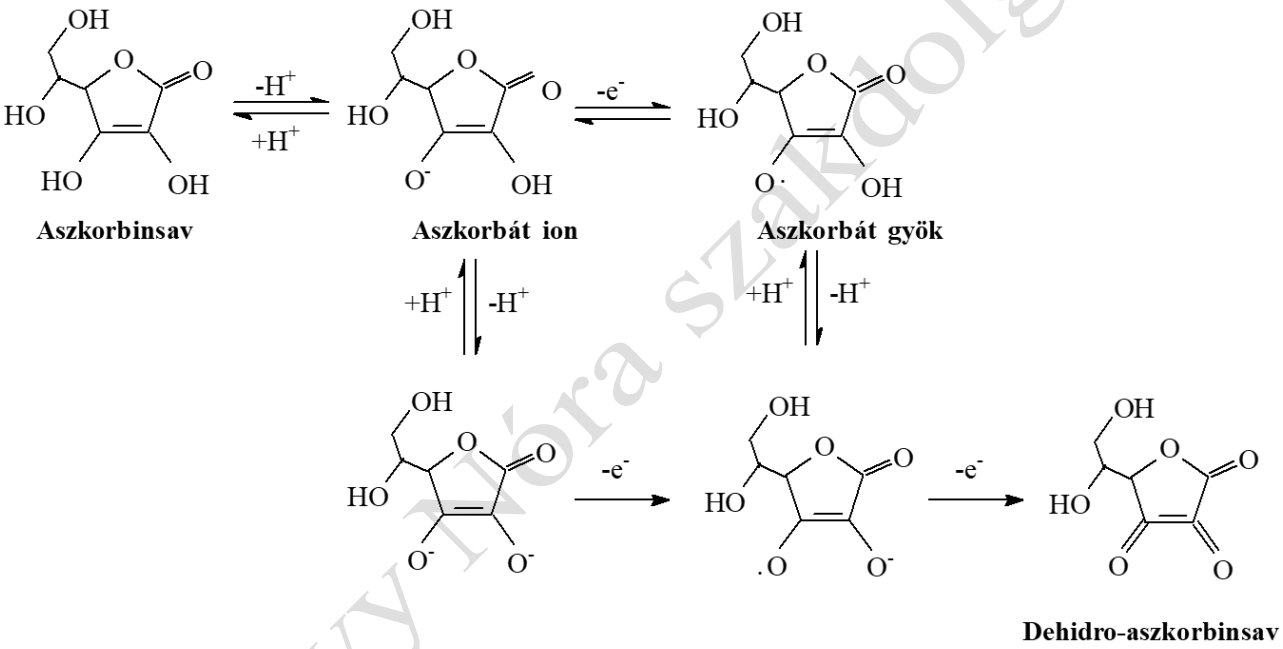
A karotinoidokat (3. ábra) az A-vitaminok provitaminjaiként definiálja a szakirodalom (Mortensen et al., 2001), melyek leggyakoribb képviselője a természetben a béta-karotin. A karotinoidok minden növényben, állatban és mikroorganizmusban megtalálhatók, fontos szerepet töltenek be a sejtmembránok és lipoproteinek peroxil gyökök elleni védelmében. Eddig több mint 700 típusukat azonosították és jellemezték, legtöbbjük jellegzetes szimmetrikus tetraterpén vázzal rendelkezik. A lineáris szénhidrogénváz 40 szénatomból áll és különböző szerkezeti módosulásokra hajlamos. A legbonyolultabb változások a keletkező tetraterpénváz rövidülésével vagy hosszabbodásával hozhatók összefüggésbe, hogy ezáltal 50 szénatomos karotinoidok alakuljanak ki. Emellett 30 szénatomos tetraterpénvázzal rendelkező karotinoidok is előfordulnak, amelyek két farnezil egység kondenzációjából származnak. A karotinoidok szerkezeti alaptöredéke egy konjugált, többszörösen telített lánc, elsősorban ez a fragmentum felelős a szabadgyök-gátló hatásukért. A karotinoidok reakcióképességét a többszörösen telítetlen lánc karotinoidonkénti eltérései, a hidroxil-csoportok jelenléte, valamint a környezeti körülmények befolyásolják (Santos-Sánchez et al., 2019).




*3. ábra: Béta-karotin szerkezeti képlete (Molnár, 2013)*

### 3.3.2.4. C-vitamin

Az aszkorbinsav egy vízben oldódó ketolakton két ionizáló hidroxil-csoporttal. Fiziológiás pH-n a domináns forma az aszkorbát. Az aszkorbát erős redukálószer, amely két egymást követő elektronleadáson megy keresztül, hogy aszkorbát gyök és dehidro-aszkorbinsav képződjön. Az aszkorbát koncentrációja egészséges ember plazmájában nagyjából 10 µg/ml. Ilyen koncentrációban az aszkorbát az E-vitaminnal együttesen antioxidánsként védi az LDL-t a peroxil gyökökkel szemben. Az aszkorbát gyök kevésbé reaktív, reduktáz-függő NADH és NADPH segítségével aszkorbáttá redukálható (4. ábra) (Santos-Sánchez et al., 2019).



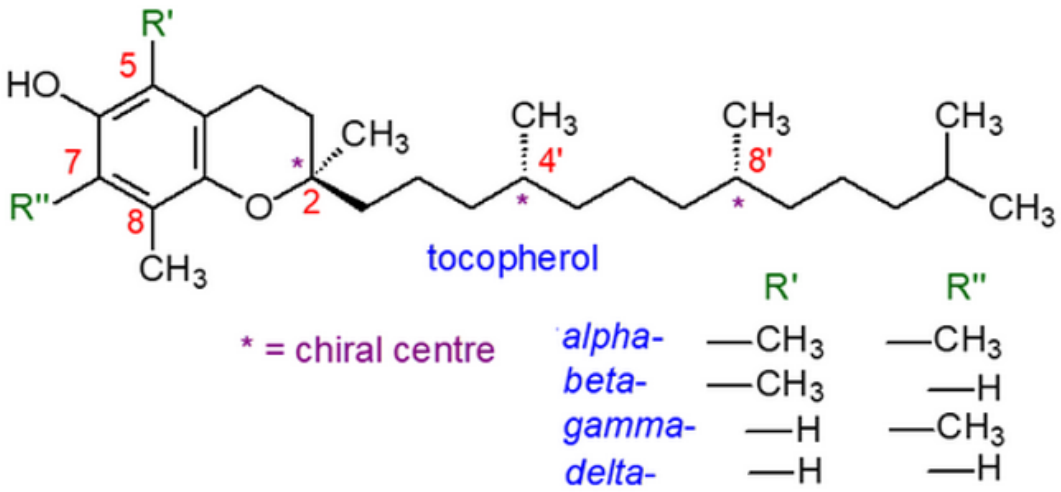

*4. ábra: Az aszkorbinsav átalakulási folyamatai (saját ábra)*

Az aszkorbinsav a legtöbb fiziológiailag fontos szabadgyökkel reagálni képes antioxidánsként viselkedik. Antioxidáns mechanizmusa a peroxil gyökökkel való hidrogén atom átadáson, a szingulett oxigén inaktiválásán és a molekuláris oxigén eliminálásán alapszik (Santos-Sánchez et al., 2019).

Csálfalvy Nóra szakdolgozat

### 3.3.2.5. E-vitamin

Az E-vitamin hatékony láncbontó antioxidáns, nagy mennyiségben tartalmazzák növényi olajok, diófélék, magvak, zöld leveles zöldségek és dúsított gabonafélék. Az E-vitaminok családját alkotó nyolc különböző tokoferol közül gyakorlati jelentősége az alfa-, béta-, gamma- és delta-tokoferoloknak, ezek közül is az alfa-tokoferolnak van. (5.ábra) (Balogh, 2010). Gátolja a reaktív oxigénfajok molekuláinak termelődését a zsír oxidációjakor és a szabadgyök-reakciók során és megvédi a sejtmembránt a szabadgyökök támadásától, a lipidperoxidáció elleni elsődleges védelmi rendszerként működik. Az E-vitamin növeli a sejteket körülölelő membrán lipid szerkezet rendezettségét, ezzel stabilabb szerkezetet biztosítva a sejteknek. Segíti a membrán regeneráló folyamatokat azáltal, hogy megakadályozza az oxidált foszfolipidek képződését, amelyek zavarhatják membránfúziós folyamatokat. Ezek alapján az E-vitamin antioxidáns funkciója, gyulladáscsökkentő hatása, vérlemezkék aggregációját gátló képessége és immunerősítő hatása miatt hatékonynak számít a különböző betegségek és szövődményeik megelőzésében és visszafordításában (Rizvi et al., 2014).




*5. ábra: A tokoferol szerkezete (The Lipid Web)*

#### 3.3.2.6. Ásványi anyagok

A szervezet működése szempontjából elengedhetetlen a különböző ásványi anyagok fogyasztása. Híg elektrolit formában például a nátrium, kálium, kalcium és magnézium hozzájárul a szervezet egyensúlyainak fenntartásában. A cink, réz, mangán és a magnézium enzimreakció gátló hatással rendelkezik, a kalcium és a foszfor pedig a támasztószövetek felépítésében vesz részt. A mikroelemek (cink, réz, molibdén) és makroelemek (magnézium) támogatják az enzimatikus rendszer résztvevőinek hatékony működését, szerepet játszanak a szervezet antioxidáns védelmében (Balogh, 2011).

## 3.4. Antioxidáns kapacitás és antocianin tartalom meghatározási módszerek

### 3.4.1. Antioxidáns kapacitás meghatározási lehetőségei

Az antioxidáns kapacitás meghatározására több módszer is ismert. Ezeket alapvetően két nagy csoportba tudjuk sorolni: a hidrogénatom átvitelen és az elektronátmeneten alapuló módszerek (1. táblázat) (Ivanova et al., 2020). A módszerek különböző folyamatok nyomon követésén alapulnak, így a különböző eljárásokkal mért antioxidáns kapacitás eltérő. Csak az azonos módszerrel mért értékeket lehet összevetni. A leggyakrabban a FRAP és a TPC eljárást alkalmazzák, mert ezen módszerek kivitelezése viszonylag egyszerű (Liu et al., 2021).

1. táblázat: Antioxidáns kapacitás meghatározási módszerek csoportosítása (Ivanova et al., 2020)

| HIDROGÉNATOM ÁTVITELEN ALAPULÓ MÓDSZEREK | ELEKTRONÁTMENETEN ALAPULÓ MÓDSZEREK |
|---|---|
| ORAC – Oxygen Radical Absorbance Capacity | FRAP – Ferric Reducing Ability of Plasma |
| TRAP – Total Peroxil Radical Trapping Parameter | TPC – Total Polyphenol Content |
| CL - Chemoluminescence | CUPRAC – CUPric ion Reducing Antioxidant Capacity |
| Krocin elszíntelenedésén alapuló módszer | TEAC – Trolox Equivalent Antioxidant Capacity |
| β-karotin elszíntelenedésén alapuló módszer | DPPH (1,1–difenil-2-pikrilhidrazil) gyök megkötésén alapuló módszer |
| PCL - Photochemiluminescence | |

Nóra szakdolgozat

### 3.4.2. Antocianin tartalom meghatározás lehetőségei

Az antocianin tartalom analitikai módszerrel történő meghatározása három féle módon lehetséges a vizsgálat célja alapján (Szalóki-Dorkó, 2016).

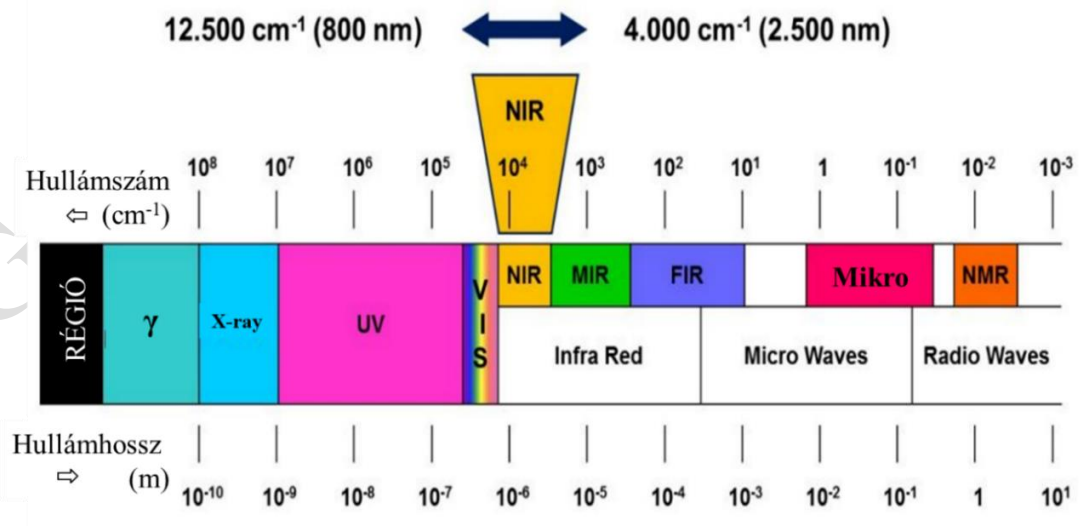
Az összes antocianin tartalom meghatározására szolgáló módszerek esetén a vizsgált mintában található összes antocianin vegyület kerül meghatározásra. Ezen csoport legnépszerűbb képviselője a differenciális pH spektrofotometriás módszer, melynek alapja a monomer antocianin molekulák reverzibilis színváltozása a pH függvényében, így a módszer a monomer molekulák koncentrációjának meghatározására alkalmas. A mérést mind a két pH érték esetében 520- és 700 nanométeren végzik, az adott hullámhosszon mért abszorbancia értékek külömbsége és a pigmentkoncentráció között arányosság áll fenn (Szalóki-Dorkó, 2016).

Célkomponens módszerek alkalmazása során a mérés célja a vizsgálandó mintában található előre definiált mennyiségű és minőségű antocianin komponensek meghatározása. Célkomponens módszerek közé sorolható a HPLC-UV (Szalóki-Dorkó, 2016).

Screening módszerek alkalmazásával az előre nem definiált komponensek és a már ismert, de nem definiált komponensek meghatározása válik lehetségessé (Zhou et al., 2023).

## 3.5. Infravörös spektroszkópia (FT-NIR)

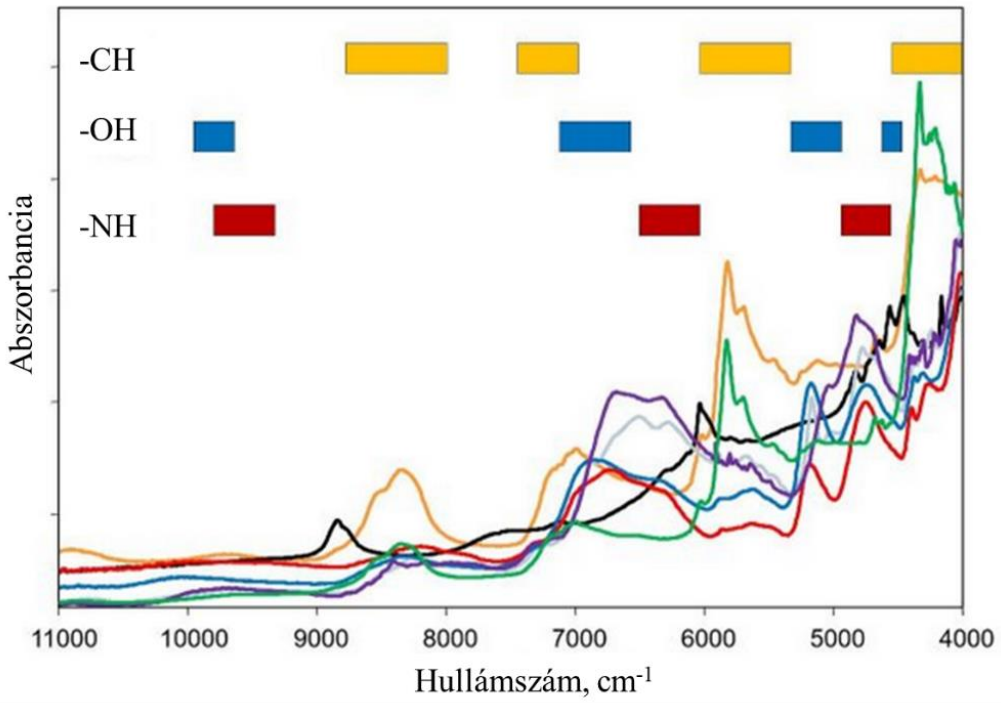
Az infravörös spektroszkópia olyan analitikai elemző módszer, amely az elektromágneses spektrum NIR tartományát (800-2500 nm) használja (6. ábra). NIR tartományban a minta fényelnyelését méri különböző hullámhosszokon (Bruker.com).




*6. ábra: Elektromágneses sugárzás tartományai (Bruker.com)*

A molekulák atomjainak rezgése, valamint azok energiája és frekvenciája lehetővé teszi az adott molekula azonosítását azáltal, hogy a molekulára jellemző értékeket vesznek fel. A molekula gerjesztése alatt azt értjük, hogy a molekula rezgése megváltozik, ha megfelelő frekvencián éri a sugárzás. Ez a sugárzás gerjesztés közben szóródhat vagy elnyelődhet a minta jellegétől függően, az adott hullámhosszon történő fényelnyelés mértékét spektrumokkal szemléltetjük, mely segítségével lehetőség nyílik a vizsgált minta összetételének meghatározására (Bazár, 2011).

A felvett NIR spektrum a CH, NH, OH stb. heterogén kötéseket tartalmazó csoportok felhangjaiból és kombinációs rezgéseiből áll. Ez teszi népszerűvé a módszer alkalmazását szerves anyagok elemzésére a gyógyszeriparban, a vegyiparban, valamint az élelmiszer-, takarmány- és mezőgazdasági iparban (7. ábra) (Bruker.com).




*7. ábra: FT-NIR spektrum és néhány jellegzetes terület (Bruker.com)*

A NIR sávok gyakran fedik egymást, ami széles csúcsokat tartalmazó spektrumot eredményez. Emiatt a minta NIR spektruma nehezebben értelmezhető a közép-infravörös spektrumhoz képest. A NIR spektrumokon belül a minta fizikai és molekuláris szerkezetére vonatkozó értékes információk is találhatók. Ezen információk értelmezése, ezáltal a minta összetételének elemzése modern többváltozós feldolgozási és kiértékelési módszerekkel lehetséges (Bruker.com).

A vizsgálni kívánt minta víztartalma hatással van a minta többi komponensének abszorpciójára, ezért a nagy nedvességtartalmú mintákat mérés előtt speciális mintaelőkészítésnek vetik alá. Erre a minták esetleges hőérzékenységét figyelembe véve a liofilizálás (fagyasztva szárítás) a legnépszerűbb megoldás. Míg a nem liofilizált minták esetében a víz abszorpciós csúcsai zavarják a vizsgált spektrumot, addig ezen csúcsok liofilizált minták esetében nincsenek jelen (Bazár, 2011).

***Közeli infravörös tartományban működő berendezések csoportosítása (Bazár, 2011):***

Optikai konfiguráció:

- mozgó diffrakciós rács (holografikus)
- interferencia szűrő (ék, diszkrét)
- interferométer
- akuszto-optikusan hangolt szűrők
- közeli infrában emittáló diódák

Fényforrás:

- Közeli infravörös (Wolfram izzó)
- Középső infravörös (Nernst izzó)

Detektor:

- Infravörös termikus (termoelem)
- Infravörös foton (félvezetők)

Elrendezés:

- Reflexiós
- Transzmissziós
- Transzflexiós (reflexió + transzmisszió)

Gálfalvy Nóra szakdolgozat

***A módszer előnyei***

a) A laboratóriumi NIR-méréshez a mintát egyszerűen egy kis üveg/kvarc mintatartóba vagy főzőpohárba töltjük, kihasználva, hogy az üveg/kvarc nem rendelkezik elnyeléssel a NIR tartományban. Ez lehetővé teszi a száloptikai szondák használatát a laboratóriumban és a technológiai környezetben is.
b) A közeli infravörös fotonok a minta halmazállapotától függően néhány milliméter mélyen hatolnak a mintába, így nem csak felületi információhoz juthatunk.
c) A készülék kialakításától függően lehetőség van a minták forgatására, így heterogén felületről is lehetséges homogén felvétel kialakítása.
d) Az időigényes standard analitikai módszerekkel ellentétben a NIR-módszer nem termel hulladékot, nem okoz szennyezést, és nem igényel kémiai reagenseket vagy gázokat, emiatt nagyon költséghatékonynak mondható.
e) Az elemzés gyors (a mérési idő 10-60 másodperc), és a minta előkészítése nélkül jelentős időnyereség érhető el. Nagy mintaátbocsátást biztosít, valamint valós idejű elemzést a folyamatok monitorozásában.
f) A készülék kialakításától függően alkalmas szilárd, folyadék és kolloid állapotú minták mérésére.
g) A módszer stabil, miután a meghatározás hátterében matematikai összefüggés áll (Bruker.com).

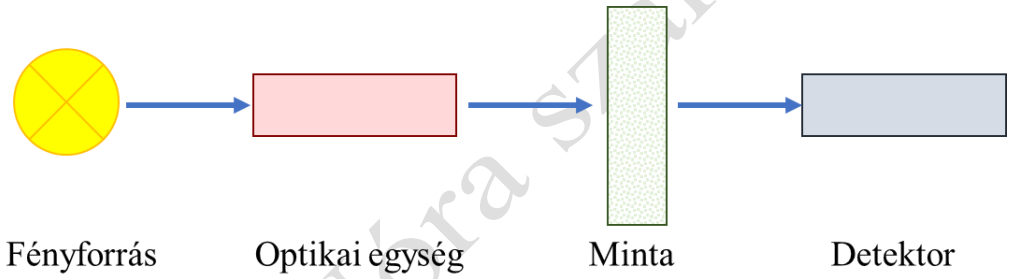
***A módszer hátrányai***

a) A spektrumok összetett információt hordoznak, hiszen egy-egy csúcs nem rendelhető konkrét vegyülethez, csak bizonyos rezgési átmenetekhez.
b) A közeli infravörös fotonok energiája nagyobb, mint a középső infravörös fotonoké. Ezért amíg a középső infravörös fotonok hatására különböző tiszta normálrezgések jönnek létre (deformációs és vegyérték rezgések), addig a nagyobb energiájú közeli infravörös fotonok hatására ezek a jelek kombinálódnak, (kombinációs sávok) és megsokszorozódnak (felhangok, felharmonikusok). Ennek hatására a spektrumok kiszélesednek, átfednek egymáson (Szigedi, 2013).
c) A spektrumok mennyiségi kiértékelése a felsorolt problémák miatt nem lehetséges a klasszikus kalibrációs eljárások egyikével sem. A készüléket „be kell tanítani” a koncentráció és a spektrum közötti összefüggésre. Erre többváltozós lineáris/nem lineáris regressziós módszerek adnak lehetőséget. Ilyen eljárás pl. a részleges legkisebb négyzetek módszere, a PLS (Osborne, 1981).

Galfalvy Nóra szakdolgozat

d) A mennyiségi kalibrációhoz nagy mintaszám szükséges, amely minták vizsgálni kívánt paraméterének koncentrációját előzetesen klasszikus módszerrel meg kell állapítani (Hanzelikné Szabó, 2021).
e) A NIR módszer nem abszolút módszer, pontossága a felhasznált analitikai módszertől függ.
f) Mátrix függő eljárás

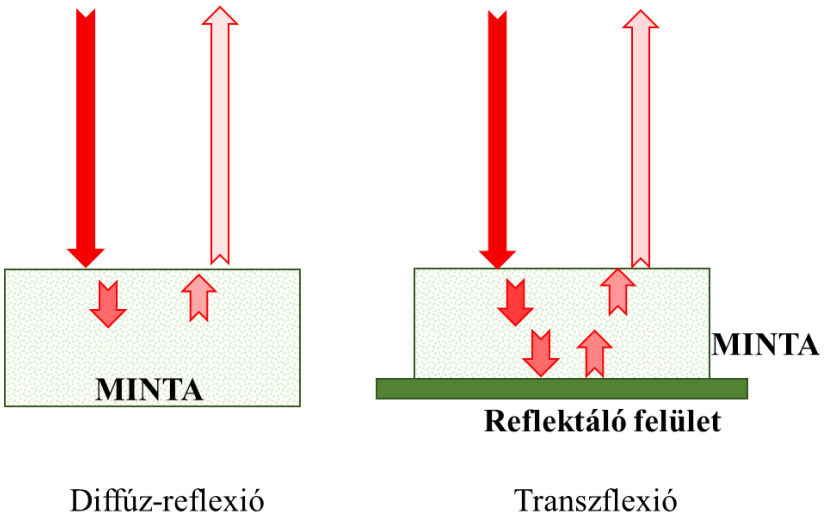
A minta halmazállapotától függően a közeli infravörös foton és a minta között különböző folyamatok játszódhatnak le. Folyadék minták esetében a transzmisszió jelenségét használjuk ki. Transzmissziós mérés esetén a fényt fókuszált vagy párhuzamos sugárral irányítják a mintára. A fény egy része elnyelődik, a fennmaradó rész a detektorba jut. Ezt a mérési módot nem csak tiszta folyadékoknál alkalmazzák (közvetlen transzmisszió) (8. ábra), a diffúzan visszaverődő vagy enyhén szóródó minták, például a szemcsék és a pasztás minták is elemezhetők ilyen módon (diffúz transzmisszió).




*8. ábra: Transzmissziós mérési elrendezés (saját ábra)*

Szilárd minták vizsgálatára a diffúz reflexió jelenségét használjuk (9. ábra). A diffúz reflexió során a közeli infravörös fotonok néhány milliméter mélyen behatolnak a mintába, azzal kölcsönhatásba lépnek, majd csökkent intenzitással visszaverődnek. A diffúz reflexiós spektrum csúcs-gazdag, minőségi és mennyiségi kiértékelése könnyebb, mint a transzmissziós spektrumoké. A felület jelentősen befolyásolja a diffúz reflexiós méréseket, így törekedni kell a minta szemcseméretbeli homogenizálására pl. darálással. Amennyiben ez nem lehetséges, a kiértékelések során spektrum adat-előkezeléssel a felületi inhomogenitásból eredő fényszórás kiküszöbölhető.

Galfalvy Nóra szakdolgozat




*9. ábra: Diffúz reflexió és transzflexió jelensége (saját ábra)*

Elsősorban élelmiszerminták esetében gyakori probléma a minta kolloid jellege. Az ilyen típusú mintákat eleinte diffúz transzmisszió jelenségével vizsgálták. Ez a módszer azonban egyrészt igen érzékeny a minta rétegvastagságára, másrészt csúcs-szegény spektrumot eredményez, így kiértékelése gondot okozhat. Ezen probléma kiküszöbölésére fejlesztették ki a transzflexiós mérési módszert (9. ábra), amely a két klasszikus mérési lehetőség ötvözete. Sűrű folyadékok, kolloid minták esetében ideális mérési lehetőség. A mintatartóhoz egy arany bevonatú vagy acél ellendarab tartozik, amely kialakítása révén („karmocskák”) stabil 1 vagy 2 milliméter rétegvastagságot biztosít.

A mintán áthaladó fotonok az ellendarabról visszaverődnek, ezáltal duplájára nő a foton úthossza. Az eredmény egy a transzmissziós spektrumhoz képest csúcsban gazdagabb, ezáltal jobban kiértékelhető spektrum. A transzflexió az átviteli technika kiterjesztése. Ha egy tükröt helyezünk a minta mögé, a mintán áthaladó fény visszaverődik a mintán keresztül a diffúz visszaverődésű szondába vagy az integráló gömbbe. A transzflexió így a transzmisszió és a reflexió kombinációját méri. Ez a technika emulziók, gélek és zavaros folyadékok esetében hasznos. Transzreflexiós szondák is rendelkezésre állnak pl. zavaros folyadékok, mint a tej, vagy fermentációs folyamatok in-line elemzéséhez.

Gáfalvy Nóra szakdolgozat

# 4. ANYAG ÉS MÓDSZER

## 4.1. Vizsgált minták

Méréseim során liofilizált vörös szőlő-, tőzegáfonya-, és gránátalma porokkal dolgoztam. Mintáim jellemző fontos összetevőit a 2. táblázatban foglaltam össze.

2. táblázat: Vizsgált minta összetevői

| Minták | Minta jelzése | Jellemző összetevők |
|---|---|---|
| **Vörös szőlő** | 1/1; 1/2 | • Vitamink: C, B1, B2, folsav<br>• rostanyagok<br>• cukrok<br>• polifenolok (flavonoidok,: kvercetin, tannin, antocianinok, rezveratrol, csersav |
| **Tőzegáfonya** | 2/1; 2/2 | • A és C-vitamin<br>• flavonoidok, proantocianininek, antocianin<br>• kininsav, citromsav, pektin,csersav<br>• cukrok,<br>• rostanyagok |
| **Gránátalma** | 3/1; 3/2 | • Vitaminok: C,E,K,B, folsav, riboflavin, tiamin, niacin<br>• fruktóz<br>• rostanyagok<br>• polifenolok – tanninok, kvercetin, antociánok<br>• ellagsav |

### 4.2. Vizsgálati módszerek

#### 4.2.1. Mintaelőkészítés biokémiai mérésekhez

A pormintákból közelítőleg 250 mg-ot mértem be analitikai mérleg segítségével. Ezt követően a centrifugacsövek tartalmához 10 ml desztillált vizet adtam, majd 1 órára ultrahangos vízfürdőbe helyeztem az előkészített mintákat. A mintaelőkészítés pontos adatait a 3. táblázat foglalja össze. Minden mintából két-két mintaelőkészítést végeztem.

3. táblázat: A mintaelőkészítés adatai

| Minta típusa | Minta azonosítója | Bemérés (mg) | Desztillált víz (ml) | mg/ml |
|---|---|---|---|---|
| **Vörös szőlő** | 1/1 | 264,4 | 10,0 | 26,44 |
| | 1/2 | 257,2 | | 25,72 |
| **Tőzegáfonya** | 2/1 | 250,6 | | 25,06 |
| | 2/2 | 256,7 | | 25,67 |
| **Gránátalma** | 3/1 | 255,0 | | 25,5 |
| | 3/2 | 253,6 | | 25,36 |

#### 4.2.2. TPC (Total Polyphenol Content) módszer

A módszer Singleton és Rossi (1965) nevéhez fűződik, galluszsavra vonatkoztatott antioxidáns kapacitás meghatározására alkalmas módszer, amely redukálóképességen alapszik.
A reakció kék színváltozással jár, mely 760 nm hullámhosszon spektrofotometriásan hatékonyan nyomon követhető. Az eljárás olcsó, könnyen elvégezhető és reprodukálható, ennek köszönhetően alkalmasnak mondható rutinszerű mérések elvégzésére. A mérés lúgos pH-n zajlik, a módszer polifenolos komponensekre nem szelektív, a folyamat kémiai háttere nem teljesen ismert. A 760 nm-en mért abszorbancia értékek és a kalibrációs görbe segítségével meghatározható a minták összes polifenol tartalma. A mérés előtt a kémcsöveket 5 percre 50°C-os vízfürdőbe helyeztem. Mintánként három mérést végeztem, az eredményeket µmol galluszsav/g (µmol GS/g) egységben határoztam meg.

Gálfalvy Nóra szakdolgozat

A mérés elvégzéséhez szükséges reagensek:

- metanol és desztillált víz 80:20 arányú elegye
- Folin-Ciocalteu reagens (50 ml Folin + 500 ml desztillált víz)
- 7,42 g $Na_2CO_3$ és 100 ml desztillált víz elegye
- 0,3 mmol/L galluszsav oldat (metanol és desztillált víz 80:20 arányú elegyével hígítva)

### 4.2.3. FRAP (Ferric Reducing Ability of Plasma) módszer

A vasredukáló képességen alapuló módszer Benzie és Strain (1996) nevéhez fűződik, alapja, hogy a vas-2,4,6-S-triazin (TPTZ) komplex antioxidánsok hatására redukálódik és a reakció kékes színváltozással jár. Ez a színváltozás 593 nm-en spektrofotometriásan nyomon követhető. A módszer alkalmas a vasredukáló képesség jellemzésére pH 3,6-on, olcsó, gyors és reprodukálható, reakcióideje 5 perc. A mérés jóval a fiziológiai pH értéknél alacsonyabb pH tartományban játszódik le, valamint nem szelektíven detektálja az antioxidánsokat. Ennek oka, hogy minden 0,77V-nél kisebb redoxpotenciállal rendelkező komponens potenciálisan redukálhatja a vas iont. Az 593 nm-en mért abszorbancia értékek és a kalibrációs körbe alapján meghatározható a minta összes antioxidáns kapacitása. Mintánként három párhuzamos mérést végeztem, az eredmények µmol aszkorbinsav/g (µmol AS/g) dimenzióban kerültek meghatározásra.

A szükséges oldatok:

- 25 ml 300 mmol/L nátrium-acetát puffer
- 2,5 ml 20 mmol/L $FeCl_3$
- 2,5 ml 10 mmol/L TPTZ (Tripyridyl-S-Triazine)
- kalibrációhoz: 1 mmol/L aszkorbinsav

### 4.2.4. Antocianin tartalom differenciális pH mérés alapján

A pH differenciális módszer (Giusti és Wrolstad, 2001) segítségével meghatározható a minták összes monomer antocianin komponense. A módszer elve alapján a monomer antocianin vegyületek színe fordítottan változik a pH változásával. A mintákban jelen levő monomer antocianinok pH = 1,0 értéken színes oxónium, pH = 4,5 értéken pedig színtelen hemiketál formát vesznek fel.

Gálfalvy Nóra szakdolgozat

A mérés elvégzéséhez szükséges oldatok:

- 25 mmol/L kálium-klorid - sósav pH= 1-es oldata
- 0,4 mol/L Na-acetát - ecetsav pH= 4,5 oldata

Minden mintához mind a két pufferből azonos mennyiséget adagolunk, majd az abszorbancia értékeket 520 és 700 nm-en mérjük. A vizsgált minták koncentrációja a pigmentek 520 nm és 700 nm hullámhosszon mért abszorbancia értékeinek külömbségével arányos.

$$A = (A_{520} - A_{700})_{pH1} - (A_{520} - A_{700})_{pH4,5}$$

Az antocianin tartalom cianidin-3-glükozidra vonatkoztatva számolandó, az eredményeket mg/L egységben adjuk meg. Az minták összes antocianin koncentrációjának meghatározása a következő képlet alapján történik:

$$TA\left(\frac{mg}{L}\right) = \frac{A * MW * DF * 1000}{\varepsilon * L}$$

MW = cianidin-3-glükozid moláris tömege [449,2 g/mol]
DF = hígítási faktor [10]
ε = moláris abszorpciós koefficiens [26900]
L = úthossz [1 cm]

Gálfalvy Nora szakdolgozat

### 4.2.5. FT-NIR spektrumok felvétele

A dörzsmozsárral homogenizált liofilizált gyümölcsminták vizsgálatát BRUKER MPA típusú FT-NIR (Ettlingen, Németország) (10. ábra) készülékkel végeztem.

A mintákat 20 mm átmérőjű üveg mintatartóba helyezve, diffúz reflexiós mérési módban vizsgáltam. Minden mintáról három-három spektrumot rögzítettem. A további kiértékelésekhez a kapott eredmények átlagát használtam.

A készülék mérési tartománya 12500-3800 $cm^{-1}$, optikai egysége egy Rocksolid interferométer. A diffúz reflexiós mérés során PbS detektort alkalmaztunk. A spektrumfelvétel során a pásztázási sebesség 10 kHz, a felbontás 8 $cm^{-1}$.

*10. ábra: Bruker MPA FT-NIR készülék (saját fotó)*

Gálfalvy Noémi dolgozat

# 5. EREDMÉNYEK ÉS KIÉRTÉKELÉSÜK

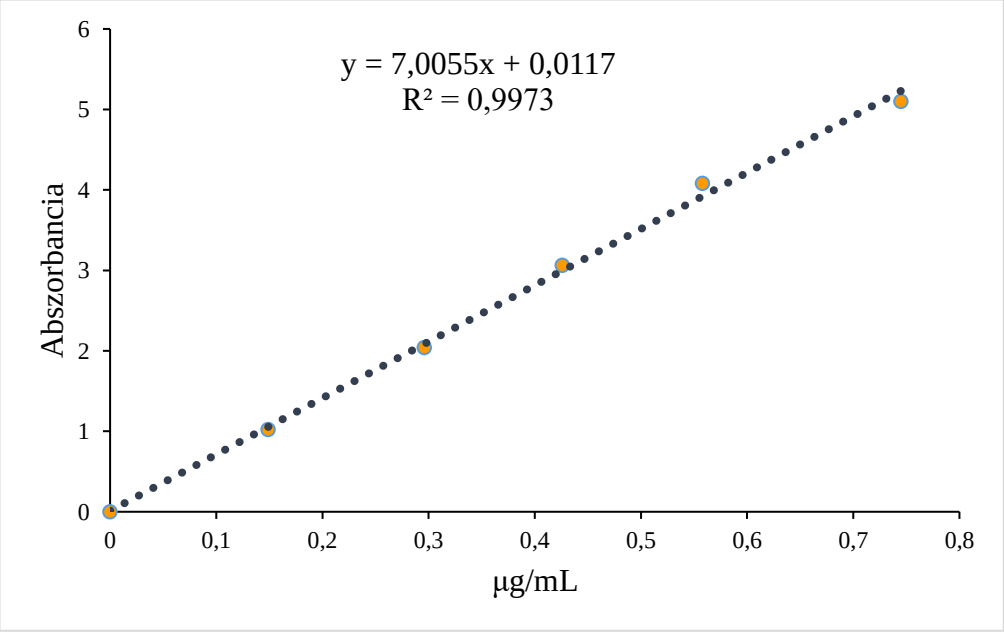
## 5.1. TPC (Total Polyphenol Content) módszer

A TPC módszerhez összeállított kalibrációs adatokat a 4. táblázatban és 11. ábrán, a mérési adatokat az 5. táblázatban és 12. ábrán foglaltam össze.

4. táblázat: TPC kalibrációs oldatok összeállítása

| | Folin (µl) | Metanol: deszt. víz (µl) | Galluszsav (µl) | $Na_2CO_3$ (µl) | µmol/L | µg/ml |
|---|---|---|---|---|---|---|
| **Vak** | 1250 | 250 | - | 1000 | 0 | 0 |
| **1.** | 1250 | 200 | 50 | | 6 | 1,02 |
| **2.** | 1250 | 150 | 100 | | 12 | 2,04 |
| **3.** | 1250 | 100 | 150 | | 18 | 3,06 |
| **4.** | 1250 | 50 | 200 | | 24 | 4,08 |
| **5.** | 1250 | - | 250 | | 30 | 5,1 |

A kalibrációs összefüggést a 11. ábrán mutatom be.



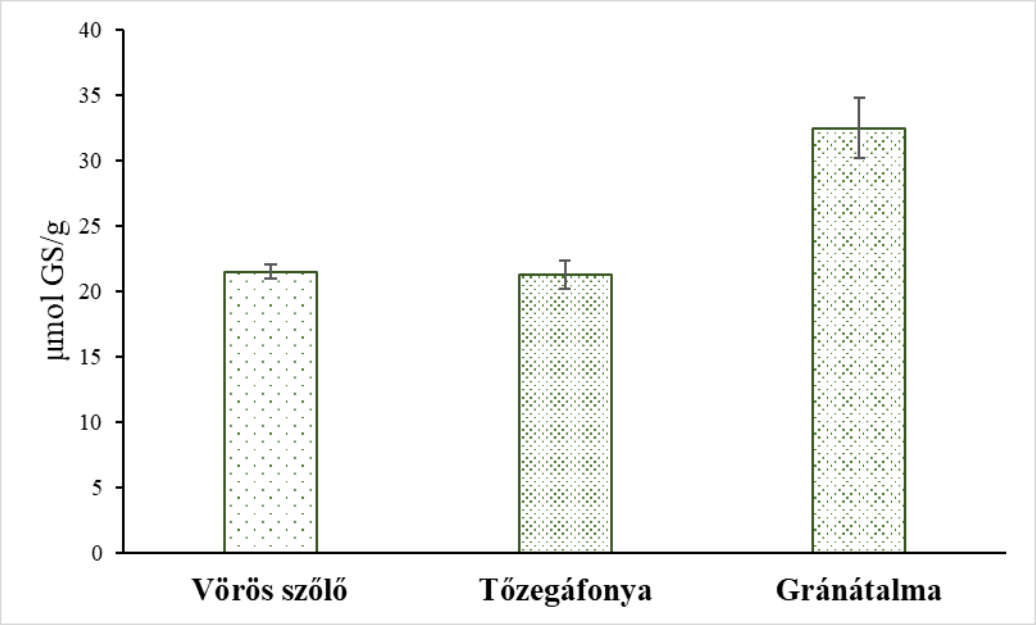

*11. ábra: Kalibrációs összefüggés TPC meghatározáshoz*

5. táblázat: TPC mérési adatok

| Minta típusa | Minta azonosító | Minta konc. mg/ml | Absz | TPC µmolGS/L | TPC µmolGS/g | Átlag µmolGS/g | Szórás |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Vörös szőlő** | 1/1 | 26,44 | 0,341 | 704,5455 | 26,64695 | **27,248** | **0,745** |
| | | 26,44 | 0,344 | 710,7438 | 26,88138 | | |
| | | 26,44 | 0,337 | 696,281 | 26,33438 | | |
| | 1/2 | 25,72 | 0,346 | 714,876 | 27,79456 | | |
| | | 25,72 | 0,343 | 708,6777 | 27,55356 | | |
| | | 25,72 | 0,352 | 727,2727 | 28,27654 | | |
| **Tőzegáfonya** | 2/1 | 25,06 | 0,342 | 706,6116 | 28,19679 | **28,134** | **0,803** |
| | | 25,06 | 0,337 | 696,281 | 27,78456 | | |
| | | 25,06 | 0,358 | 739,6694 | 29,51594 | | |
| | 2/2 | 25,67 | 0,336 | 694,2149 | 27,04382 | | |
| | | 25,67 | 0,349 | 721,0744 | 28,09016 | | |
| | | 25,67 | 0,35 | 723,1405 | 28,17065 | | |
| **Gránátalma** | 3/1 | 25,5 | 0,503 | 1039,256 | 40,75515 | **41,425** | **1,353** |
| | | 25,5 | 0,482 | 995,8678 | 39,05364 | | |
| | | 25,5 | 0,517 | 1068,182 | 41,88948 | | |
| | 3/2 | 25,36 | 0,516 | 1066,116 | 42,03926 | | |
| | | 25,36 | 0,527 | 1088,843 | 42,93545 | | |
| | | 25,36 | 0,514 | 1061,983 | 41,87632 | | |

A gyümölcsporok TPC értékeit Kruskal-Wallis nemparaméteres statisztikai próbával (Conover-Iman post hoc teszttel) összevetve megállapítható, hogy a gránátalma TPC értéke mind a vörös szőlőhöz, mind a tőzegáfonyához képes 95%-os szignifikancia szinten szignifikánsan magasabb volt. A vörös szőlős és a tőzegáfonya TPC értékei között szignifikáns eltérést nem tapasztaltunk. Ez az eredmény a szakirodalomban közölt adatokkal megegyezik (Berger et al., 2020).

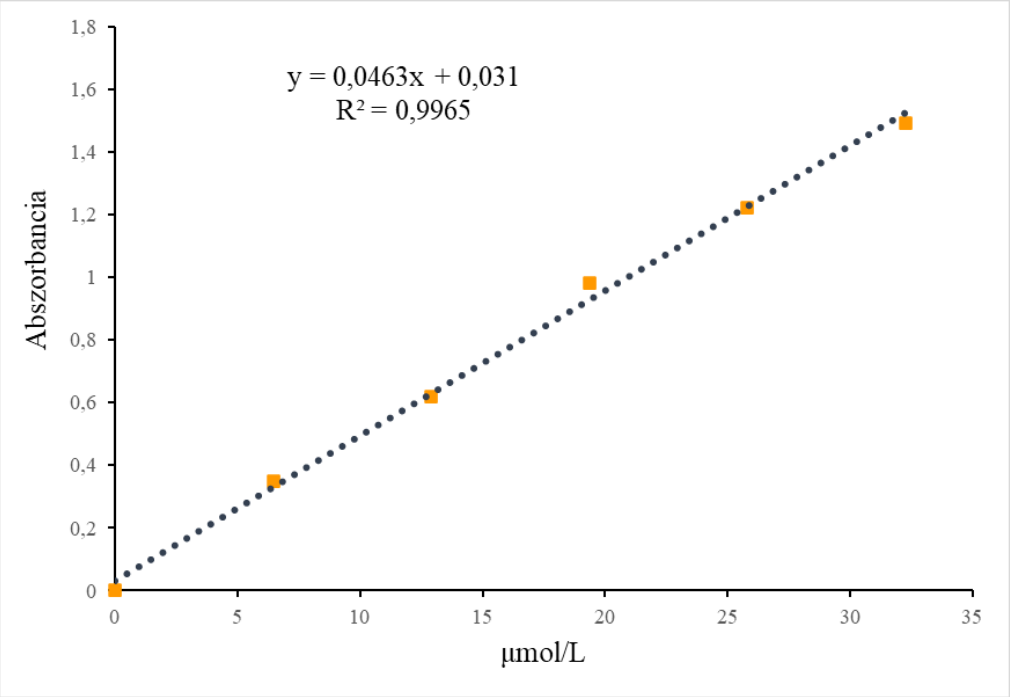
Gáffalvy Noémi szakdolgozat




*12. ábra: Gyümölcsporok TPC eredményei*

### 5.2. FRAP (Ferric Reducing Ability of Plasma) módszer

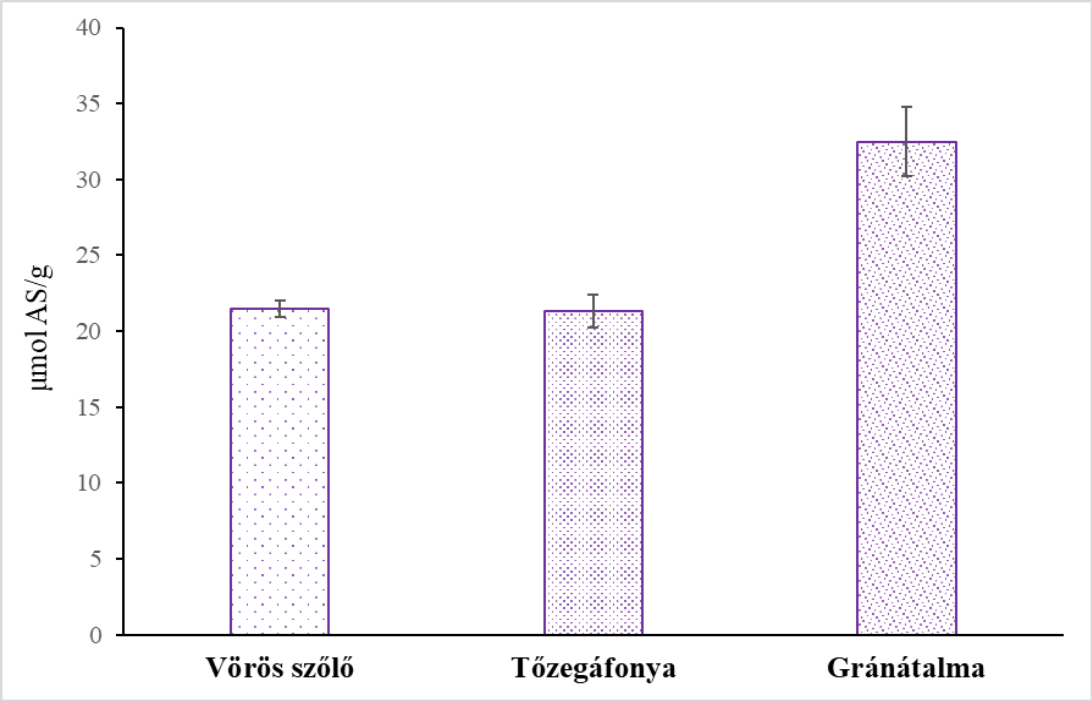
A FRAP módszer kalibrációs összefüggését a 13. ábrán, míg a mérési eredményeit a 6. táblázatban és a 14. ábrán foglaltam össze.




*13. ábra: FRAP mérés kalibrációs összefüggése*

6. táblázat: FRAP mérési eredmények

| Minta | Minta azonosító | Minta konc. mg/ml | Absz | FRAP érték µmolAS/L | FRAP érték µmolAS/g | Átlag µmolAS/g | Szórás |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Vörös szőlő | 1/1 | 26,44 | 0,903 | 588,0882 | 22,24237 | 21,506 | 0,5347 |
| | | 26,44 | 0,858 | 558,7815 | 21,13395 | | |
| | | 26,44 | 0,885 | 576,3655 | 21,799 | | |
| | 1/2 | 25,72 | 0,863 | 562,0378 | 21,85217 | | |
| | | 25,72 | 0,835 | 543,8025 | 21,14318 | | |
| | | 25,72 | 0,824 | 536,6387 | 20,86464 | | |
| Tőzegáfonya | 2/1 | 25,06 | 0,876 | 570,5042 | 22,76553 | 21,312 | 1,070 |
| | | 25,06 | 0,861 | 560,7353 | 22,37571 | | |
| | | 25,06 | 0,823 | 535,9874 | 21,38816 | | |
| | 2/2 | 25,67 | 0,791 | 515,1471 | 20,06806 | | |
| | | 25,67 | 0,818 | 532,7311 | 20,75306 | | |
| | | 25,67 | 0,809 | 526,8697 | 20,52473 | | |
| Gránátalma | 3/1 | 25,5 | 1,321 | 860,3151 | 33,73785 | 32,474 | 2,295 |
| | | 25,5 | 1,32 | 859,6639 | 33,71231 | | |
| | | 25,5 | 1,162 | 756,7647 | 29,67705 | | |
| | 3/2 | 25,36 | 1,338 | 871,3866 | 34,36067 | | |
| | | 25,36 | 1,144 | 745,042 | 29,37863 | | |
| | | 25,36 | 1,323 | 861,6176 | 33,97546 | | |

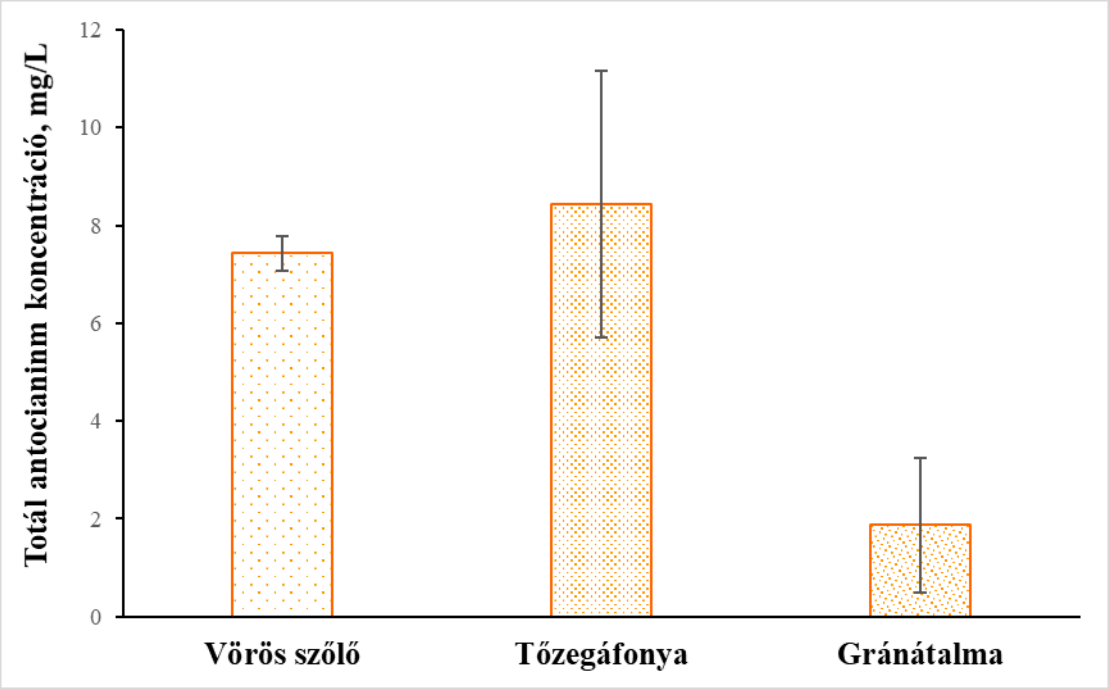



*14. ábra: Gyümölcs porok FRAP értéke*

A FRAP értékeket Kruskal-Wallis nemparaméteres statisztikai eljárással (Conover-Iman post hoc teszttel) kiértékelve megállapítható, hogy a gránátalma FRAP értéke 95%-os szignifikancia szinten eltér a vörös szőlő és a tőzegáfonya FRAP értékétől.
A vörös szőlő és a tőzegáfonya FRAP értéke között szignifikáns eltérés nem figyelhető meg.

### 5.3. Antocianin tartalom differenciális pH mérés alapján

A pH differenciális módszerrel mért összes antocianin tartalom eredményeit a 15. ábrán mutatom be.
Az antocianin tartalom esetében a párhuzamos mérési adatok szórása túl nagy volt, emiatt szignifikáns eltérés nem állapítható meg a minták között.

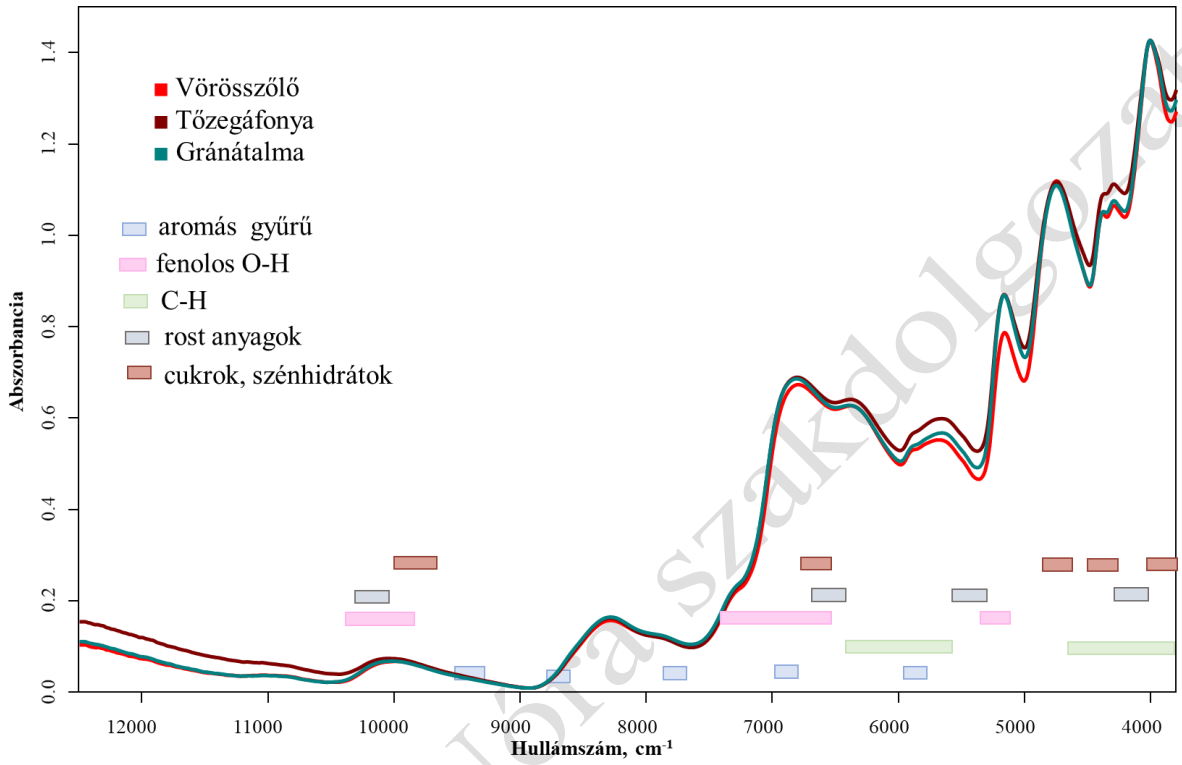



*15. ábra: Egyes minták átlagos összes antocianin tartalma*

Amit egyértelműen láthatunk, hogy a gránátalma összes antocianin tartalma elmarad a vörös szőlő és a tőzegáfonya értékétől.
Amíg a TPC és a FRAP értékek szempontjából a gránátalma jellemezhető a legnagyobb értékkel, addig az összes antocianin tartalom szempontjából a gránátalma rendelkezik a legkisebb koncentrációval. Hasonló összefüggésre jutott Shibata és munkatársai (2021) különböző áfonya minták vizsgálata során.

### 5.4. FT-NIR spektrumok kiértékelése

A háromféle liofilizált gyümölcspor spektrumait elsősorban minőségi szempontból vetettem össze. Kerestem azokat a jellegzetes rezgési területeket, amely szempontjából a minták elkülöníthetők (16. ábra).




*16. ábra: Liofilizált gyümölcsporok diffúz-reflexiós nyers spektruma*

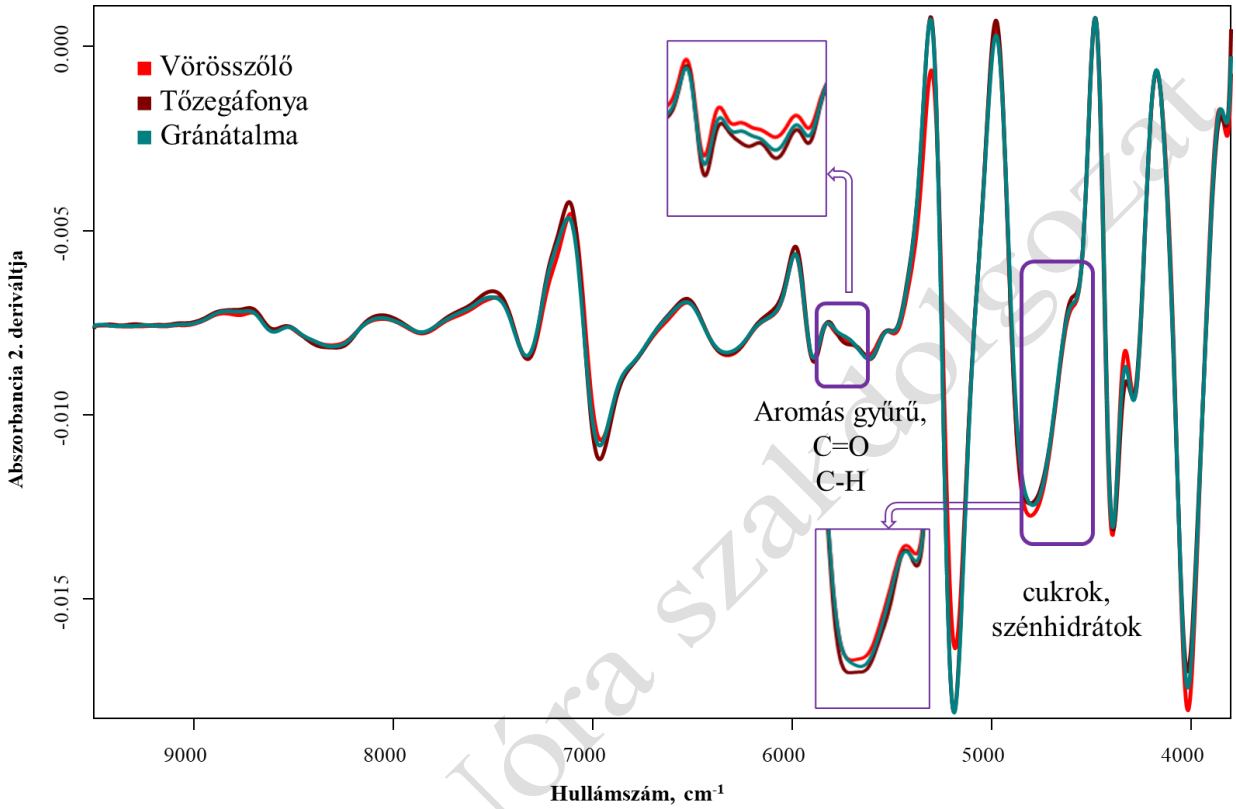
A vizsgált gyümölcsporokra jellemző szerves molekulák szerkezetei alapján elsősorban aromás gyűrű, fenolos O – H csoportok, C – H láncok, valamint különböző rostanyagok és cukrok rezgési területeit (12. ábra) hasonlítottam össze. A spektrum 12 500 – 10 500 $cm^{-1}$ hullámszám tartományban – a diffúz-reflexiós spektrumoknak megfelelően - nem hordoz információt. Az első csúcsot 10 500 – 10 000 – 9 500 $cm^{-1}$ tartományban észleljük. Ez a terület jellemzően az aromás gyűrű, a fenolos O – H valamint a rostokban és a cukrokban található C – H rezgések harmadik felhangjával hozható összefüggésbe.

A középső infravörös tartomány felé haladva, egyre több csúcs észlelhető. Ezek gyakran átlapolnak egymáson, emiatt nem éles csúcsokat, hanem szétterülő sávokat figyelhetünk meg. Ahogy az ábrán is látható, egy-egy területhez a legtöbb esetben több molekulacsoport rezgési átmenete tartozik.

Galfalvy Nóra szakdolgozat

Megállapítható, hogy a nyers spektrumokban spektrális eltérés a háromféle gyümölcspor között nem látható.

Ahhoz, hogy az esetleges minőségi eltéréseket fel tudjuk deríteni, érdemes a spektrumok második deriváltját megvizsgálni (17. ábra).




*17. ábra: Liofilizált gyümölcsporok diffúz reflexiós NIR spektrumainak második deriváltja*

Ahogy az várható volt, a második derivált görbén már láthatók finom eltérések a görbék között, ezeket ki is emeltem. A karakterisztikus eltérések 5900 – 5400 $cm^{-1}$, valamint 4800 – 4400 $cm^{-1}$ hullámszám tartományban figyelhetők meg. Ezek a területek jellemzően az aromás gyűrűvel, a C=O kötéssel, valamint a C – H kötésekkel vannak összefüggésben, így jellemzően a polifenolok eltérő minőségére utal az itt tapasztalt különbség. Az utóbbi területeken mutatkozó eltérés elsősorban szénhidrátok – alapvetően rostok - eltérő minőségével van összefüggésben.

Természetesen arra nem tudunk választ adni a spektrumok alapján, hogy a minőségi eltérés hátterében konkrétan milyen vegyületek állnak. Ennek megállapítására kapcsolt analitikai rendszerek alkalmasak.

Gálfalvy Nóra szakdolgozat

# 6. ÖSSZEFOGLALÁS

Munkám során kereskedelmi forgalomban kapható liofilizát gyümölcsporok (gránátalma, vörös szőlő és tőzegáfonya) összes polifenol tartalmát, antioxidáns kapacitását és összes antocianin koncentrációját vizsgáltam és határoztam meg annak érdekében, hogy megállapítható legyen melyik gyümölcspor fogyasztása járhat a legtöbb jótékony hatással. A gyümölcsminták beltartalmi paramétereit közeli infravörös spektroszkópia segítségével vizsgáltam, majd hasonlítottam össze egymással.

Az összes polifenol tartalom meghatározását TPC (Total Polyphenol Content) módszer segítségével végeztem. Az eredmények megegyeztek a szakirodalomban közölt eredményekkel, miszerint a gránátalma összes polifenol tartalma szignifikánsan nagyobbnak bizonyult a vörös szőlőhöz és a tőzegáfonyához képest, valamint az utóbb említett két minta TPC értékei között szignifikáns eltérés nem volt kimutatható.

A FRAP (Ferric Reducing Ability of Plasma) módszerrel végzett antioxidáns kapacitás mérés során megállapítható volt, hogy a gránátalma FRAP eredményei szignifikánsan nagyobbak, mint az egymáshoz képest szignifikáns eltérést nem mutató vörös szőlő és a tőzegáfonya esetében.

Az összes antocianin koncentráció meghatározása pH differenciális módszerrel valósult meg, az eredmények alapján a gránátalma összes antocianin tartalma nagy mértékben elmaradt a másik két vizsgált mintáéhoz képest.

A Fourier transzformációs közeli infravörös spektroszkópiás vizsgálat során a minták felvett spektrumai között elsősorban minőségi szempontból kerestem az eltéréseket. A minták diffúz-reflexiós nyers spektrumai alapján a három minta elkülönítése nem volt lehetséges, az esetleges minőségi eltérések felderítése érdekében a nyers spektrum második deriváltját vizsgáltam. Meghatározó eltérések az aromás gyűrűvel-, C=O kötéssel-, illetve C – H kötésekkel összefüggésben álló hullámhosszokon voltak megfigyelhetők, amely jelenség a polifenolok minőségbeli eltérésére enged következtetni. A minőségi eltérések hátterében álló vegyületek azonosításához kapcsolt analitikai rendszerek alkalmazására lenne szükség, a spektrumok alapján ezen vegyületek meghatározása nem lehetséges.

Galfalvy Nóra szakdolgozat

# IRODALOMJEGYZÉK


1. Adwas AA, Elsayed ASI, Azab AE, et al.(2019): Oxidative stress and antioxidant mechanisms in human body. *J Appl Biotechnol Bioeng*. 2019;6(1):43-47. DOI:10.15406/jabb.2019.06.00173
2. Norma Francenia Santos-Sánchez, Raúl Salas-Coronado, Claudia Villanueva-Cañongo and Beatriz Hernández-Carlos (2019): Antioxidant Compounds and Their Antioxidant Mechanism, 2-12 DOI: 10.5772/intechopen.83544
3. Szalóki-Dorkó Lilla (2016): Fekete bodza színanyagainak átfogó analitikai vizsgálata élelmiszer-technológiai eljárások során, Budapest, Szent István Egyetem, Élelmiszertudományi Doktori Iskola http://real-phd.mtak.hu/1407/1/Szaloki-Dorko_Lilla_ertekezes_DOI.pdf
4. Bruker.com: Spectroscopy basics, Why FT-NIR? https://www.bruker.com/en/products-and-solutions/infrared-and-raman/ft-nir-spectrometers/what-is-ft-nir-spectroscopy.html
5. Haminiuk, C. W. I., Maciel, G. M., Plata-Oviedo, M. S. V., & Peralta, R. M. (2012). *Phenolic compounds in fruits - an overview. International Journal of Food Science & Technology, 47(10), 2023–2044.* DOI:10.1111/j.1365-2621.2012.03067.x
6. Singleton V. L. és Rossi J. A. (1965): Colometry of Total Phenolic Compounds with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, (16):144-158
7. Giusti, M.M., Wrolstad, R.E., (2001): Characterization and Measurement of Anthocyanins by UV-Visible Spectroscopy. Current Protocols in Food Analytical Chemistry (F1.2.1-F1.2.13.) https://doi.org/10.1002/0471142913.faf0102s00
8. Benzie, I.F.F., Strain, J.J. (1996): The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measureof "antioxidant power": The FRAP assay. Anal. Biochem., (239): 70–76.
9. Ribárszki Ákos (2022): Acerola és aszkorbinsav hatása nagyüzemi, aszeptikusan előállított alma- és meggylé minőségére tárolás során, Doktori értekezés, Magyar Agrár – és Élettudományi Egyetem, Gödöllő https://uni-mate.hu/documents/20123/336900/Ribarszki_Akos-ertekezes.pdf/69c88475-bd56-0501-78dc-cae701badf5d?t=1659689464040
10. Balogh Emőke (2010): Antioxidáns kapacitás meghatározása és ennek kialakításában szerepet játszó vegyületek vizsgálata bogyós gyümölcsök esetében, Doktori értekezés, Budapesti Corvinus Egyetem, Alkalmazott Kémia Tanszék http://phd.lib.uni-corvinus.hu/537/3/balogh_emoke_thu.pdf


Galfalvy Nóra szakdolgozat

11. Bazár György (2011): Közeli infravörös spektroszkópia alkalmazási lehetőségei sertéshús és húskészítmények, valamint sertészsír minősítésére, Kaposvár, Kaposvári Egyetem, Állattudományi Kar, Mezőgazdasági Termékfeldolgozás és Minősítés Tanszék
12. Hanzelikné Szabó Éva (2021): Gyógyszeripari minőségbiztostásra szolgáló infravörös spektroszkópiai módszerek, PhD értekezés
13. Vízmegoldás: https://vizmegoldas.hu/taplalkozas/antioxidansok/
14. Szigedi T. (2013): Módszerejlesztés, Fourier-transzformációs közeli infravörös technika (FT-NIR) alkalmazási körének kibővítésére élelmiszeripari mintákon, Budapest, Budapesti Corvinus Egyetem, Élelmiszertuományi Doktori Iskola, Doktori Dolgozat
15. Kirsten Berger, Johanna Josefine Ostberg-Potthoff, Tamara Bakuradze, Peter Winterhalter, Elke Richling (2020): Carbohydrate Hydrolase-Inhibitory Activity of Juice-Based Phenolic Extracts in Correlation to Their Anthocyanin/Copigment Profile, *Molecules* 2020, 25(22), 5224; https://doi.org/10.3390/molecules25225224
16. Lugasi A., Blázovics A. (2001): Az egészséges táplálkozás tudományos alapjai. Fodor József Országos Közegészségügyi Központ, Budapest
17. Osborne B. G. (1981): Principles and practice of near infra-red (NIR) reflectance analysis, *International Food Science and Technology*, 16:(1) 13-19
18. Ivanova A., Gerasimova E., Gazizullina E. (2020): Study of Antioxidant Properties of Agents from the Perspective of Their Action Mechanisms, *Molecules* 2020 Sep; 25(18):4251, DOI: 10.3390/molecules25184251
19. Shibata Y., Ohara K., Matsumoto K., Hasegawa t., Akimoto M. (2021): Total Antocyanin Content, Total Phenolic Content, and Antioxidant Activity of Various Blueberry Cultivars Grown in Togane, Chiba Prefecture, Japan. *Journal of Nutritional Science and Vitaminology*, 67:(3) 201-209, DOI: https://doi.org/10.3177/jnsv.67.201
20. Liu Q., Tang G.-Y., Zhao C.-N., Gan R.-Y., Li H.-B. (2019): Antioxidant Activities, Phenolic Profiles, and Organic Acid Contents of Fruit Vinegars. *Antioxidants*, 2019, 8(4), 78,
21. Brouillard R. (1982): Chemical structure of antocyanins, *Antocyanins as Food Color*. New York: Academic Press
22. Nakajima J., Tanaka I, Seo S., Yamazaki M., Saito K. (2004): LC/PDAESI-MS Profiling and Radical Scavenging Activity of Antocyanins in Various Berries. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, (5): 241-247
23. Molnár P. (2013): Karotinoidok és szteroidok, Pécsi Tudományegyetem, jegyzet

Gáffay Nóra szakdolgozat

24. Zhou Y., Cao Y., Li J., Agar O. T., Barrow C., Dunshea F., Suleira H. A. R. (2023): Screening and characterization of phenolic compounds by LC-ESI-QTOF-MS/MS and their antioxidant potentials in papaya fruit and their by-products activities, *Food Bioscience, vol.52.*, DOI: 10.1016/j.fbio.2023.102480
25. Rizvi S., Raza S.T., Faizal Ahmed, Absar Ahmad, Shania Abbas, Farzana Mahdi (2014): The Role of Vitamin E in Human Health and Some Diseases, *Sultan Quabos University Medical Journal*, 14(2): e157-e165 https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3997530/
26. The Lipid Web: A tokoferol szerkezete https://www.lipidmaps.org/resources/lipidweb/lipidweb_html/lipids/simple/tocol/index.htm
27. Zarfeshany A., Asgary S., Javanmard S.H. (2014): Potent health effects of pomegranate, *Advanced Biomedical Research*, 3:100, DOI: 10.4103/2277-9175.129371
28. Zhou D.-D., Li J., Xiong R.-G., Saimaiti A., Huang S.-Y., Wu S.-X., Yang Z.-J., Shang A., Zhao C.-N., Gan R.-Y., Li H.-B. (2022): Bioactive Compounds, Health Benefits and Food Applications of Grape, *Foods*, 11(18):2755, DOI: 10.3390/foods11182755
29. Nemzer B.V., Al-Taher F., Yashin A., Revelsky I., Yashin Y. (2022): Cranberry: Chemical Composition, Antioxidant Activity and Impact on Human Health: Owerview. *Molecules* 27(5): 1503, DOI: 10.3390/molecules27051503

Gálfalvy Nóra szakdolgozat

# ÁBRAJEGYZÉK

1. ábra: Elektronátadás antioxidánsról szabadgyökre (Vízmegoldás) ..... 8
2. ábra: Az antocianin felépítése (Bolfné-Csorba, 2021; Nakajima et al., 2004) ..... 9
3. ábra: Béta-karotin szerkezeti képlete (Molnár, 2013) ..... 10
4. ábra: Az aszkorbinsav átalakulási folyamatai (saját ábra) ..... 11
5. ábra: A tokoferol szerkezete (The Lipid Web) ..... 12
6. ábra: Elektromágneses sugárzás tartományai (Bruker.com) ..... 14
7. ábra: FT-NIR spektrum és néhány jellegzetes terület (Bruker.com) ..... 15
8. ábra: Transzmissziós mérési elrendezés (saját ábra) ..... 18
9. ábra: Diffúz reflexió és transzflexió jelensége (saját ábra) ..... 19
10. ábra: Bruker MPA FT-NIR készülék (saját fotó) ..... 24
11. ábra: Kalibrációs összefüggés TPC meghatározáshoz ..... 25
12. ábra: Gyümölcsporok TPC eredményei ..... 27
13. ábra: FRAP mérés kalibrációs összefüggése ..... 27
14. ábra: Gyümölcs porok FRAP értéke ..... 28
15. ábra: Egyes minták átlagos összes antocianin tartalma ..... 29
16. ábra: Liofilizált gyümölcsporok diffúz-reflexiós nyers spektruma ..... 30
17. ábra: Liofilizált gyümölcsporok diffúz reflexiós NIR spektrumainak második deriváltja ..... 31

Gálfalvy Nóra szakdolgozat

# TÁBLÁZATOK

1. táblázat: Antioxidáns kapacitás meghatározási módszerek csoportosítása (Ivanova et al., 2020) .....13
2. táblázat: Vizsgált minta összetevői.....20
3. táblázat: A mintaelőkészítés adatai.....21
4. táblázat: TPC kalibrációs oldatok összeállítása.....25
5. táblázat: TPC mérési adatok.....26
6. táblázat: FRAP mérési eredmények .....28

Gálfalvy Nóra szakdolgozat

**NYILATKOZAT**

**a záródolgozat/szakdolgozat/diplomadolgozat/portfólió[1] nyilvános hozzáféréséről és eredetiségéről**

| | |
|---|---|
| A hallgató neve: | Gálfalvy Nóra |
| A Hallgató Neptun kódja: | N109TQ |
| A dolgozat címe: | Gyümölcsminták endogén komponenseinek klasszikus és FT-NIR vizsgálata |
| A megjelenés éve: | 2023 |
| A konzulens tanszék neve: | Élelmiszerkémia és Analitika Tanszék |

Kijelentem, hogy az általam benyújtott záródolgozat/szakdolgozat/diplomadolgozat/portfólió[2] egyéni, eredeti jellegű, saját szellemi alkotásom. Azon részeket, melyeket más szerzők munkájából vettem át, egyértelműen megjelöltem, s az irodalomjegyzékben szerepeltettem.

Ha a fenti nyilatkozattal valótlant 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 mindenkori szellemitulajdon-kezelési szabályzatában megfogalmazottak érvényesek.

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

Kelt: Budapest, 2023. április 27.

Gálfalvy Nóra

Hallgató aláírása

[1] A megfelelő dolgozattípus meghagyása mellett a többi típus törlendő.
[2] A megfelelő dolgozattípus meghagyása mellett a többi típus törlendő.

**KONZULTÁCIÓS**
**NYILATKOZAT**

A GÁLFALVY NÓRA (hallgató Neptun azonosítója: N109TQ) konzulenseként nyilatkozom arról, hogy a szakdolgozatot áttekintettem, a hallgatót az irodalmi források korrekt kezelésének követelményeiről, jogi és etikai szabályairól tájékoztattam.

A szakdolgozatot a záróvizsgán történő <u>védésre javaslom</u> / nem javaslom[1].

A dolgozat állam- vagy szolgálati titkot tartalmaz: igen <u>nem</u>*[2]

Kelt: Budapest, 2023. év április hó 21 nap

Belső konzulens
Dr. Fodor Marietta

[1] A megfelelő aláhúzandó.
[2] A megfelelő aláhúzandó.

# KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Köszönettel tartozom témavezetőmnek, Dr. Fodor Mariettának, aki végtelen türelmével, jóindulatával és inspiráló szakmaiságával segítette dolgozatom elkészülését, támogatott a téma mélyebb megismerésében és felkeltette érdeklődésemet az analitikai kémia tudománya iránt.

Külön köszönet illeti Rédei Rékát, aki önzetlenül segített a laboratóriumi munkafolyamatok elvégzésében és segítő kezet nyújtott a mérési eredmények feldolgozásában.

Köszönöm továbbá Hegyi Áronnak, aki szakmai észrevételeivel, lelkesítő magatartásával és baráti támogatásával segítette szakdolgozatom elkészülését.

Külön köszönöm a családomnak és a barátaimnak, hogy tanulmányaim és betegségem idején is mindenben támogattak.

Gálfalvy Nóra szakdolgozat