

SZAKDOLGOZAT

Dettre Anna Szakdolgozat

Dettre Anna

2023



**Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem
Budai Campus
Élelmiszertudományi és Technológiai Intézet
élelmiszermérnök alapképzési szak**

**BORSMENTA ÉRTÉKES KOMPONENSEINEK
KINYERÉSE ULTRAHANGGAL SEGÍTETT
EXTRAKCIÓVAL**

Belső konzulensek: Molnár Máté András
egyetemi tanársegéd
Dr. Bánvölgyi Szilvia
egyetemi docens

**Belső konzulensek
intézete/tanszéke:** Élelmiszertudományi és
Technológiai Intézet /
Élelmiszeripari Műveletek
és Folyamattervezés
Tanszék

Készítette: Dettre Anna

**Budapest
2023**

TARTALOM

1.	BEVEZETÉS ÉS CÉLKITŰZÉSEK	2
2.	SZAKIRODALMI ÁTTEKINTÉS	5
2.1	GYÓGY- ÉS FŰSZERNÖVÉNYEK	5
2.2	BORSMENTA.....	5
2.2.1	<i>Borsmenta eredete</i>	5
2.2.2	<i>Növényteni jellemzői</i>	6
2.2.3	<i>Felhasználása</i>	6
2.2.4	<i>Értékes komponensei</i>	7
2.3	ANTIOXIDÁNSOK ÉS SZABADGYÖKÖK KAPCSOLATA	8
2.4	POLIFENOLOK	9
2.5	ÉRTÉKES KOMPONENSEK VISSZANYERÉSE	10
2.5.1	<i>Elválasztás extrakció útján.....</i>	10
2.5.2	<i>Szilárd-folyadék extrakció.....</i>	11
2.5.3	<i>Extraháló oldószer kiválasztása.....</i>	11
2.5.4	<i>Ultrahanggal segített extrakció.....</i>	12
2.6	ANALITIKAI VIZSGÁLATOK	13
2.6.1	<i>Összes polifenol tartalom meghatározása.....</i>	13
2.6.2	<i>Antioxidáns kapacitás meghatározása vasredukáló-képesség alapján.....</i>	13
3.	ALKALMAZOTT MÓDSZEREK.....	15
3.1	FELHASZNÁLT ANYAGOK	15
3.1.1	<i>Vizsgált minták</i>	15
3.1.2	<i>Alkalmazott vegyszerek.....</i>	15
3.2	MÓDSZEREK, GYAKORLAT LEÍRÁSA.....	16
3.2.1	<i>Kísérletterv összeállítása.....</i>	16
3.2.2	<i>Borsmenta kivonatok elkészítése</i>	16
3.2.3	<i>Összes polifenol tartalom vizsgálata.....</i>	18
3.2.4	<i>Antioxidáns kapacitás meghatározása</i>	21
4.	EREDMÉNYEK ÉS ÉRTÉKELÉSÜK	23
4.1	BORSMENTA ÖSSZES POLIFENOL TARTALMÁNAK VIZSGÁLATA.....	23
4.2	BORSMENTA ANTIOXIDÁNS KAPACITÁSÁNAK VIZSGÁLATA.....	26
5.	KÖVETKEZTETÉSEK ÉS JAVASLATOK.....	29
6.	ÖSSZEFOGLALÁS.....	31
7.	IRODALOMJEGYZÉK.....	32
8.	TÁBLÁZATOK ÉS ÁBRÁK JEGYZÉKE	36

1. BEVEZETÉS ÉS CÉLKITŰZÉSEK

A gyógynövények már több évszázad óta ismertek, az első feljegyzések egészen a középkorig vezethetők vissza. Ebben az időszakban került a növényfajok jelentős része a Kárpát-medence területére, többek között a *Lamiaceae* fajok is, amelyekhez a borsmenta is tartozik, és ezek a növények egészen napjainkig nagy szerepet töltenek be az emberek életében. De mi is okozta a gyógynövények termesztésének és felhasználásának jelentőségét? Bizonyára mindenki számára ismert, hogy a világháborúk milyen veszteségekkel jártak, amelyek nem kímélték a gyógyszeripart sem. Óriási gyógyszerhiány alakult ki az I. világháború idején, ezek pótlását igyekeztek megoldani gyógynövényekkel. Magyarország ebben az időben mondhatni „gyógynövény nagyhatalommá” cseperedett, aminek hatására 1915-ben létrehozták a Földművelésügyi Minisztérium rendelete alapján a Gyógynövény Kísérleti Állomást. Köszönhetően a kedvező éghajlati viszonyoknak, hazánkban a drog- és illóolaj-termelésen alapuló export fellendült, és a 20-as években elkezdtek illóolajat is gyártani. Ezzel együtt a borsmenta, a *Mentha x piperita* nagyobb léptékű termesztése is kezdetét vette, hiszen a többi gyógynövényhez hasonlóan, a borsmenta is gazdag hasznos komponensekben, többek között antioxidánsokban is.

1941-re már évi 8500 kg borsmentát termesztettek Magyarországon. Sajnálatos módon a II. világháború okozta károk teremtték meg a lehetőséget a gyógynövények további kutatására. Ez a fellépő tea- és gyógyszerhiánynak volt „köszönhető”. Nem csak a növények kutatását kezdték meg, hanem a feldolgozási módszerek fejlesztésébe is belefogtak, hiszen nem elegendő a termesztési technikák elsajátítása és azok tökéletesítése, a hasznos komponensek kinyerésének módja is rendkívül fontos szerepet játszik

Hamarosan sikerágazatként tekintettek a gyógynövényekkel foglalkozó területekre, amik még ma is „nemzeti” terméként jelennek meg az exportpiacon. Az illóolajok kinyerésére egy kiváló eljárás az extrakció, mivel amellet, hogy sokféleképpen megvalósítható, kíméletes módszer, ami nem minden esetben jár nagy hőközléssel, így a kinyerni kívánt komponensek megőrzése a lehető legmagasabb mértékben elérhető. Az, hogy milyen minőségű kivonatot sikerül előállítani, függ az extrakciós eljárástól, ezért erre nem alakult ki pontos, rögzített követelmény, ellenben a desztillációval kinyert illóolajokra. (Bernáth et al., 2000). Munkám során ultrahanggal segített extrakciós eljárást alkalmaztam, amelyet a későbbiekben bemutatok. A kísérlettel a borsmentában lévő antioxidánsokra szeretném felhívni a figyelmet, és annak jótékony hatásaira, hiszen az emberi szervezet nem képes minden, számára szükséges molekula

előállítására, így gondoskodnunk kell arról, hogy ezekből kellő mennyiséget juttassunk be egészségünk megőrzésének érdekében. Ezekre kiváló lehetőséget kínálnak nekünk a funkcionális élelmiszerek, mivel lehetővé teszik az esetleges betegségek megelőzését, köszönhetően a bennük lévő hasznos tápanyagoknak, ebből adódóan egyre nagyobb népszerűségnek örvendenek. (Sridhar és Charles 2021).

A gyógynövények felhasználása kifejezetten sokrétű, és bár annak ellenére, hogy talán a legtöbbeknek a borsmentáról annak mentol tartalma jut eszébe, amely nem utolsósorban a fő hatóanyaga, érdemes foglalkozni a növény antioxidáns tartalmával is, mivel sok hasznos élettani hatással bírnak. Személy szerint mindennap igyekszem elfogyasztani egy gyógynövény teát, és az egészséges életmód „receptjének” egy része is az én esetemben az, hogy a vitaminok mellett gyógynövények kivonatait tartalmazó étrendkiegészítőket is fogyasztok, természetesen mindezt az egészséges táplálkozással és megfelelő mennyiségű és minőségű mozgással kiegészítve. Alapvetően is fontosnak tartom a korábban felsoroltak betartását, de az én helyzetem indokolja egy betegség révén, hogy kiemelt figyelmet fordítsak az egészségemre. Nemrégiben a gyógyulásomhoz felkerestem egy endokrinológust, aki a hormonháztartással foglalkozó szakember, és nagy örömmel nem gyógyszeres kezelést javasolt, hanem gyógynövényes étrend kiegészítők szedését helyezte előtérbe. Így megfelelően tudok arról gondoskodni, hogy mindent megadjak a szervezetemnek, amire szüksége van. Itt fogalmazódott meg bennem, hogy szeretném jobban megismerni a gyógynövények világát, és szeretném ismerni az ezzel foglalkozó technológiákat is, melyre tökéletes lehetőséget biztosított számomra a szakdolgozat elkészítése.

Kutatásaim alapján kevés vizsgálat foglalkozik ultrahanggal elősegített extrakcióval borsmenta esetén, így szerettem volna utánajárni, hogy ezzel az olcsó, könnyű, kíméletes és drága eszközöket nem igénylő eljárással milyen extraktumot tudok előállítani. A kísérlet folyamán három paramétert változtattam annak érdekében, hogy antioxidánsban a lehető leggazdagabb extraktumot állítsam elő, mindezt minél gazdaságosabb úton.

Vizsgálataim során célom az volt, hogy megfelelő paramétereket biztosítsak ahhoz, hogy a jövőben esetleg más élelmiszerek dúsítására alkalmas legyen a borsmenta. Az esetlegesen elkészített extraktum kapszulázása is egy lehetséges opció, hiszen remek étrendkiegészítőként szolgál, mivel ez is egy funkcionális élelmiszer.

A kutatás szükségességét a funkcionális élelmiszerek iránti kereslet globális növekedése is alátámasztja. Egyre nagyobb az igény az olyan élelmiszerekre, amelyeknek köszönhetően a bennük lévő tápanyagoknak pozitív hatást fejtenek ki az egészségünkre. A fogyasztók ma már nem csak az éhségérzet csökkentésére törekszenek, hanem az élelmiszerek segítségével a

táplálkozással összefüggő betegségek és a mentális jólét is fontos szempontok. (Betoret et al., 2018)

Nem utolsó sorban ezt élelmiszerkereskedelmi szempontból is fontosnak tartom, hiszen azt feltételezem, hogy növelheti is akár egy adott élelmiszer értékét, ha az gyógynövényekben is gazdag, illetve az eltarthatósági időt is képes lehet növelni.

Dettre Anna Szakdolgozat

2. SZAKIRODALMI ÁTTEKINTÉS

2.1 Gyógy- és fűszernövények

Gyógynövényeknek azokat a növényeket nevezzük, amelyek gyógyító tulajdonsággal rendelkeznek. Ezen tulajdonságok hatására sok betegség megelőzhető, kezelhető emberi és állati szervezetekben egyaránt (Namdeo, 2018). A gyógy- és fűszernövények között előfordulnak olyan fajok, amelyeket kizárólag gyógyászati céllal termesztnek és használnak, de vannak olyan növények is, amelyeket aromájuk, illóolajtartalmuk és ízük miatt (is) előszeretettel termelnek, ezeket aromás gyógynövényeknek nevezzük (Saha és Basak, 2020).

A gyógynövények rendkívül fontos szerepet töltenek be az emberi egészség és jólét fenntartásában (Arcury et al., 2007), ebből adódóan nem véletlen, hogy már egészen a középkor óta alkalmazzuk őket és a mai napig is nagy népszerűségnek örvendenek (Pan et al., 2014; Semeniuc et al., 2017). Mondhatni napjainkban éljük a gyógynövények „reneszánszát”, hiszen a WHO, azaz az Egészségügyi Világszervezet szerint a világ lakosságának 75%-a használ valamilyen gyógynövényt az egészségének megőrzése érdekében. Egészen a mai napig, közel 53.000 faj kerül felhasználásra, és ezen fajok jelentős részét a hatalmas mértékű kereslet miatt a kihalás veszélye is fenyegeti (Pan et al., 2014).

2.2 Borsmenta

2.2.1 Borsmenta eredete

Mentha x piperita közismert nevén borsmentalevél, az árvacsalánfélék családjába tartozik. A *Mentha aquatica* és a *Mentha spicata* spontán hibridje, amely maga is egy hibrid: a *Mentha longifolia* L. (Nath) és a *Mentha rotundifolia* (L. Huds) ötvözete.

A Magyar Gyógyszerkönyv nyolcadik kiadásában (Ph. Hg. VIII.) és az Európai Gyógyszerkönyv tizedik, első kötetében (Ph. Eur.) szereplő módosítások fényében a *Mentha piperitae aetheroleum* (borsmentaolaj), *Menthae piperitae folium* (borsmentalevél) és *Menthae piperitae folii extractum siccum* (borsmentalevél száraz kivonata) ezen felül természetes gyógyszernek, azaz növényi drognak minősíthető (Böszörményi, 2016).

A Nemzeti Élelmiszerlánc- Biztonsági Hivatal 2023-as Nemzeti Fajtajegyzék kiadványa alapján a borsmentának, mint gyógy- és fűszernövénynek két elismert alfajtája van: *Mitcham* és *Mexián*.

2.2.2 Növényteni jellemzői

A borsmenta szögletes szárú, körülbelül 60-80 cm magas növény (1. ábra). Leveleire jellemző, hogy keresztben átellenesek, levélgye körülbelül 1 cm hosszúságú, gyakran antociános. A levél lemeze nyújtott ellipszis vagy lándzsa alakú, aminek csúcsa hegyes, válla pedig vagy szív alakú, vagy lekerekített, fűrészes szélű, minden esetben szárnyas erezetű, és az erek mentén szőrös. A felszíne sötétzöld színű, de a fonák ettől világosabb (Böszörményi, 2016).

1. ábra: A borsmenta

(Forrás: <http1>)



2.2.3 Felhasználása

Rendkívül sok területen alkalmazzák, mivel a mentol görcsoldó hatása ellazítja a bélrendszer simaizmaait azáltal, hogy csökkenti a Ca^{2+} beáramlását és az idegsejtek ingerlékenységét. Belsőleg a mentol használható a funkcionális diszpepszia enyhítésére, amely

egy étkezést követően égő, fájó érzést keltő emésztőrendszeri betegség, hányingerrel, émelygéssel, puffadással jár. Illetve az epeúti és bélrendszeri görcsök kezelésére is hatékony, köszönhetően antioxidáns tartalmának. Külsőleg az orrdugulás, az orr- és garatgyulladás, valamint a viszkető bőrtünetek csökkentésére használható. A flavonoidoknak köszönhetően epehajtó hatása is van, valamint köptető hatása csökkenti a sűrű nyálka termelődését a hörgőkben, miközben növeli a vékonyabb váladékot termelő mirigyek aktivitását.

Okozhat bronchus görcsöt (hörghurut) gyerekeknél, és az erre érzékeny személyeknél, légzésbénuláshoz vezethet, ezért 3 éves kor alatt tilos, 10 éves kor alatt pedig nem ajánlott a használata, ellenben fodomentalevéllel lehet helyettesíteni, mert az mentolt nem tartalmaz. Fontos azt is megemlíteni, hogy GI refluxot is okozhat, amely során a gyomor savas tartalma visszakerül a nyelőcsőbe a nyelőcső-szfinkter relaxációja miatt, illetve krónikus esetekben nephritist, azaz vesegyulladást, veseelégtelenséget, és nagy dózisban bradikardiát okoz, amely a szívritmuszavar egy fajtája, melynek során a szív nyugalmi állapotban 60-nál kevesebb összehúzódást végez (Böszörményi, 2016).

Egy korábbi vizsgálat alapján a borsmentalevél jó antioxidáns aktivitása révén jótékony hatást gyakorolt a fruktóz által kiváltott hiperlipidémia, azaz magas vérzsír szint ellen. Emellett jelentősen csökkentette a glükóz, az LDL-koleszterin és a trigliceridek szintjét, ellenben emelte a HDL-koleszterin szintjét, így hozzájárulhat az érelmeszesedés megelőzéséhez (Barbalho et al., 2011).

2.2.4 Értékes komponensei

A borsmenta tartalmi összetevőiben 1-2%-ban tartalmaz illóolajakat, ezen kívül cserzőanyagok, keserűanyagok, antocián származékok alkotják. Az antociánok egy olyan színanyag csoport, amelyek pH-tól függően változtatják a színüket a kéktől kezdve a pirosig. Tartalmaz ezeken kívül nagy mértékben antioxidánsokat is, például flavonoidot. Az illóolájának összetevői legnagyobb arányban, azaz 50-70%-ban mentol, 7-25%-ban menton, 5-20%-ban mentol-észter, és ezeken kívül tartalmaz piperitont és pulgeont. Az említett illóolajok mentoltartalma pedig a következőképpen alakul: magyarországi mentaolaj 45-50%, japán mentaolaj 90% (J'oll Menthyl), csökkentett mentoltartalmú mezei mentaolaj 30-50%, markeranyaga izopulegol. (Böszörményi, 2016).

2.3 Antioxidánsok és szabadgyökök kapcsolata

Szabadgyököknek nevezzük azokat a molekulákat, amelyek a sejtekben lejátszódó oxidációs folyamatok következményeképpen keletkeznek. Oxigén-, nitrogén-, kén- vagy szénközpontú molekulák, amik rendelkeznek párosítatlan elektronnal a legkülső elektronhéjon. Ez a tulajdonságuk eredményezi azt, hogy agresszívak, hiszen rendkívül gyorsan reakcióba akarnak lépni más vegyületekkel elektronszerzés céljából, mivel élettartamuk csak a másodperc töredéke. (Cadenas, 1989).

A szabadgyökök képződése történhet természetesen végbemenő, normális anyagcsere folyamatok következtében is, ilyen például a terminális oxidáció, ami a biológiai oxidáció záró folyamata, egy jelentős energiát termelő folyamat. Emellett külső tényezők hatására is alakulhatnak ki szabadgyökök (Benzie, 2000). Ilyen külső tényezők például:

- toxinok,
- vegyi anyagok,
- környezetszennyezés,
- radioaktív és ultraibolya sugárzás,
- dohányfüst,
- szmog,
- stressz,
- túlzott mértékű alkoholfogyasztás (Dóczy et al., 2011).

A szabadgyökök rendkívül károsak, mivel amellet, hogy agresszívak, gyökös mechanizmusú láncreakció révén képesek károsítani a zsírsavmolekulákat, a szénhidrátokat, a fehérjéket és a nukleinsavakat, amelyek a sejten belüli információ hordozásáért felelősek. Ez a károsodás egy olyan láncreakciót idéz elő, amely szövet károsodást (Lugasi és Blázovics, 2004) okozhat, ami végső esetben akár nekrotikus sejtpusztuláshoz is vezethet.

Számottevő ételmszer romlásáért is szabadgyökös reakciók a felelősek, például ilyen az avasodás is, így mindenképpen érdemes védekezni ellenük.

Az antioxidánsok annak ellenére, hogy kicsiny mennyiségben vannak jelen az oxidálándó vegyülethez, azaz szabadgyökökhöz képest, mégis jelentős mértékben tudják gátolni, vagy akár csökkenteni is annak oxidációját. Így nem csak élettani szempontból fontosak, de az ételmszerek tartósítása kapcsán is érdemes lehet figyelembe venni alkalmazásukat. Az antioxidánsokat két nagy csoportba soroljuk: endogének és exogének. A

különbséget az adja, hogy az endogénok a szervezetünk által szintetizált antioxidánsok, míg az exogének a táplálékkal bevitt vegyületek. (Akgül és Aksoy, 2021).

A kísérlet folyamán a jelenlévő antioxidánsok típusait nem, csak azok mennyiségét vizsgáltam, de a legfontosabb antioxidánsok:

- vitaminok: C-vitamin, A-vitamin, E-vitamin, riboflavin, nikotinamid, niacin
- zsírok: omega-3 és -6 zsírsavak
- tiolok és aminosavak: glicin, glutamin, cisztein, taurin, hisztidin, N-acetil-cisztein
- anyagcseretermékek: liponsav, húgysav
- ásványi anyagok: szelén, cink, réz, vas
- proteinek, enzimek: albumin, tranfszerrin, kataláz, peroxidáz, szuperoxid-dizmutáz
- és végül, de nem utolsó sorban növényi metabolitok: polifenolok.

Az emberi szervezet ugyan képes enzimek, és bizonyos kismolekulájú vegyületek előállítására, de számos olyan molekulát nem tudunk szintetizálni, amelyekre egyébként szükségünk lenne. Ezekhez csak és kizárólag külső forrásból juthatunk hozzá, például: szelén, retinol (A-vitamin) (Vertuani et al., 2004).

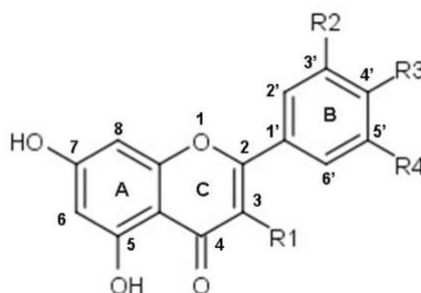
2.4 Polifenolok

Az aromás gyógynövények nagy mennyiségben tartalmaznak antioxidánsokat, mint például polifenolokat (2. ábra). A munkám során az összes polifenol tartalmat is vizsgáltam, amelyek a növényi metabolitokhoz tartoznak, két nagy csoportra osztjuk őket: flavonoidok és fenolsavak. Többek között lehetnek például karotinoidok., vitaminok. (Arias et al., 2022)

A polifenolok növényekben előforduló, fenolgyűrűkből álló bioaktív vegyületek, melyek a molekulaszervezetüket tekintve nagyon különbözőek.

2. ábra: A flavonoidok alapszerkezete

(Forrás: <http2>)



Több, mint 8000 különböző molekulát sorolunk a polifenolok csoportjába, ezek közül a természetben leggyakrabban előforduló formája az észteres és a glikozidos (Pereira et al., 2016). Az, hogy az adott polifenolnak milyen jellegzetes tulajdonságai vannak, függ a vegyület fizikai; kémiai és biológiai jellemzőitől. Tömegesen kutatás foglalkozik a polifenolokkal, hiszen rendkívül sok jótékony hatást fejtenek ki az emberi szervezetre (Manach et al., 2005). Az első vizsgálatok során a polifenolok antioxidáns hatására figyeltek fel, de az évek alatt bebizonyosodott, hogy ettől jóval összetettebb a hatásuk (Masella et al., 2005), ugyanis képesek többek között meggátolni a rákos sejtek osztódását (Naasani et al., 2003). A polifenolok a növényeket is képesek felruházni különböző védő funkciókkal, például képesek elnyelni az ultraviolasugárzást, és védelmet nyújtanak a patogén mikroorganizmusokkal szemben is. Emellett segítik a növények pigmentációjának kialakulását, szerepet játszanak az antociánok kialakulásában, ez jellemző a borsmentára is (Szilvássy 2014).

2.5 Értékes komponensek visszanyerése

2.5.1 Elválasztás extrakció útján

Extrakció alatt meghatározott komponensek szelektív kioldását értjük. Az eljárás során két fázist érintkeztetünk: a leadó fázist a felvevő fázissal. A leadó fázist más néven hordozóanyagnak is nevezzük, és ebből az anyagból, amely szilárd vagy folyékony halmazállapotú, oldjuk ki a felvevő fázis segítségével az értékes komponenst. Az extrakciót a fázisok halmazállapota szerint csoportosítjuk:

- Folyadék-folyadék extrakció, mely esetében a kiindulási anyag és az oldószer egyaránt folyadék fázisú.
- Szilárd-folyadék extrakció, mely esetében az oldószer továbbra is folyadék, viszont a kiindulási anyag szilárd halmazállapotú.
- Szilárd gáz extrakció, mely esetében a kiindulási anyag szilárd halmazállapotú, viszont az oldószer nagynyomású gáz. Ebben az esetben szuperkritikus extrakcióról beszélünk. (Simándi 2012).

Ezek alapján is elmondható, hogy a típust a leadó fázis halmazállapota határozza meg.

Az élelmiszeriparban több területen is alkalmazzák az extrakciós eljárást: növényi olajok és lipidek extrahálása; cukor előállítás; tea készítése; instant kávé készítése és különböző kivonatok előállítása. Gyógynövények hatóanyagtartalmának kinyerésére is

használatos technológia, melynek fejlesztését a funkcionális élelmiszerek összetevőinek és adalékanyagainak kutatása idézte elő (Simándi, 2012).

Továbbá az extrakció alkalmazása előnyösebb abban az esetben, ha az értékes komponens hőre esetleg érzékeny, és könnyen lebomlik magas hőmérsékleten (Molnár, 2021).

2.5.2 Szilárd-folyadék extrakció

Kísérletem során szilárd-folyadék extrakciót végeztem, mivel a leadó fázisom, a borsmenta, szilárd halmazállapotú, a felvevő fázisom pedig folyékony: etanol-desztillált víz elegye. A folyamat során az extraháló oldószer diffundál a hordozóanyagba, kitölti annak pórusait és érintkezésbe kerül ezen keresztül a hordozóanyagban lévő oldott anyaggal. (Ibarz és Barbosa-Cánovas, 2003). A folyamat végén fázissétválasztásra van szükség, így kapjuk meg az értékes komponensekben gazdag extraktumot és a raffinátumnak nevezett kilúgozott hordozóanyagot. Az extraktum az értékes komponens mellett extraháló oldószert is tartalmaz, így a teljesen tiszta, csak és kizárólag értékes komponenst tartalmazó fázis kinyeréséhez oldószer-visszanyerésre van szükség, ami történhet például lepárlással, bepárlással, vagy kristályosítással. A kísérletemben nem alkalmaztam oldószer-visszanyerést, mivel a jelenlévő antioxidánsok mennyiségét enélkül is meg tudtam állapítani.

2.5.3 Extraháló oldószer kiválasztása

Az extrakciós műveletekhez a megfelelő oldószer kiválasztása során olykor kompromisszumokat kell kötnünk, de vannak olyan alapvető feltételek, amelyeknek mindenképpen meg kell felelni. (Gulyás, 2011). Elengedhetetlen követelmény, hogy az oldószer rendelkezzen szelektív oldóképességgel, továbbá az alábbi szempontokat kell figyelembe venni a kiválasztás során:

- az értékes komponensre ne hasson károsan,
- legyen könnyen elpárologtatható,
- gőz, víz és melegítés hatására ne bomoljon,
- ne legyen tűz-, illetve robbanásveszélyes,
- olcsó legyen,
- legyen vegyileg és termikusan is stabil,
- legyen kicsi a fajhője, párolgáshője
- legyen kicsi a sűrűsége, viszkozitása,
- forráspontja ne legyen se túl kicsi, se túl nagy,

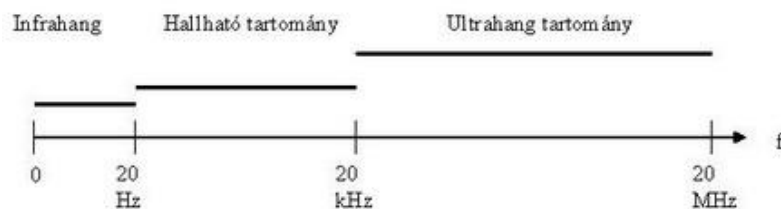
- legyen jó az „áthatolóképessége” (Cséfalvay és Mika, 2008).

2.5.4 Ultrahanggal segített extrakció

Ultrahangnak nevezzük azt a hanghullámot, amely 20 kHz-nél magasabb frekvenciájú (3. ábra) (Mason, Lorimer 2002). Amennyiben ultrahangot alkalmazunk egy folyadékkal feltöltött tartályban (jelen esetben etanol-desztillált víz elegye), akkor a folyadékban nyomás keletkezik, amely ingadozni kezd. Ezzel az ingadozással kavitációs buborékok keletkeznek, amely egy fizikai jelenség. Kavitáció során az ultrahang hatására keletkező hullámok által képződő buborékok összeroppanak. Ezek az egymásnak csattanó folyadékfelületek lökéshullámokat keltenek, ez pedig rezgéssel, illetve a környező szilárd testek sejtfalainak megrepedésével jár (4. ábra) (Yao et al., 2018). Ebből adódóan nem csak az oldószer hatására, hanem az ultrahang is elősegíti a sejtfalak és a membránok roncsolását, így képes növelni az anyagáramot az extrakció során (Lemmer et al., 2021). Kísérletem során a szilárd anyagot teljesen körül vette az oldószer, így törekedtem arra, hogy az oldószer a lehető legtöbb sejtfalat érintse, és ezen sejtfalak feltárását segítette elő az ultrahang.

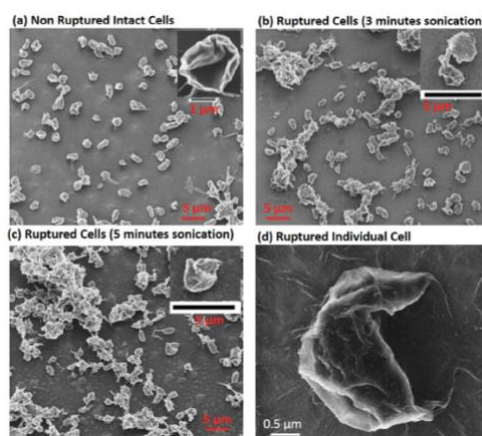
3. ábra: Hangtartományok

(Forrás: <http3>)



4. ábra: Sejtek megrepedése ultrahang hatására keletkező hullámok által

(Forrás: Yao et al., 2018)



2.6 Analitikai vizsgálatok

2.6.1 Összes polifenol tartalom meghatározása

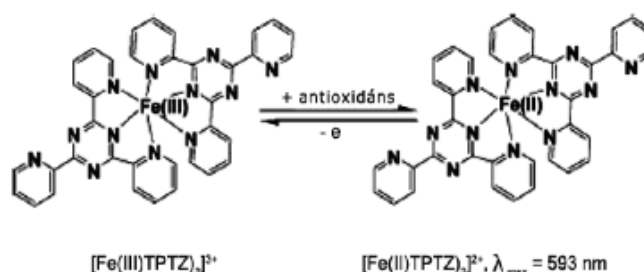
A vizsgált mintában jelenlévő polifenolok mennyiségének meghatározására a Folin-Ciocalteu reagenssel végzett Singleton és Rossi (1965) nevéhez fűződő kísérletet végeztem el, amelynek lényege, hogy a mintában jelenlévő antioxidánstól felvett elektron a reagensben lévő sárga Mo(IV) iont kék színű Mo(V) ionná redukálja, majd az így keletkezett kék színű oldat mérhető spektrofotometriásan 765 nm-en. Fontos megemlíteni, hogy a módszer hátránya az, hogy valós fiziológiai folyamatok reprodukálására nem alkalmas a lúgos körülmények között megvalósuló reakció (Frankel és Meyer, 2000). Ezzel szemben viszont olcsó és egyszerű eljárás, amely nem igényel drága felszereléseket (Huang et al., 2005).

2.6.2 Antioxidáns kapacitás meghatározása vasredukáló-képesség alapján

Benzie és Strain (1996) nevéhez fűződő antioxidáns kapacitás mérés, vagy másnéven FRAP (Ferric Reducing Ability of Plasma, vagy Ferric Reducing Antioxidant Capacity) egy, a vasredukáló képességen alapuló mérés, amelyet eredetileg, vérplazma mérésre dolgoztak ki. Akárcsak az összes polifenol tartalom meghatározása esetén, ebben a kísérletben is az oldat fényabszorpciójának mérésével állapítjuk meg az eredményt. A megfelelően előkészített minta esetén a kivonat és a reagens elegyét vizsgáljuk. A módszer alapja, hogy a 2,4,6-tripiridil-s-triazin, azaz a TPTZ, alacsony pH-n történő komplexképző hatására az antioxidáns tulajdonságú anyagok a Fe(III)-tripiridil-triazin komplexet Fe(II)-tripiridil-triazin komplexsére redukálják (5. ábra).

5. ábra: A FRAP módszer mérési elve

(Forrás: <http4>)



A reakció során kék színű komplex képződik (6. ábra), amelyet 593 nm-en mérhetünk, így megkapjuk a jelenlévő antioxidánsok mennyiségét.

6. ábra: FRAP reakció során képződött kékszínű komplex

(Forrás: saját fotó)



Dettre Anna Szakdolgozat

3. ALKALMAZOTT MÓDSZEREK

3.1 Felhasznált anyagok

3.1.1 Vizsgált minták

A kísérlet elvégzéséhez a kereskedelmi forgalomban kapható Herbária Zrt. által forgalmazott szárított borsmentalevelet (7. ábra) használtam. A borsmentát nem tisztítottam meg felbontást követően, mivel ez fogyasztásra kész termék, viszont a termék tartalmazta a borsmenta szárát is, így ezt eltávolítottam és csak a növény levélrészét használtam fel.

7. ábra: Szálas, szárított borsmenta
(Forrás: <http5>)



3.1.2 Alkalmazott vegyszerek

Az ultrahangos extrakcióhoz oldószerként etanol és desztillált víz elegyét használtam, 4 különböző etanol koncentráció mellett: 10, 25, 40 és 55%. A minta-oldószeraránya 1 g/50 ml volt. Az analitikai vizsgálatokhoz az alábbi reagenseket és vegyszereket használtam:

- 2,4,6-tri (2-piridil)-s-triazin,
- 37%-os sósav,
- aszkorbinsav,
- ecetsav,
- Folin-Ciocalteu reagens,

- galluszsav,
- kristályvizes nátrium-acetát,
- kristályvizes vas (III)- klorid,
- metanol,
- nátrium- karbonát.

3.2 Módszerek, gyakorlat leírása

3.2.1 Kísérletterv összeállítása

Elsősorban választásom azért esett az ultrahanggal segített extrakcióra, mivel Šic Žlabur és munkatársai által (2016) végzett vizsgálatuk alapján ezzel az eljárással jelentősen lerövidítették az extrakciós időt, köszönhetően az ultrahangnak. A hagyományos extrakciós eljárással az érintkeztetési idő 24 óra is lehet, így ez egy kíméletesebb és gazdaságosabb eljárás.

A kísérlet során három paramétert változtattam, az alkalmazott etanol-desztillált víz oldószer etanol tartalmát, a kezelési időt, és az ultrahanggal segített extrakciós berendezés teljesítményét. Választásom azért esett az etanolra, mivel a Magyar Élelmiszerkönyv 1-2-2009/32 számú előírása alapján az etanol a megfelelő gyártási gyakorlat alapján minden célra használható oldószerek közé tartozik, és a 2.5.3. pontban leírt követelmények majdnem mindegyikének megfelel. Az oldószer koncentrációja az alábbiak szerint alakult: 10, 25, 40 és 55 V/V% etanol tartalom, a berendezés teljesítménye pedig 8 és 56,5 W/m² volt. Korábbi vizsgálatokban az érintkeztetési idő a 3 perctől egészen több óráig terjedt (Pavlić et al., 2019), így igyekeztem megtalálni azt az optimumot, ami a lehető leggazdaságosabb körülmények mellett teszi lehetővé a polifenolok és antioxidánsok kinyerését anélkül, hogy a vegyületek sérülnének. A fentiek és más korábbi irodalmi tanulmányok alapján a kezelési időre a következőket határoztam meg: 10, 20 és 30 perc.

3.2.2 Borsmenta kivonatok elkészítése

Előkísérleteket végeztem annak érdekében, hogy megtudjam, hogyan változik az oldószerek hőmérséklete, szükséges-e a hűtés, illetve, hogy milyen mennyiségben párolog az oldószer. A hőmérséklet változása jelentősen befolyásolhatja az értékes komponensek kihozatalát, illetve a túl magas kezelési hőmérséklet károsíthatja is azokat, ezért fontos a hőmérséklet monitorozása és szabályozása. Az oldószer párolgása módosítja egyrészt a minta-

oldószer arányt, valamint az oldószer etanol koncentrációját is. A kapott eredmények alapján döntöttem a kezelési időről és az etanol-víz arányról. Az alábbi 4 előkísérletet végeztem el:

- 10% etanol koncentráció, 8 W/m², 30 perc
- 10% etanol koncentráció, 56,5 W/m², 30 perc
- 55% etanol koncentráció, 8 W/m², 30 perc
- 55% etanol koncentráció, 56,5 W/m², 30 perc

Az előkísérletek során minden mérésnél öt percenként mértem a hőmérsékletet, ami segített meghatározni, hogy szükséges-e hűtést alkalmazni az extrahálások során. Minden mérés előtt és után megmértem az oldószer sűrűségét Anton Paar DMA 4500 digitális sűrűségmérővel az etanol-víz arány meghatározáshoz. Továbbá minden mérés végén visszamértem az oldószer mennyiségét, hogy meg tudjam határozni a párolgási veszteséget. Az előkísérletek és a korábbi tanulmányok segítségével terveztem meg a kísérlet paramétereit.

A szárított borsmentalevelekből minden méréshez pontosan 5 grammot használtam, a minta kimérése után 250 ml oldószert mértem ki mérőhengerrel, majd a mintát és az oldószert a tartályba öntöttem, és rögzítettem a keverőlapátot. A keverésre azért volt szükség, hogy elkerüljük a minta felszínre való ülepedését, valamint, hogy hatékonyabb legyen az extrahálás.

A keverőlapát rögzítése után a tartályba helyeztem az ultrahangos eszközt is (8. ábra).

8. ábra: Ultrahanggal segített extrakciós berendezés

(Forrás: saját fotó)



Az idő lejártá után a kivonatokat visszamértem a párolgási veszteség meghatározásának céljából, majd leszűrtem és mintatartókba öntöttem, illetve minden egyes mintából kimértem két eppendorf csőbe is 1,5-1,5 ml-t, amelyeket centrifugáltam Hermle Z 206 A kompakt centrifuga segítségével, 20 percig 6000 rpm-en a lebegőanyagok elválasztása érdekében. A minta felülúszóját ezt követően új eppendorf csövekbe pipettáztam át, és fagyasztóba tettem az analitikai vizsgálatok elvégzéséig.

3.2.3 Összes polifenol tartalom vizsgálata

A kivonatokban lévő összes fenoltartalom meghatározásához Singleton és Rossi (1965) által leírt módszert használtam fel, mely lényege, hogy a 760 nm-en mérhető abszorbancia értékek arányosak a minta összes polifenol tartalmával. A mérés kivitelezéséhez az alábbi vegyszerekre volt szükségem:

- Folin-Ciocalteu oldat: Folin-Ciocalteu reagens 1:10 arányú hígítása desztillált vízzel;
- Nátrium-karbonát oldat: 0,7 M koncentrációjú oldatot készítettem, melyhez 200,0 ml desztillált vízben feloldottam 14,84 g vízmentes nátrium-karbonátot;
- Hígítószer: metil-alkohol és desztillált víz 80:20 arányú elegye;
- Galluszsav oldat a kalibráláshoz: 3 M galluszsav oldat készítéséhez 10,0 ml hígítószerben (MeOH : DV 4:1 arányú elegye) 5,1 mg szilárd galluszsavat oldottam fel.

A mérések megkezdése előtt kalibráló sort készítettem annak érdekében, hogy meggyőződhessenek az oldószerek megfelelő minőségéről, illetve az 1. és 2. sorszámmal ellátott mintákra kalibráltam a berendezést abban az esetben, amikor a borsmentát tartalmazó mintákat vizsgáltam. Az 1. táblázat szerint mértem össze az oldatokat az 1-től 9-ig számozott kémcsövekbe, majd 5 percre vízfürdőbe helyeztem őket, amely elősegítette a reakció lejátszódását. Az 5 perc lejárta követően pedig 760 nm-en mértem az abszorbanciát. A kalibráló sorban a kék szín intenzitása nőtt a galluszsav mennyiségének növelésével, ami azt jelenti, hogy az oldatok minősége megfelelő, hiszen minél több galluszsavat tartalmazott a minta, annál sötétebbnek kell lennie. A kémcsövekben ugyanolyan mennyiségű minta található, a képen látható eltérését a kémcsövek különböző átmérője okozta. (9. ábra).

1. táblázat: Kalibrációs oldatsor az összes polifenol-tartalom meghatározásához

(Forrás: saját munka)

Kémcső sorszáma	Folin-Ciocalteu oldat (μl)	Metanol-DV (μl)	Galluszsav oldat (μl)	Nátrium-karbonát oldat (μl)
1.	2500	500	0	2000
2.	2500	500	0	2000
3.	2500	450	50	2000
4.	2500	400	100	2000
5.	2500	350	150	2000
6.	2500	300	200	2000
7.	2500	250	250	2000
8.	2500	200	300	2000
9.	2500	100	400	2000

9. ábra: TPC értékek kiszámolásához szükséges kalibráló oldatsor

(Forrás: saját fotó)



A borsmentalevél összes polifenol tartalmának meghatározásához három párhuzamos mérést végeztem, melyhez a következő reagenseket mértem össze egy kémcsőbe:

- 2500 μl Folin-Ciocalteu oldat,
- 400 μl metilalkohol-desztillált víz elegy (4:1 arányú),
- 100 μl minta.

Pontosan egy perc eltelte után hozzáadtam: 2000 μ l 0,7 M nátrium-karbonát oldatot a reakció megállításához. A végtérfogat így összesen 5000 μ l volt. A mintákat 5 percre 50 °C- ra állított, Lauda E100 Ecoline típusú vizes termosztátba helyeztem (10. ábra).

10. ábra: Lauda E100 Ecoline termosztát

(Forrás: [http6](#))



A vízfürdő után a csövek tartalmát küvettékba öntöttem, és a reakció során képződött kék vegyület mennyiségét $\lambda=760$ nm-en fotometrikusan mértem Hach DR2400 kézi spektrofotométerrel (11. ábra).

11. ábra: Hach DR 2400 kézi spektrofotométer

(Forrás: [http7](#))



Az abszorbanciaértékeket minden egyes minta esetében átlagoltam, és az összes polifenoltartalmat mg galluszsav - egyenérték/l-ben számoltam ki a kalibrációs egyenlet segítségével.

3.2.4 Antioxidáns kapacitás meghatározása

Benzie és Strain (1996) módszere alapján végeztem az antioxidáns kapacitás meghatározását, vasredukáló képesség vizsgálatával, melyet másnéven FRAP módszernek nevezünk. Az oldatokat a méréshez szükséges mennyiségek szerint készítettem elő:

- Az acetát puffer elkészítéséhez 3,10 g kristályvizes nátrium-acetátot feloldottam 16,0 ml 96%-os ecetsavban, majd jelre töltöttem az oldatot 1000 ml-es mérőlombikban desztillált vízzel, az elegy pH-ja így 3,6, koncentrációja pedig 300mM volt.
- A vas-klorid oldat elkészítéséhez 0,108 g kristályvizes vas(III)-kloridot 20 ml desztillált vízben feloldottam.
- 20ml-es mérőlombikba 0,6245 g 2,4,6-tri (2-piridil)-s-triazint oldottam fel 67 μ l 37%-os töménységű sósavban, majd jelre töltöttem desztillált vízzel, így megkaptam a TPTZ-oldatot.
- A FRAP reagenshez elegyítettem 200 ml acetát puffert, 20 ml TPTZ-oldatot és 20 ml vas-klorid oldatot.
- Az aszkorbinsav oldat, amely 17,613 g aszkorbinsavat tartalmaz és 1mM koncentrációjú

A kiértékeléshez kalibrációs görbét készítettem aszkorbinsavval, mert a kalibrációs egyenes egyenletébe való behelyettesítéssel kaptam meg a mintám FRAP-értékét, jelen esetben aszkorbinsav-egyenértékben: mg ASE/l. A kalibrációhoz szükséges oldatok elkészítését a 2. táblázat mutatja:

2. táblázat: FRAP vizsgálat értékeléséhez szükséges kalibrációs görbe felvétele

(Forrás: saját munka)

Kalibrációs sor	FRAP reagens (μ l)	Aszkorbinsav oldat (μ l)	Desztillált víz (μ l)
1.a	1500	0	50
1.b	1500	0	50
2.	1500	10	40
3.	1500	20	30
4.	1500	30	20
5.	1500	40	10
6.	1500	50	0

Az oldatok elkészítése után pontosan 5 perccel később 593 nm-en fotometriás vizsgálatot végeztem spektrofotométerrel. A kalibrációs görbét rögzítettem, majd az aszkorbinsavat nem tartalmazó 1.a és 1.b oldatokat összeöntöttem és a borsmentával végzett méréshez erre vonatkozóan kalibráltam a spektrofotométert. Az extraktumokkal 3 párhuzamos mérésből álló mintasorozatot készítettem, amihez a kalibrációs görbe felvétele során alkalmazott módszernek megfelelően:

- 1500 µl FRAP reagenst,
- 20 µl vizsgált kivonatot,
- 30 µl desztillált vizet elegyítettem.

5 perc letelte után 593 nm-en megvizsgáltam spektrofotométerrel. A kapott abszorbancia értékeket rögzítettem, és a minták antioxidáns kapacitását az abszorbancia értékekből és a kalibrációs egyenes meredekségének értékéből számoltam ki.

4. EREDMÉNYEK ÉS ÉRTÉKELÉSÜK

Az eredmények kiértékelése során össze szeretném hasonlítani a különböző működési paraméterek esetén kapott extraktumok polifenol, valamint antioxidáns koncentráció értékeit. Ezt háromtényezős varianciaanalízissel (Three-Way ANOVA-val) tudom megvalósítani, ahol a függő változóm a polifenol vagy antioxidáns koncentráció, a független kategoriális változóim az idő (10,20,30 perc) az extraháló oldószer etanol koncentrációja (10,25,40,55 V/V%) és végül az ultrahanggal segített extrakciós berendezés teljesítménye (8 és 56,5 W/m²) volt. A háromtényezős varianciaanalízis után, kiemelve egy-egy változót, kéttényezős varianciaanalíziseket végeztem, melyeket sorra Post Hoc páronkénti összehasonlítás követett, amennyiben ki tudtam mutatni különbségeket, tehát az ANOVA eredménye szignifikáns volt. A statisztikai vizsgálatokat IBM SPSS (version 25) szoftverrel végeztem.

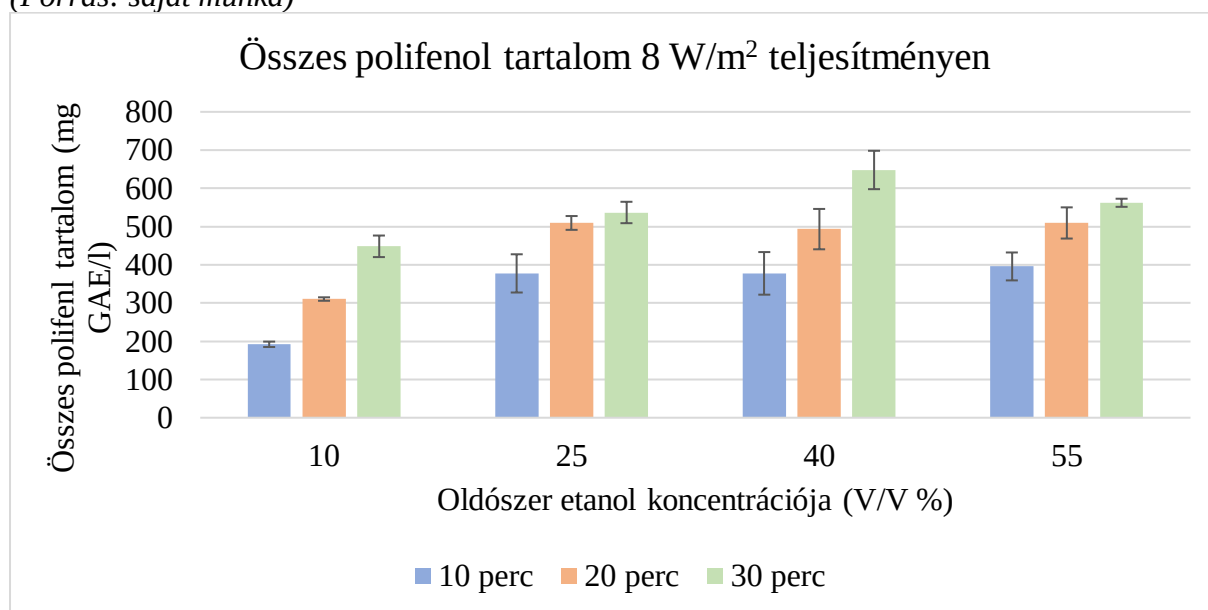
4.1 Borsmenta összes polifenol tartalmának vizsgálata

Megvizsgáltam az összes polifenol tartalmát, aminek az eredményeit a 12. és 13. ábrán teljesítmény alapján szétbontva mutatom be. A kísérletet megelőzően az az elképzelésem volt, hogy az ultrahangos extrakció idejének növelésével kinyert hatóanyagtartalom is növekedni fog. Ezt a szignifikáns kis ($F(2,36)=67,68$ $p<<0,0001$), illetve nagy ($F(2,36)=93,76$ $p=4,5 \cdot 10^{-12}$) teljesítmények esetén készített varianciaanalízisek után végzett páronkénti összehasonlítások is alátámasztják, ahol minden koncentráció és teljesítmény kombináción belül az időbeni polifenoltartalom szignifikánsan ($p < 0,01$) nő. A 12. és 13. ábrán ez az oszlophármasok növekedő tendenciájában mutatkozik meg. Ez a következőkben egy érdekes felvetés lehet, hogy az extrakciós idő optimumát (vagy maximumát) egy kutatás során meghatározzuk, mivel elképzelhető, hogy az extrakciós idő további növelésével jobb eredményekre tehetünk szert. Természetesen az idő növelésével a hőmérséklet és a párolgási veszteség is nőhet, és az üzemeltetési költségek is nagyobbak lesznek.

Összesen 24 féle mérést végeztem, hiszen az idő mellett változott az oldószer töménysége is, és az ultrahanggal segített extrakciós berendezés teljesítménye is. A kezelési idő esetében a 30 perces kezelés bizonyult minden esetben a legjobbnak, a 10 perces kezelés pedig minden esetben a legrosszabb kihozataalt eredményezte.

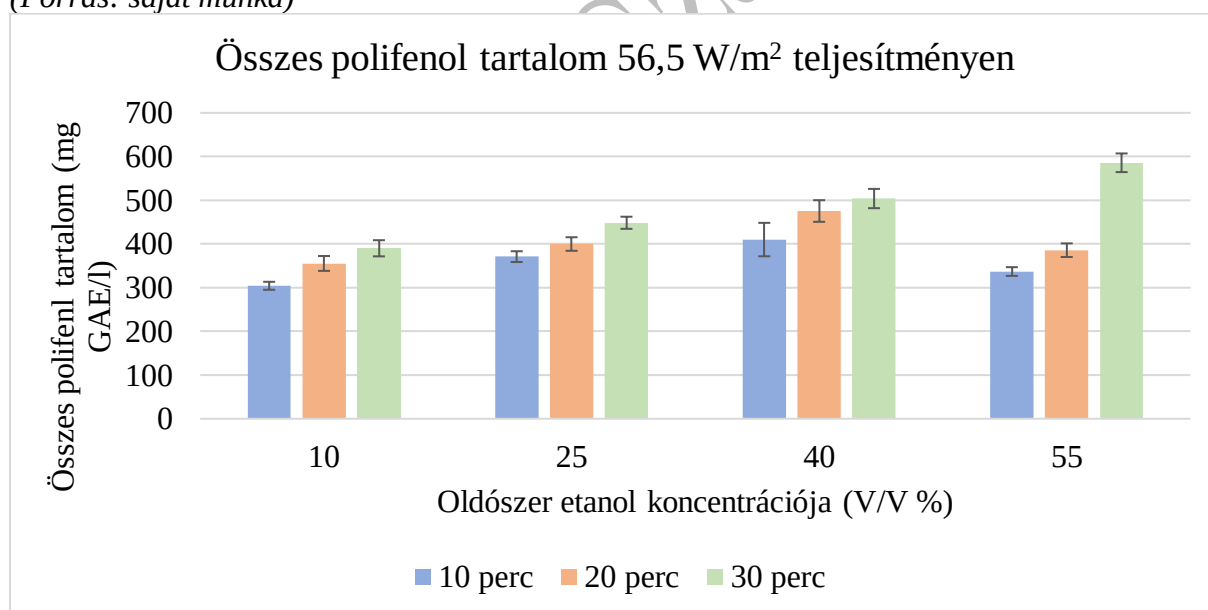
12. ábra: Borsmenta összes polifenol tartalma 8 W/m² ultrahang teljesítmény esetén.

(Forrás: saját munka)



13. ábra: Borsmenta összes polifenol tartalma 56,5 W/m² ultrahang teljesítmény esetén.

(Forrás: saját munka)



A korábbi tanulmányokat alapul véve a hosszabb kezelési időtől vártam a nagyobb hatóanyagtartalmat, illetve nagyobb teljesítmény esetén számítottam magasabb polifenol tartalomra. Ez már ebben az esetben nem volt teljesen jó feltételezés, mivel azt tapasztaltam, hogy habár nem minden esetben, de ennek az ellentétje látszott beigazolódni. A varianciaanalízis szignifikáns ($F(1,72)=12,776$ $p=0,0008$) eltérést mutat a két teljesítmény között és a főátlagokra tekintve (alacsonyabb és magasabb teljesítmény esetén:

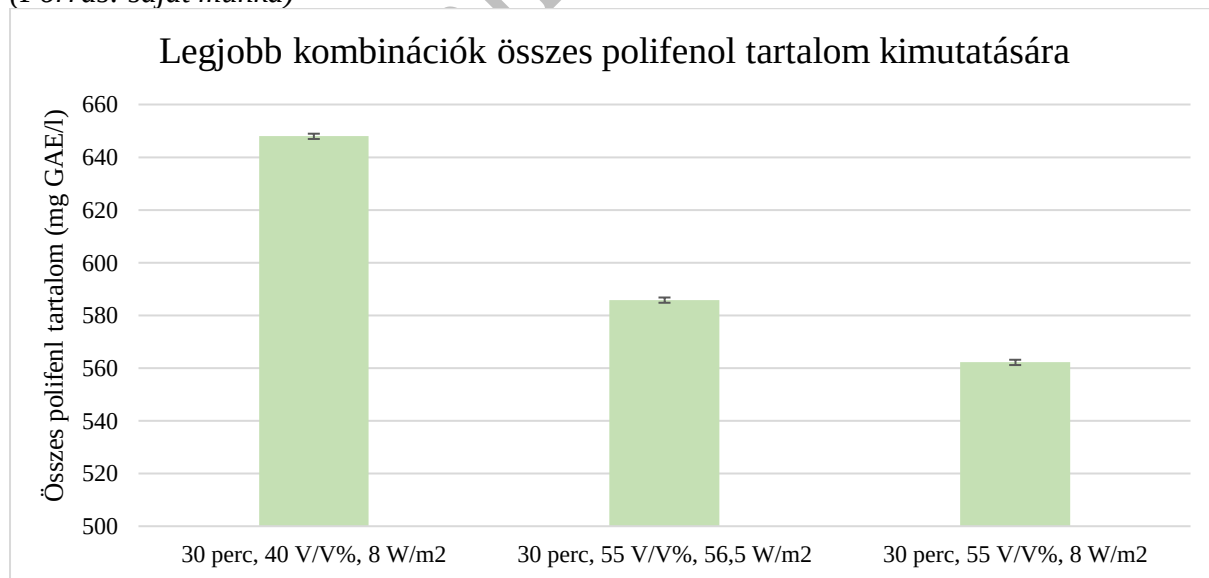
443,91 mg GAE/l és 413,91 mg GAE/l) azt látjuk, hogy a kis teljesítmény összességében jobb eredményeket produkált.

Ennél a pontnál már fontos megemlíteni azt, hogy egy bizonyos hőmérséklet felett, vagy egy bizonyos kezelési időn túl, vagy nagyon tömény oldószer esetén a molekulák szerkezete sérülhet, így addig a pontig hiába nőtt az extraktum hatóanyag tartalma, itt csökkenésnek is indulhat. Habár Bánvölgyi és munkatársai kutatása alapján (2020) is arra számítottam, hogy az oldószer koncentrációjának növelésével nőni fog a hatóanyagtartalom, legalábbis egy bizonyos pontig, nem egészen ezt tapasztaltam (Bánvölgyi et al., 2020). A 10 V/V%-os oldószerrel végzett extrahálás bizonyult a legrosszabbnak, amire számítottam is, de a 40 V/V%-os esetekben majdnem ugyanolyan jó, vagy bizonyos esetekben jobb hatóanyagtartalmat sikerült elérnem, mint az 55 V/V% esetén. 40 V/V% esetén inkább a kisebb, azaz a 8 W/m² teljesítménnyel sikerült magasabb polifenol tartalmat kimutatni, míg 55 V/V% esetén többnyire a nagy, azaz az 56,5 W/m² mutatott jobb eredményeket.

Az elemzés végén meg szeretném említeni azokat a pontos eseteket, amelyek a jelen kísérletben kiemelkedően jó vagy rossz eredményt mutattak, amit az 14. és 15. ábra legmagasabb és legalacsonyabb pontjai prezentálnak. Az eredmények balról jobbra, a legjobb működési paraméterek esetén: 647,93 mg GAE/l, 585,77 mg GAE/l és 562,15 mg GAE/l.

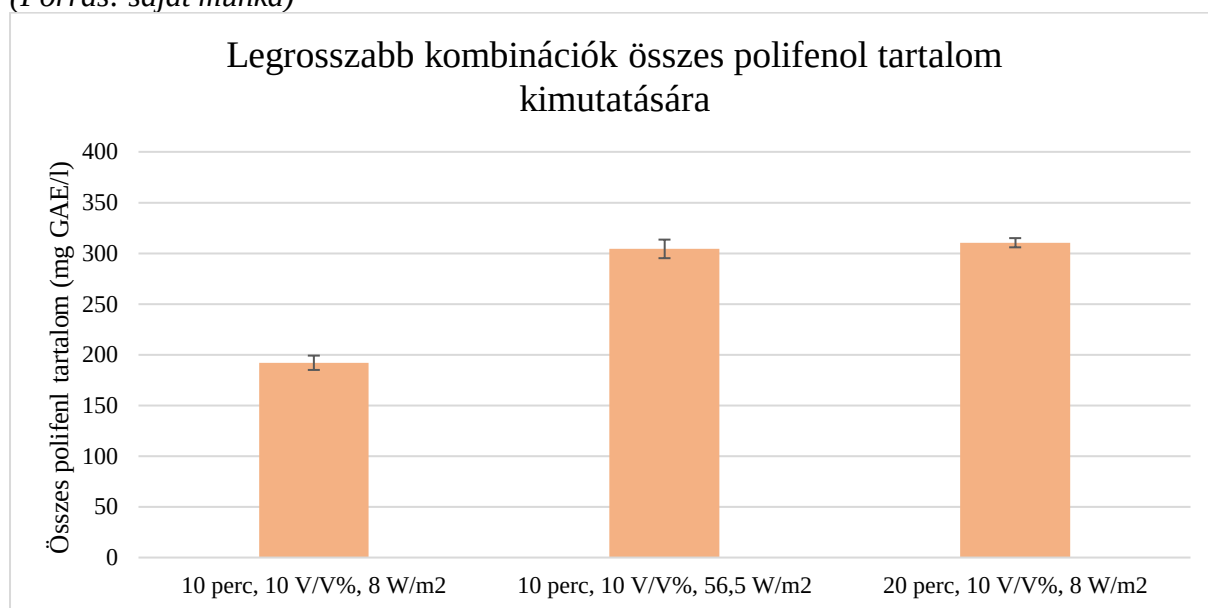
14. ábra: Legjobb működési paraméterek összes polifenol tartalom kimutatására

(Forrás: saját munka)



Továbbá az eredmények, szintén balról jobbra, a legrosszabb működési paraméterek esetén: 190,03 mg GAE/l, 304,31 mg GAE/l és 310,41 mg GAE/l.

15. ábra: Legrosszabb működési paraméterek összes polifenol tartalom kimutatására
(Forrás: saját munka)



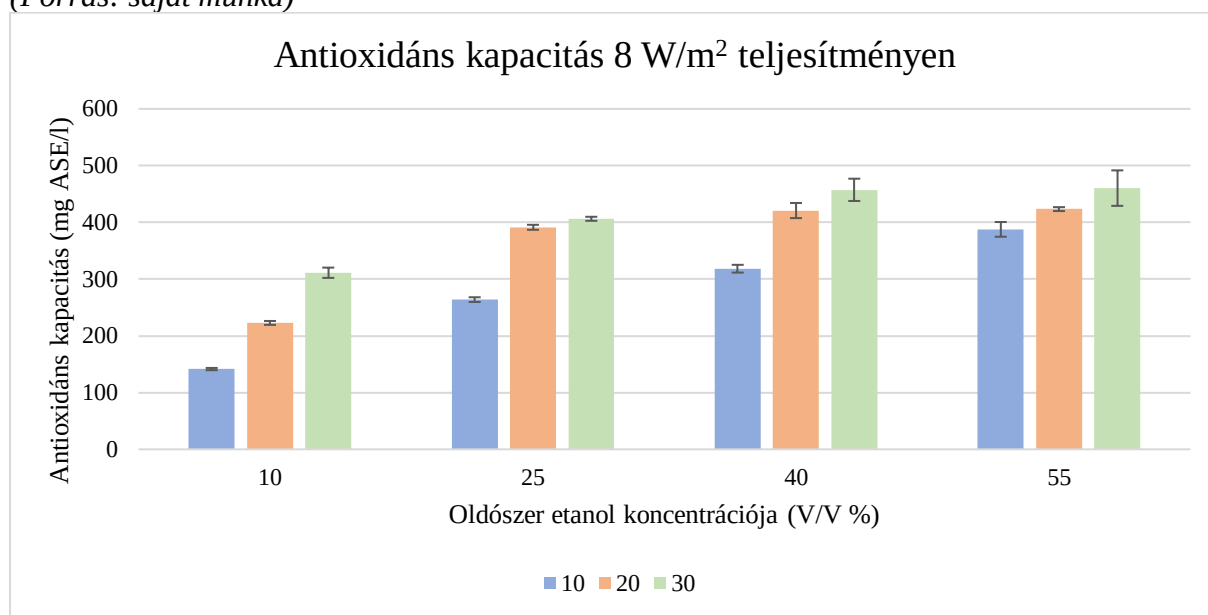
4.2 Borsmenta antioxidáns kapacitásának vizsgálata

Az antioxidáns kapacitás mérésének eredményeit az alábbi 16. és 17. ábrán teljesítmény alapján szétbontva mutatom be.

Akárcsak az összes polifenol tartalom meghatározása esetén, itt is számítottam arra, hogy minél hosszabb a kezelési idő, annál nagyobb antioxidáns kapacitást fogok tapasztalni. Ebben az esetben is beigazolódott, amit alátámaszt a szignifikáns kis ($F(2,24)=222,48$ $p=3,28 \cdot 10^{-10}$), és nagy ($F(2,36)=95,28$ $p=4,3 \cdot 10^{-8}$) teljesítmények esetén készített varianciaanalízisek után végzett páronkénti összehasonlítás is. Ebben az esetben is elmondható, hogy minden koncentráció és teljesítmény pároknál az időbeni antioxidáns kapacitás értékek szignifikánsan ($p < 0,01$) növekednek. A 16. és 17. ábrán ez az oszlophármasok növekedő tendenciájában látható.

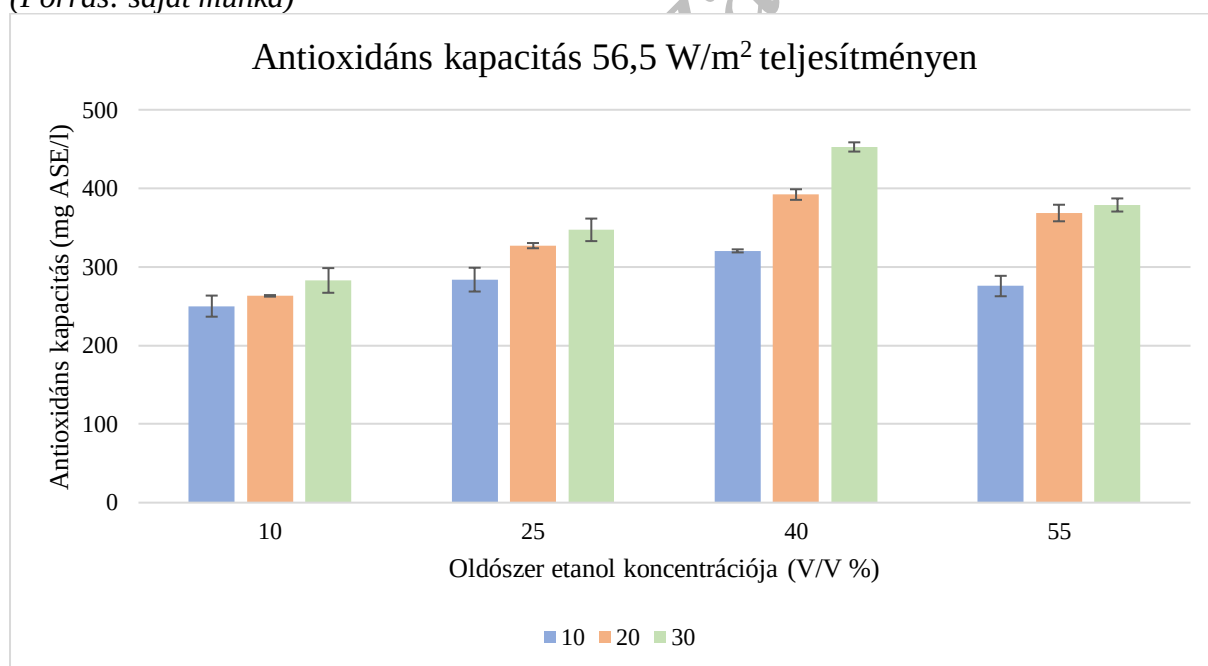
16. ábra: Borsmenta antioxidáns kapacitása 8 W/m² ultrahang teljesítmény esetén.

(Forrás: saját munka)



17. ábra: Borsmenta antioxidáns kapacitása 56,5 W/m² ultrahang teljesítmény esetén.

(Forrás: saját munka)



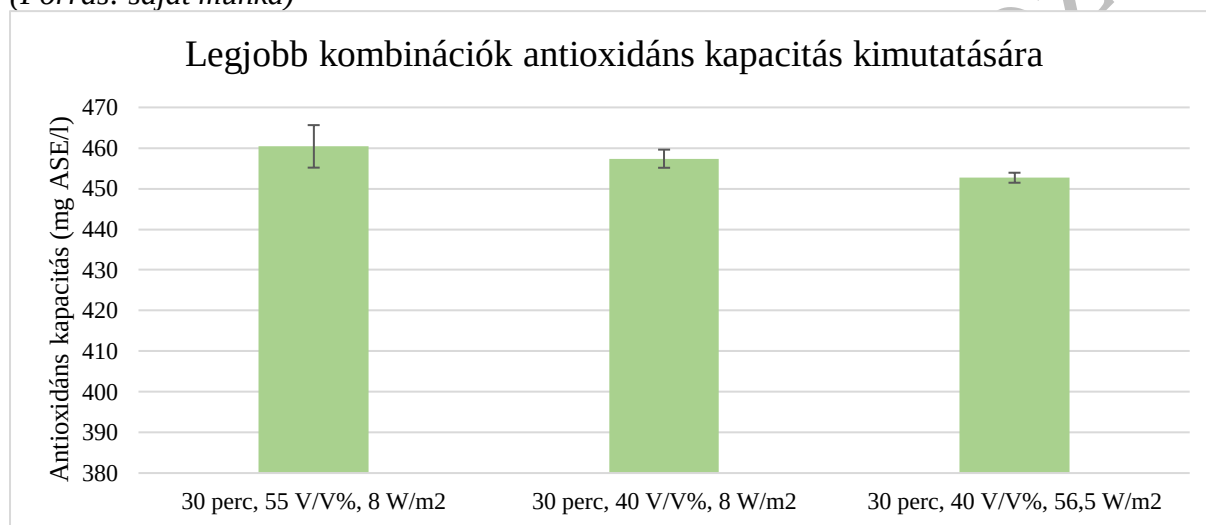
Az már bebizonyosodott, hogy a polifenol tartalom és az antioxidáns kapacitás esetén is az idővel nőtt a hasznos vegyületek kinyert mennyisége. A varianciaanalízis ebben az esetben is szignifikáns ($F(1,48)=37,17$ $p=0,000003$) eltérést mutat a különböző teljesítmények között, FRAP esetén is összességében a kisebb teljesítményen végzett mérések mutatnak jobb eredményeket, ha a főátlagokra tekintünk (alacsonyabb és magasabb teljesítmény esetén:

350,42 mg GAE/l és 328,54 mg GAE/l). Ebben az esetben is jobb párosításnak bizonyult a kisebb teljesítmény a 40 V/V%-kal, a nagyobb teljesítmény pedig a magasabb, azaz az 55 V/V%-kal.

Az elemzés végén ismét meg szeretném említeni, hogy melyek voltak azok a működési paraméterek, amik kiemelkedően jó, vagy rossz eredményeket mutattak. A 18. ábra szemlélteti a legjobb eredményeket antioxidáns kapacitás esetén, melyek balról jobbra a következők voltak: 460, 41 mg ASE/l, 457,37 mg ASE/l és 452,7 mg ASE/l.

18. ábra: Legjobb működési paraméterek antioxidáns kapacitás kimutatására

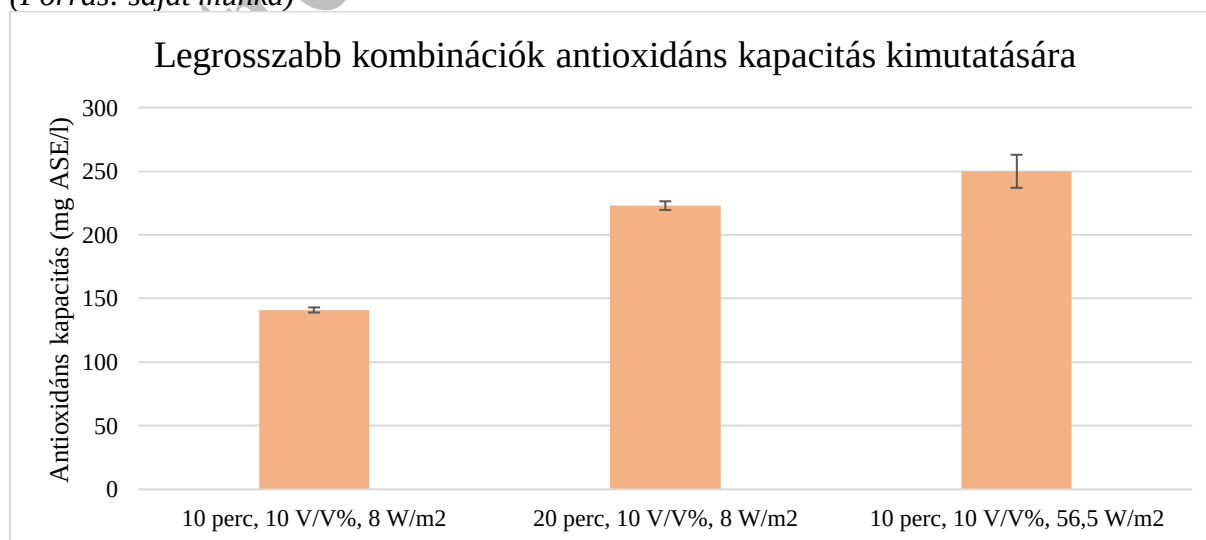
(Forrás: saját munka)



A legrosszabb működési paraméterek esetén az eredmények a következőképpen alakultak, szintén balról jobbra: 141,47 mg ASE/l, 222,8 mg ASE/l és 250,1 mg ASE/l (19. ábra).

19. ábra: Legrosszabb működési paraméterek antioxidáns kapacitás kimutatására

(Forrás: saját munka)



5. KÖVETKEZTETÉSEK ÉS JAVASLATOK

A borsmentán végzett kísérletek alapján az idő növelésével arányosan nőtt a polifenolok és az antioxidánsok kimutathatósága is, azaz sikerült megőrizni a vegyületek ép állapotát és olyan extraktumot készíteni, amelyek ezeket magas arányban tartalmazzák. A TPC esetében a 30 perces kezelési idő, 40 V/V% etanol koncentráció és a 8 W/m² teljesítményen végzett ultrahangos kezelés mellett sikerült a legmagasabb polifenol tartalmat kimutatni, ez: 647,93 mg GAE/l volt, míg a FRAP esetében ez a 30 perces kezelési idő, az 55 V/V% etanol koncentráció és a 8 W/m² teljesítmény volt, 460,41 mg ASE/ml értékkel. Érdekesség, hogy a TPC és az antioxidáns kapacitás mérésében sem a leghosszabb kezelési idő, a legnagyobb etil-alkohol koncentráció és a nagyobb ultrahangos teljesítmény eredményezte a legmagasabb kihozataalt. Valószínűleg már ebben az esetben sérültek a vegyületek, de ennek kimutatásához további vizsgálatokra lenne szükség. Megfigyelhető, hogy mindkét esetben az alacsonyabb teljesítmény hozta a legmagasabb eredményeket, ami gazdasági szempontból egy nem várt, ellenben nagyon kedvező konklúzió számunkra. Azokban az esetekben, amikor a 10 perc 10 V/V%-kal párosult, mindig kiemelkedően alacsony eredmények születtek, így amennyiben további vizsgálatokra kerül sor, ezen működési paraméterek alkalmazását nem javaslom, hiszen itt a teljesítmény változtatása sem hozott jelentős különbséget az eredményben.

Ha a kísérlet folytatására kerül sor, akkor érdemes lenne az általam kapott eredmények alapján meghatározni a működési paraméterek optimumát, ahol az extraktum a lehető legtöbb hasznos vegyületet tartalmazza, mindezt a lehető leggazdaságosabb úton. Továbbá mivel a borsmentának nem csak tömördek jó élettani hatása van, hanem tartósításra is lehet használni, így további vizsgálatok esetén gondolkoznék olyan opciókon is, amelyekkel például liszthez, vagy más, avasodásra hajlamos termékhez adjuk hozzá. Így nem csak a termék minőségét, hanem szavatosságát is tudnánk növelni, ezzel együtt remélhetőleg nőne a vásárlási hajlandóság is. A kutatás folytatása esetén javasolnám más, általam állandó értéken tartott tényező módosítását, például a minta-oldószer arányát, vagy az oldószer típusát a magasabb hozam érdekében. A vizsgálat eredményeit az ultrahangos berendezés teljesítménye nem befolyásolta nagy mértékben, így ennek növelését nem javaslom, hiszen fontos a gazdaságosságra való törekvés.

Mivel az ultrahangos extrakcióval jelentősen lerövidül az extrakciós kezelés ideje, így a módszeren semmiképp sem változtatnék, de azt gondolom további vizsgálatok esetén az eredmények alapján lehetőség lenne jobb működési paraméterek megtalálására is. Viszont

mindenképpen előtérbe helyezném, hogy megoldást találjak a szárított borsmenta levelek jobb keveredésére. Annak ellenére, hogy a keverőlapát segítségével megfelelően elegyedett az oldat, sajnos azt tapasztaltam, hogy az oldószer tetején időközönként összegyűlt a borsmenta, ami így valószínűleg csökkentette a levelek érintkezési felületét az oldószerrel, ami alacsonyabb polifenol és antioxidáns tartalmat eredményezhetett.

Továbbá amennyiben további vizsgálatokra kerül sor, kiterjeszteném a kutatást az extraktum lehetséges felhasználására is attól függően, hogy milyen hozamot tudunk elérni. Ebből adódóan azt gondolom, hogy az összes polifenol tartalom és antioxidáns kapacitás mellett érdemes lenne vizsgálni más komponenseket is, például a mentolt, mivel ez az egyik fő komponense. Itt fontosnak tartom kihangsúlyozni, hogy eddig nincs sok kutatás, amely foglalkozna a borsmenta antioxidáns kapacitásával és polifenol tartalmával ultrahanggal segített extrakció esetén, így mindenképpen érdemes lenne ennek további vizsgálata is az egyéb komponensek mellett.

6. ÖSSZEFOGLALÁS

Napjainkban egyre nagyobb szerepet tölt be az emberek életében az egészséges életmód, és a fogyasztók érdeklődése is növekszik a természetes, tápanyagban gazdag élelmiszerek iránt. Az egyébként nagy népszerűségnek örvendő borsmentát nem csak annak mentol és illóolaj, hanem többek között polifenol és antioxidáns tartalma miatt is érdemes fogyasztani. Mivel ezek a vegyületek a kísérletem alapján is feltételezhetően sérülnek magas hőmérsékleten, így, ha tea formájában fogyasztjuk, sajnos ezen előnyeit kisebb mértékben tudjuk hasznosítani. Fontosnak tartom, hogy egy olyan megoldást találjunk, amely során meg tudjuk őrizni a borsmenta lehető legtöbb hasznos hatását.

A kísérlet során vizsgáltam különböző paramétereket változtatva a *Mentha x piperita* összes polifenol tartalmát, illetve a vasredukálóképessége alapján az antioxidáns kapacitását. Az analitikai vizsgálatok eredményeinek kiértékelését háromtényezős varianciaanalízissel végeztem (Three-Way Anova), az antioxidáns kapacitást és az összes polifenol tartalom kimutatását pedig saját kísérletterv alapján hajtottam végre, amelyet korábbi vizsgálatok alapján dolgoztam ki. Ezek alapján az etanol koncentrációk a következők voltak: 10, 25, 40 és 55 V/V%, az idők: 10, 20 és 30 perc, az ultrahanggal segített berendezés teljesítménye pedig 8 és 56,5 W/m² volt. Az extrakciót követően analitikai vizsgálatokat végeztem az összes polifenol és antioxidáns kapacitás érdekében, spektrofotometriás úton. Az antioxidáns kapacitást Benzie és Strain (1996) által kidolgozott vasredukáló képesség alapján vizsgáltam, míg a polifenol tartalom meghatározását Singleton és Rossi (1965) módszere alapján végeztem, Folin-Ciocalteu reagenssel.

A kutatásom alapján abszolút érvényesült a „kevesebb néha több elv”, magyarul a kisebb teljesítmény, alacsonyabb oldószer koncentráció, vagy akár a rövidebb kezelési idő is lehet ugyanolyan hatékony, sőt akár hatékonyabb is. Az összes esetben a 30 perces kezelés eredményezte a legnagyobb hozamot, és a 10 perces kezelés pedig a legalacsonyabbat, a teljesítmény a hozamot nem befolyásolta nagy mértékben, az etanol koncentrációk közül pedig a 40 és 55 V/V% bizonyultak a leghatásosabbnak.

7. IRODALOMJEGYZÉK

1. Akgül, H., Aksoy, A. (2021): Research and Reviews in Science and Mathematics – II. Chapter 6. In: Aybastier, Ö. (ed.): Antioxidants and Health. Aralik, Ankara, 85-100. p. ISBN: 978-625-8075-31-1
2. Arcury, T. A., Grzywacz, J. G., Bell, R. A., Neiberg, R. H., Lang, W., Quandt, S. A. (2007): Herbal Remedy Use as Health Self-Management Among Older Adults. The Journals of Gerontology Series B: Psychological Sciences and Social Sciences, 62(2), S142–S149.
3. Arias, A., Feijoo, G., Moreira, M., T., (2022): Exploring the Potential of Antioxidants from Fruits and Vegetables and Strategies for Their Recovery, Innovative Food Science and Emerging Technologies
4. Bánvölgyi, Sz., Dusza, E., Namukwambi, F., Kiss I., Stefanovits-Bányai, É., Vatai, Gy., (2020): Optimization of extraction of phenolic compounds from Tokaji Aszú marc using response surface methodology , Progress in Agricultural Engineering Sciences, 8.
5. Barbalho, S. M., Damasceno, D. C., Spada, A. P., da Silva, V. S., Martuchi, K. A., Oshiiwa, M., Mendes, C. G. (2011): Metabolic profile of offspring from diabetic wistar rats treated with Mentha piperita (Peppermint). Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 1.
6. Benzie, I. F. F., (2000): Evolution of antioxidant defence mechanisms. European Journal of Nutrition, (39):53-61.
7. Benzie, I. F. F., Strain, J. J. (1996): The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of “Antioxidant Power”: The FRAP Assay. Analytical Biochemistry, 239(1), 70–76.
8. Bernáth, J. (szerk.) (2000): Gyógy- és aromanövények, Debreceni Egyetem, Egyetemi és Nemzeti Könyvtár, 13-23, 426-433
9. Betoret, E., Betoret, N., Vidal, D., Fito, P. (2018): Functional foods development: Trends and technologies. Trends Food Sci. Technol. 22, 498–508.
10. Böszörményi, A., (2016): Monoterpén illóolaj alkotók és drogjaik. Semmelweis Egyetem, Farmakognózia Intézet. 28-31.
https://semmelweis.hu/farmakognozia/files/2017/09/Illo_monoterpenek2017.pdf
11. Cadenas, E. (1989): Biochemistry of oxygen-toxicity. Annual Review of Biochemistry, (58):79- 110.

12. Cséfalvay, E., Mika, L. T. (2008): Vegyipari Művelettan jegyzet, ELTE Kémiai Intézet, Budapest. 66. <https://dokumen.tips/documents/vegyipari-muvelettan.html?page=5>
13. Dóczy, I., Fritz, P., (2011): Szabadgyökök és antioxidánsok, Eszterházy Károly Főiskola, 26-27. <http://real.mtak.hu/51681/1/2011%201-4%20szabadgyok.pdf>
14. Frankel, E. N., Meyer, A. S. (2000). The problems of using one-dimensional methods to evaluate multifunctional food and biological antioxidants. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80(13), 1925–1941.
15. Gulyás, L., (2011): Diffúziós Műveletek, Debreceni Egyetem, Műszaki Kar
16. Huang, D. J., Ou, B. X., Prior, R. L. (2005): The chemistry behind antioxidant capacity assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, (53):1841-1856.
17. Ibarz, A., Barbosa-Cánovas, G. V. (2003): Unit operations in food engineering. CRC press, Florida, 773-810.
18. Lemmer, B., Sziládi, K., Jákó, Z., Beszédes, S., (2021): Élelmiszeripari extrakciós folyamatok hatékonyságnövelése, Szegedi Tudomány Egyetem, 1.
19. Lugasi, A. Blázovics, A. (2004): Az egészséges táplálkozás tudományos alapjai, 4 Számú útmutató az egészség megőrzéséhez. PXP Nyomda, (Budapest), 74-86.
20. Manach, C., Williamson, G., Morand, C., Scalbert, A., Rémésy C. (2005): Bioavailability and bioefficacy of polyphenols in humans. I. Review of 97 bioavailability studies. *Am J Clin Nutr.* 81(1 Suppl):230S-231S
21. Masella, R.; Di Benedetto, R.; Vari, R.; Filesi, C.; Giovannini, C. (2005): Novel mechanisms of natural antioxidant compounds in biological systems: Involvement of glutathione and glutathione-related enzymes. *J. Nutr. Biochem*, 16, 577-578.
22. Mason, T, Lorimer, JP. (2002): Applied sonochemistry: the uses of power ultrasound in chemistry and processing. Wiley-VCH Verlag GmbH, Weinheim, 3-4.
23. Molnár, M. (2021): Extrakció. Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem, jegyzet
24. Naasani, I.; Oh-Hashi, F.; Oh-Hara, T.; Feng, W.Y.; Johnston, J.; Chan, K.; Tsuruo, T (2003): Blocking telomerase by dietary polyphenols is a major mechanism for limiting the growth of human cancer cells in vitro and in vivo. *Cancer Res.* 63, 824–830.
25. Namdeo, A. G. (2018): Cultivation of Medicinal and Aromatic Plants. *Natural Products and Drug Discovery*, Chapter 20, 525.
26. Nemzeti Élelmiszerlánc-Biztonsági Hivatal (2023): Nemzeti Fajtajegyzék, Zöldségnövények, Gyógy- és Fűszernövények, „B” fejezet, 9.
27. Pan, S.Y., Litscher, G., Gao, S.H., Zhou, S.F., Yu, Z.L., Chen, H.Q., Zhang, S.F., Tang, M.K., Sun, J.N., Ko, K.M. (2014): Historical perspective of traditional indigenous

- medical practices: The current renaissance and conservation of herbal resources. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 525340., 1.
28. Pavlić, B., Kaplan, M., Bera, O., Oktem Olgun, E., Canli, O., Milosavljević, N., ... Zeković, Z. (2019): Microwave-assisted extraction of peppermint polyphenols – Artificial neural networks approach. Food and Bioproducts Processing, 7.
 29. Pereira, E., Pimenta, A.I., Calhelha, R.C., Antonio, A.L., Verde, S.C., Barros, L., Santos-Buelga, C., Ferreira, I.C.F.R. (2016): Effects of gamma irradiation on cytotoxicity and phenolic compounds of *Thymus vulgaris* L. and *Mentha x piperita* L. LWT - Food Science and Technology. 71:370-377, 1.
 30. Saha, A., Basak, B. B. (2020): Scope of value addition and utilization of residual biomass from medicinal and aromatic plants. Industrial Crops and Products, 145, 111979, 2
 31. Semeniuc, C. A., Pop, C. R., & Rotar, A. M. (2017): Antibacterial activity and interactions of plant essential oil combinations against Gram-positive and Gram-negative bacteria. Journal of Food and Drug Analysis, 25(2), 2.
 32. Simándi, B., (szerk.) (2012): Anyagátadó műveletek és kémiai reaktorok, Egyetemi tananyag, Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem, 2. kiadás, 160-232.
 33. Singleton, V. .L., Rossi, J. A., (1965): Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents, Am. J. Enol Vitic 16. 144-158.
 34. Sridhar, K., Albert., L. C., (2021): Fortification Using Grape Extract Polyphenols – a Review on Functional Food Regulations”. International Journal of Food Science & Technology 56(8): 3742–51.
 35. Szilvássy, B., (2014): Élelmi növények polifenolkészletének vizsgálata tömegspektrometriás módszerekkel. PhD. Corvinus University of Budapest. <http://phd.lib.uni-corvinus.hu/778/>
 36. Vertuani, S., Angusti, A. Manfredini, S. (2004): The antioxidants and pro-antioxidants network: An overview. Current Pharmaceutical Design, (10):1677-1694.
 37. Yao, SY., Mettu, S., Law, SQK., Ashokkumar M, Martin GJO (2018): The effect of high-intensity ultrasound on cell disruption and lipid extraction from high-solids viscous slurries of *Nannochloropsis* sp biomass. Algal Research 35, 10-11.
 38. Žlabur, S., Voća, S., Dobričević, N., Plietić, S., Galić, A., Boričević, A., Borić, N. (2016): Ultrasound-assisted extraction of bioactive compounds from lemon balm and peppermint leaves. International Agrophysics, 30(1), 95–97
 39. http1: A borsmenta: <https://zoldszeresz.hu/borsmenta/>

40. http2: A flavonoidok alapszerkezete:

http://phd.lib.uni-corvinus.hu/628/1/Pfeiffer_Peter.pdf

41. http3: Hangtartományok: <http://www.ultrahang-szivargas.hu/hu/atekintes>

42. http4: A FRAP módszer mérési elve:

https://www.researchgate.net/figure/Mecanisme-reactionnel-intervenant-lors-du-test-FRAP-entre-le-complexe_fig11_280111166

43. http5: Szálas, szárított borsmenta:

https://bio-barat.hu/products/borsmentalevel-szalas-40g?variant=42899003244781¤cy=HUF&utm_medium=product_sync&utm_source=google&utm_content=sag_organic&utm_campaign=sag_organic&gclid=Cj0KCQjw1OmoBhDXARIsAAAYGSHi6ZoAihlD1yRH9FjlTt5RyxqTw4WrXAJ04iomsjBALPKY7av6lasaAiM4EALw_wcB

44. http6: Lauda E100 Ecoline termosztát: <http://www.sci-support.com/items/Lauda-E119-E100-Ecoline-019-Heating-Circulator-1550.htm>

45. http7: Hach DR 2400 kézi spektrofotométer:

https://www.google.com/url?sa=i&url=https%3A%2F%2Faquatreat.co.ke%2Fproduct%2Fdr-2400-portable-spectrophotometer%2F&psig=AOvVaw1U_zlRZCuCYnBdtS7cXyN&ust=1698573895236000&source=images&cd=vfe&opi=89978449&ved=0CBEQjRxqFwoTCKiWpv--mIIDFQAAAAAdAAAAABAJ

8. TÁBLÁZATOK ÉS ÁBRÁK JEGYZÉKE

TÁBLÁZATOK:

1. táblázat: Kalibrációs oldatsor az összes polifenol-tartalom meghatározásához 19
2. táblázat: FRAP vizsgálat értékeléséhez szükséges kalibrációs görbe felvétele..... 21

ÁBRÁK:

1. ábra: A borsmenta 6
2. ábra: A flavonoidok alapszerkezete 9
3. ábra: Hangtartományok 12
4. ábra: Sejtek megrepedése ultrahang hatására keletkező hullámok által 12
5. ábra: A FRAP módszer mérési elve 13
6. ábra: FRAP reakció során képződött kékszínű komplex 14
7. ábra: Szálas, szárított borsmenta 15
8. ábra: Ultrahanggal segített extrakciós berendezés 17
9. ábra: TPC értékek kiszámolásához szükséges kalibráló oldatsor 19
10. ábra: Lauda E100 Ecoline termosztát 20
11. ábra: Hach DR 2400 kézi spektrofotométer 20
12. ábra: Borsmenta összes polifenol tartalma 8 W/m² ultrahang teljesítmény esetén. 24
13. ábra: Borsmenta összes polifenol tartalma 56,5 W/m² ultrahang teljesítmény esetén. 24
14. ábra: Legjobb működési paraméterek összes polifenol tartalom kimutatására..... 25
15. ábra: Legrosszabb működési paraméterek összes polifenol tartalom kimutatására..... 26
16. ábra: Borsmenta antioxidáns kapacitása 8 W/m² ultrahang teljesítmény esetén. 27
17. ábra: Borsmenta antioxidáns kapacitása 56,5 W/m² ultrahang teljesítmény esetén..... 27
18. ábra: Legjobb működési paraméterek antioxidáns kapacitás kimutatására 28
19. ábra: Legrosszabb működési paraméterek antioxidáns kapacitás kimutatására 28

Köszönetnyilvánítás

Szeretnék köszönetet mondani Dr. Bánvölgyi Szilviának és Molnár Máté Andrásnak a sok segítségért és támogatásért, amiben a dolgozat készítése során részem lehetett.

Köszönöm a családomnak, barátaimnak, a kollégáimnak, és főként a páromnak is a támogatást.

Dettre Anna Szakdolgozat

NYILATKOZAT

a szakdolgozat nyilvános hozzáféréséről és eredetiségéről

A hallgató neve: Dettre Anna

A Hallgató Neptun kódja: IDU59K

A dolgozat címe: Borsmenta értékes komponenseinek kinyerése ultrahanggal segített extrakcióval

A megjelenés éve: 2023

A konzulens intézetének neve: Élelmiszertudományi és Technológiai Intézet

A konzulens tanszékének a neve: Élelmiszeripari Műveletek és Folyamattervezés Tanszék

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

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

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

Tudomásul veszem, hogy az általam készített dolgozatra, mint szellemi alkotás felhasználására, hasznosítására a Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem mindenkori szellemitulajdonkezelési 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: Budapest, 2023.10.04.



Hallgató aláírása

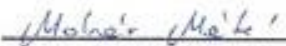
NYILATKOZAT

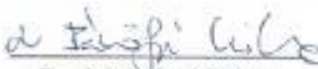
Dettre Anna (hallgató Neptun azonosítója: IDU59K) konzulenseiként nyilatkozunk arról, hogy a szakdolgozatot áttekintettük, a hallgatót az irodalmi források korrekt kezelésének követelményeiről, jogi és etikai szabályairól tájékoztattuk.

A szakdolgozatot a záróvizsgán történő védeésre javasoljuk / nem javasoljuk.

A dolgozat állam- vagy szolgálati titkot tartalmaz: igen nem

Kelt: Budapest, 2023. október 30.


Molnár Máté András
belső konzulens


Dr. Bánvölgyi Szilvia
belső konzulens